

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**Estudos de casos em série e proposta de um índice diagnóstico
para hiperadrenocorticismismo canino**

Francisco Sávio de Moura Martins

Porto Alegre
2018

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

Francisco Sávio de Moura Martins

**Estudos de casos em série e proposta de um índice diagnóstico
para hiperadrenocorticismismo canino**

Autor: Francisco Sávio de Moura Martins
Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção do grau de Mestre em Ciências
Veterinárias na área de Patobiologia Aplicada.

Orientador: Félix Hilário Diaz González

Porto Alegre
2018

CIP - Catalogação na Publicação

MARTINS, FRANCISCO SAVIO DE

Estudos de casos em série e proposta de um índice diagnóstico para hiperadrenocorticismo canino / FRANCISCO SAVIO DE MARTINS. -- 2018.

86 f.

Orientador: Félix Hilário Diaz González.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2018.

1. Síndrome de Cushing. 2. Escore clínico. 3. Hiperadrenocorticismo. 4. Teste. I. González, Félix Hilário Diaz, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Estudos de casos em série e proposta de um índice diagnóstico para hiperadrenocorticismo canino

Francisco Sávio de Moura Martins

Aprovada em 16 março de 2018

APROVADO POR:

Prof. Dr. Félix Hilário Diaz González
Orientador e Presidente da Comissão

Prof. Dra. Anne Amaral (Universidade Federal de Santa Maria)
Membro da Comissão

Prof. Dr. Luis Gustavo Corbellini (Universidade Federal do Rio Grande do Sul)
Membro da Comissão

Prof. Dra. Stella de Faria Valle (Universidade Federal do Rio Grande do Sul)
Membro da Comissão

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela proteção em todos os momentos de minha vida, permitindo a continuação dessa árdua caminhada. Serei eternamente grato pela vida.

Ao meu pai, José Alves Martins, grande amigo, por ser exemplo de perseverança, honestidade, simplicidade e dedicação. Por contribuiu de forma ímpar na minha personalidade; por compartilhar as luzes da madrugada, estudando e trabalhando. Pelas inúmeras idas na rodoviária e no aeroporto. Por cada apoio e por cada “se cuida filho, que Deus te abençoe”. Por “esse olhar cansado, profundo me dizendo coisas num grito, me ensinando tanto do mundo. E esses passos lentos, de agora caminhando sempre comigo, já correram tanto na vida. Meu querido, meu velho, meu amigo sua vida cheia de histórias. E essas rugas marcadas pelo tempo; lembranças de antigas vitórias, ou lágrimas choradas ao vento. Sua voz macia me acalma e me diz muito mais do que eu digo me calando fundo na alma... seu passado vive presente nas experiências contidas nesse coração consciente da beleza das coisas da vida. Seu sorriso franco me anima, seu conselho certo me ensina.”

À minha mãe, Maria José de Moura Martins, pelo amor incondicional e pelo apoio das minhas decisões, mesmo quando estas causam tantas saudades. Por ser essa mulher forte e de fé inabalável que sempre orientou meus passos, dos primeiros passos da vida até esta incrível jornada. Por conceder seu pulso firme, sua mão confortável e seus braços nos momentos de angústia, dúvidas e falhas. Por ser uma obstinada educadora. “Nossas mãos ainda encaixam certo, peço a um anjo que me acompanhe. Em tudo eu ouvia a voz de minha mãe. Em tudo eu via ‘nóis’, a sós nesse mundo incerto, peço um anjo que me acompanhe. Em tudo eu via a voz de minha mãe.”

Às minhas irmãs, Camila de Moura Martins e Renata de Moura Martins, pela vibração e ajuda nas conquistas; por compartilhar dificuldades, o doce e o amargo. Seremos eternos companheiros nessa jornada. *“Oh, let's go back to the start. Running in circles, coming up tails. Heads on a science apart. Nobody said it was easy. It's such a shame for us to part. Nobody said it was easy, no one ever said it would be this hard Oh, take me back to the start. I was just guessing at numbers and figures. Pulling the puzzles apart, questions of science, science and progress. Do not speak as loud as my heart. Coming back as we are.”*

À Leonília Maria de Araújo Ferreira (*in memoriam*) amiga e zootecnista inesquecível, uma perda lastimável. Por todos os ensinamentos sobre a vida e a morte, sobre o vir e o ir, o chegar e o partir, o essencial ainda continua invisível aos olhos. “É tão estranho, os bons morrem jovens; assim parece ser. Quando me lembro de você que acabou indo embora, cedo demais... você foi embora cedo demais. Eu continuo aqui, meu trabalho e meus amigos e me lembro de você dias assim, dias de chuva, dia de sol e o que sinto não sei dizer, apenas cedo demais.”

Aos familiares e grandes amigos, que compreenderam os inúmeros momentos de distanciamento. Pelo companheirismo e fraternidade sob forma de atitudes, visando igualdade entre os homens e a construção de um mundo cada vez melhor. Por fazer sentido ao trecho “... eu que já não sou assim, muito de ganhar, junto às mãos ao meu redor, faço o melhor que sou capaz, só para viver em paz”. A vocês, que foram os mais certos nas horas mais incertas, que nesta ocasião estão tão distantes, vos deixo aqui o registro de um forte e grato abraço.

Ao amigo orientador Prof. Dr. Alan Gomes Pöpl, pelos ensinamentos, credibilidade, apoio e incentivo. Pela grande oportunidade de prosperar na endocrinologia e metabologia. Eterno respeito e admiração por esse professor visionário, que singulariza a vida e área acadêmica. Faz ciência, docência e prática clínica, afigurando-se a gota d'água, que sem elas, exauriam-se todas as fontes. Por me fazer ponderar sobre: “que a ausência da evidência não significa uma evidência da ausência”.

Ao orientador Prof. Dr. Félix González, pela receptividade, ensinamentos e paciência. Por ser um sábio na busca de novos valores científicos e humanos, respaldados em sua experiência de vida. Parfraseando o pedagogo Rubem Alves, por saber “que o tempo de todos aqueles fantasmas, o tempo da vida que passou por sua tranquila honestidade, repetindo sempre, incansável, *tempus fugit*. O relógio não desiste, continuará a nos chamar à sabedoria: *tempus fugit*”. Por aprender, subitamente com a fuga do tempo, a reconhecer a beleza do momento que nunca mais será.

À Universidade Estadual do Ceará pelo tanto que contribuiu para minha formação acadêmica. Agradeço à Universidade Federal de Campina Grande e à Associação Nacional de Clínicos de Pequenos Animais-SP pelo acolhimento e contribuição no desenvolvimento pessoal e como médico veterinário. Serei eternamente grato pelas amizades, laços, experiências e sensações. Obrigado aos amigos, professores e funcionários.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em especial à equipe do Serviço de Endocrinologia e Metabologia Veterinária, pelo carinho, receptividade, amizade, apoio, experiências compartilhadas, aflições, anseios e tantos bons momentos. A saudade montada no cavalo já “desbrava esta coxilha, atravessa a Osvaldo Aranha e entra no Parque Farroupilha”.

A todos que compõe o Hospital de Clínicas Veterinárias - HCV, o Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias - LACVET o Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária - PPGCV da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS que outrora aparecia como uma possibilidade, de um sonho tão longínquo, agora, é mais que realidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela concessão da bolsa durante todo o período de realização do mestrado.

Aos membros da banca pela disponibilidade, considerações, rabiscos e observações realizadas sobre o presente trabalho.

A todos que contribuíram na realização desse momento, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

O hiperadrenocorticismo (HAC) é uma das principais doenças do sistema endócrino em cães. Apesar de ser a endocrinopatia mais comum em cães, o HAC ainda apresenta algumas limitações no diagnóstico. Por isso, idealizou-se a realização da descrição desses casos em série e a proposta de um índice clínico como ferramenta de diagnóstico. Foram descritos 115 casos de cães diagnosticados com HAC pelo teste de supressão por baixa dose de dexametasona (TSpBDD). Desses, 81,3% foram ACTH dependente e 18,7% ACTH independente, com maior acometimento de fêmeas, a média de idade foi 10,3 (\pm 2,5) anos e 64,9% eram gonadectomizados. A maioria dos cães foi de porte pequeno, de até 10 kg (73,9%). As raças mais frequentes foram Poodle (27%) e Dachshund (17,4%). As manifestações clínicas mais constantes foram polifagia (86%), polidipsia (82,6%), poliúria (80%) e abdome pendular (82,6%). O hemograma revelou neutrofilia (66%), eosinopenia (58,3%) e linfopenia (42,6%). Nas análises bioquímicas foi observado aumento de fosfatase alcalina em 81,74% dos casos, aumento da atividade da ALT (62,6%), hipercolesterolemia (66%) e hipertrigliceridemia (54,7%). A urinálise revelou hipostenúria em 14,9% dos casos e proteinúria em 50%. A ecografia abdominal evidenciou hiperplasia bilateral de glândula adrenal (92,2%), além de hepatomegalia (80,9%). Com objetivo de propor um índice de diagnóstico de HAC (IDH), foram revisados 289 prontuários de pacientes, selecionando, a partir dos critérios de julgamento, 143 prontuários. Para inclusão no estudo os pacientes deveriam apresentar o TSpBDD e o teste de estimulação por ACTH, além dos exames laboratoriais, como hemograma, bioquímica sérica, urinálise e ultrassonografia no período do diagnóstico. Foram excluídos do estudo os casos com comorbidades, como outras endocrinopatias, doença renal crônica, hepatopatia crônica, neoplasias não adrenais, além dos cães em tratamento com glicocorticoides, diuréticos e barbitúricos. Da população selecionada, 100 cães apresentavam o resultado do TSpBDD positivo (cortisol 8 horas $>1,0$ $\mu\text{g/dL}$) (grupo 1); 15 cães com o TSpBDD negativo (cortisol 8 horas $<1,0$ $\mu\text{g/dL}$), com teste de estimulação por ACTH positivo (cortisol pós-ACTH > 22 $\mu\text{g/dL}$) (grupo 2); e 28 cães com aspectos clínicos suspeitos, porém com TSpBDD e teste de estimulação com ACTH negativos (grupo 3). Foram elaborados dois índices, um de contagem simples (IDH-S), somando um ponto para cada alteração verificada na avaliação do paciente e dos exames; e um com sistema de pontuação específico, onde foram atribuídos pontos cada variável a partir de informações do consenso de diagnóstico do HAC, publicado pelo *American College of Veterinary Internal Medicine* (ACVIM, 2013). Para análise dos dados foram utilizados os testes ANOVA e Tukey e o teste de correlação de Pearson. As médias do IDH-S foram: grupo 1 = $22,3 \pm 4,9$ pontos; grupo 2 = $21,1 \pm 3,6$ pontos; e no grupo 3 = $15 \pm 4,6$. A média do IDH-P no grupo 1 foi de $57,4 \pm 11,6$ pontos; no grupo 2 a média foi de $54,5 \pm 9,7$ pontos; e no grupo 3 foi de $38,3 \pm 12,7$ pontos. No teste de Tukey (I.C – 95%) observou-se diferença significativa ($p < 0,001$), tanto no IDH-S, quanto no IDH-P, entre os pacientes dos grupos 1 e 3 e entre os grupos 2 e 3. No entanto, não houve diferença significativa entre o IDH-S dos grupos 1 e 2 ($p = 0,63$) e nem no IDH-P ($p = 0,65$) entre os grupos 1 e 2. Conclui-se que fêmeas de pequeno porte, principalmente das raças Poodles e Dachshunds, apresentaram maior frequência. As principais alterações clínicas e nos exames complementares foram polifagia, poliúria, polidipsia, abdome pendular, hiperplasia da glândula adrenal, aumento de fosfatase alcalina e hiperlipidemia. Quanto ao IDH, constatou-se que o índice pode auxiliar na diferenciação de cães positivos e falso-negativos no TSpDBB e poderá prever o diagnóstico de hiperadrenocorticismo em cães após novos estudos, demonstrando ser uma ferramenta útil, simples e acessível, podendo ser um método aplicável.

Palavras-chave: Síndrome de Cushing, hipercortisolismo, teste, índice clínico.

ABSTRACT

Hyperadrenocorticism (HAC) is one of the major diseases of the endocrine system in dogs. Although the most common endocrinopathy in dogs, HAC still presents some limitations in diagnosis. Therefore, it was conceived the accomplishment of the serial description of canine CAH and the proposal of a clinical index as a diagnostic tool. We describe 115 cases of dogs diagnosed with HAC by the dexamethasone low dose suppression test (TSpBDD). Of these, 81.3% were ACTH-dependent and 18.7% ACTH-independent. Females were more affected, mean age was 10.3 (\pm 2.5) years and 64.9% were gonadectomized. Most of the dogs were of small size, up to 10 kg (73.9%). The most frequent breeds were Poodle (27%) and Dachshund (17.4%). The most frequent clinical manifestations were polyphagia (86%), polydipsia (82.6%), polyuria (80%), and pendular abdomen (82.6%). The hemogram showed neutrophilia (66%), eosinopenia (58.3%) and lymphopenia (42.6%). In the biochemical analyzes, alkaline phosphatase increased in 81.74% of cases, increased ALT activity (62.6%), hypercholesterolemia (66%) and hypertriglyceridemia (54.7%). Urinalysis revealed hyposostenuria in 14.9% of cases and proteinuria in 50%. Abdominal ultrasound showed bilateral adrenal hyperplasia (92.2%), in addition to hepatomegaly (80.9%). In order to propose a diagnosis index of HAC (HDI) of dogs submitted to TSpBDD, 289 patient records were reviewed and 143 patient records were selected. For inclusion in the study, patients should present the TSpBDD and the ACTH stimulation test as hormonal screening tests, in addition to laboratory tests such as hemogram, serum biochemistry, urinalysis and ultrasonography during the investigation period. Patients with comorbidities, such as endocrinopathies, chronic kidney disease, severe chronic liver diseases, non-adrenal neoplasms, and dogs receiving glucocorticoids, diuretics and barbiturates were excluded from the study. From the inserted population, 100 dogs presented the positive TSpBDD result (cortisol 8 hours > 1.0 μ g / dL) (group 1); 15 dogs with negative TSpBDD (cortisol 8 hours < 1.0 μ g / dL), with positive ACTH stimulation test (cortisol post-ACTH > 22 μ g / dL) (group 2); and 28 dogs clinically suspected, but with TSpBDD and negative stimulation test (group 3). Two indices were developed, one of simple counting (HDI-S), adding one point for each alteration of the patient; and one with a specific scoring system, where each variable was assigned points from the HAC diagnostic consensus information, published by the American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM, 2013). ANOVA and Tukey tests and the Pearson correlation test were used to analyze the data. The means of the HDI-S were: group 1 = 22.3 \pm 4.9 points; group 2 = 21.1 \pm 3.6 points; and in group 3 = 15 \pm 4.6. The mean HDI-P in group 1 was 57.4 \pm 11.6 points; in group 2 the mean was 54.5 \pm 9.7 points; and in group 3 it was 38.3 \pm 12.7 points. In the Tukey test (CI - 95%), there was a significant difference (p < 0.001) in both the HDI - S and the HDI - P between the patients in groups 1 and 3 and between groups 2 and 3. However, there was no significant difference between the HDI-S of groups 1 and 2 (p = 0.63) and neither in the HDI-P (p = 0.65) between groups 1 and 2. It was concluded that females of small size, mainly of the Poodles and Dachshunds breeds, presented more frequency. The main clinical alterations and the complementary exams were polyphagia, polyuria, polydipsia, pendular abdomen, hyperplasia of the adrenal gland, increase of alkaline phosphatase and hyperlipidemia. As for the HDI, it can be seen that the index can aid in the differentiation of positive and false negative dogs in the TSpDBB and may predict the diagnosis of hyperadrenocorticism in dogs after new studies, proving to be a useful, simple and accessible method applicable tool.

Key-words: *Cushing's syndrome, hypercortisolism, test, clinical index*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo I

Figura 1. Desenho esquemático da localização e anatomia das glândulas adrenais. Glândulas adrenais em localização cranial e medial ao rim respectivo. Estruturas vasculares adjacentes, vista ventral. Fonte: Thomas Addison, 1856. Disponível: archive.org/details/b21298786..... 18

Figura 2. Esquema ilustrativo do aspecto macroscópico, histológico e fisiológico da glândula adrenal. Observar a distinção das duas camadas: o córtex e a medula na macroscopia. No corte histológico (à direita) nota-se a zona glomerular, mais externamente (zona da produção de mineralocorticóides); fasciculada, segmento intermediário do córtex que sintetiza glicocorticóides e hormônios sexuais; e reticulada, a mais interna, que produz andrógenos adrenais. A medula da glândula adrenal sintetiza as catecolaminas.....19

Figura 3. Processo citoplasmático da esteroidogênese na célula adrenocortical. Notar ligação do ACTH ao receptor de membrana do tipo proteína Gs, ativando a LHS e os fatores transcrição da proteína StAR, via AMP cíclico, viabilizando a formação do colesterol livre ('L') e o seu transporte para a matriz interna mitocondrial..... 20

Figura 4. Sequência da esteroidogênese na matriz mitocondrial e retículo endoplasmático na síntese do cortisol. Processo de ação enzimática, que converte o colesterol em pregnenolona (etapa limitante para a síntese do cortisol), seguindo com a sua hidroxilação em 17 α -OH pregnenolona ou progesterona no retículo endoplasmático liso. Retornando ao interior da mitocôndria esses hormônios são convertidos a 11-desoxicortisol pela 21-hidroxilase (P450v21), finalizando com a ação da 11 β -hidroxilase (P450C11 β) sintetizando o cortisol.....22

Figura 5. Esquema ilustrativo da regulação neuroendócrina do eixo hipotálamo hipófise-glândulas adrenais. O acionamento do o processo de ativação do eixo hipotálamo-hipófise-glândulas adrenais pode ocorrer por diferentes vias; como por exemplo o estresse neurogênico, sistêmico ou estresse fisiológico. A via sinalização no núcleo paraventricular é caracterizada pela atuação de diferentes neurotransmissores e receptores. Os estímulos estressores determinam ao nível do hipotálamo, a síntese e secreção do hormônio liberador de corticotropina (CRH), atuando na sequência em receptores das células da hipófise. Destaca-se que os neurônios que produzem CRH recebem terminações nervosas provenientes de várias regiões do sistema nervoso. Na hipófise, após a atuação do CRH, o hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) é sintetizado e secretado, ativando a produção hormonal nas glândulas adrenais. O estímulo do eixo hipotálamo-hipófise-glândulas adrenais é descontinuado pelo mecanismo de *feedback*, ou seja, os hormônios adrenais atuam de no hipotálamo e hipófise (linhas vermelhas), reduzindo a ativação do eixo, processo denominado de *feedback* negativo.....23

Figura 6. Dachshund, macho, 15 anos, com hiperadrenocorticismos. Observar o abdome pendular, alopecia simétrica bilateral e rarefação pilosa (a) lateral esquerda e (b) lateral direita.....27

Figura 7. a) Poodle, fêmea, 10 anos, com hiperadrenocorticismos, notar abdome pendular, rarefação pilosa, discromia e atrofia muscular. b) Poodle, macho, 10 anos, com

hiperadrenocorticismo notar alopecia, hiperpigmentação, telogenização e hiperpigmentação.....28

Figura 8. Alterações cutâneas de cães com hiperadrenocorticismo. a) Poodle, macho, 12 anos, calcinose cutânea ventro-inguinal, atrofia cutânea, telangiectasia, áreas eritematosas, comedões e abdome distendido. b) Poodle, 13 anos, macho, atrofia cutânea, hérnia umbilical e telangiectasia. c) Yorkshire Terrier, 9 anos, discreta telangiectasia.....28

Figura 9. Figura 9. Maltês, macho, 11 anos, com o quadro de miotonia em membros pélvicos e HAC.....30

Figura 10. Caracterização ultra-sonográfica de hiperplasia bilateral de glândulas adrenais. Canino de pequeno porte com glândulas adrenais aumentadas; esquerda com formato de haltéres mantido e dimensões aumentadas.....33

Figura 11. Aumento unilateral com alteração no parênquima e no formato da glândula adrenal esquerda. Aumento da glândula adrenal esquerda, caracterizado como processo neoplásico, com uma área nodular hiperecogênica em polo caudal (0,98 x 0,91 cm).....33

Figura 12. a) Fígado com dimensões aumentadas, parênquima com textura heterogênea e hipercogenicidade. b) Hepatomegalia hipercogenicidade hepática. Vesícula biliar (VB) repleta e sem alteração. Sugestivos de esteatose e hepatopatia esteroideal.....34

Figura 13. Aspectos ultrassonográficos das alterações em vesícula biliar de cães com hiperadrenocorticismo. Presença moderada de lama biliar e colelitite. a) Moderada presença de lama biliar, com alterações hepáticas compatíveis com hepatopatia esteroideal. b) Hipercogenicidade hepática, acentuada quantidade de lama biliar e padrão radiado discreto (mucocele biliar em formação).....35

Figura 14. Aspecto ultrassonográfico de mucocele de vesícula biliar em cão com hiperadrenocorticismo. Notar vesícula biliar (VB) distendida, com paredes irregulares. Observa-se no lúmen da VB o padrão radiado clássico.....35

Figura 15. Aspecto ultra-sonográfico de mineralização renal, denominado de nefrocalcinose. - Notar rins simétricos, com aumento de ecogenicidade cortical e inúmeras pequenas estrias hiperecogênicas e mineralizações em região de divertículos.....36

Figura 16. Esquema ilustrativo do teste de supressão por baixa dose de dexametasona (TSpBDD). O teste considerado padrão ouro para o diagnóstico de hiperadrenocorticismo é realizado com três coletas de sangue em oito horas. A primeira coleta (cortisol basal) é realizada antes da aplicação da dexametasona (0,01 mg/kg, por via intravenosa) a segunda coleta com 4 horas e a terceira após 8 horas. Na linha verde, onde se observa a adrenal sem alteração, representa o paciente sem hiperadrenocorticismo, com o TSpBDD negativo. Nesse teste, verifica-se a ação inibitória que a dexametasona efetuou sob a hipófise e o hipotálamo, suprimindo assim, a secreção de cortisol por 4 e 8 horas. Na sequência da linha azul, visualiza-se uma glândula adrenal hiperplásica, com a representação do teste positivo e compatível com hiperadrenocorticismo ACTH-dependente. Nesses casos, a dexametasona suprime a produção de CRH e ACTH, fazendo com que a concentração reduza pelo menos em 50%, mais comumente observado na coleta de 4 horas, considerando assim o eixo suprimido. Por fim, a sequência da linha vermelha, representa o TSpBDD em casos de neoplasias adrenocorticais produtoras ou daqueles casos de HAC ACTH-dependente em que

não há supressão da produção hormonal. Nesses pacientes a aplicação da dexametasona não reduziu a produção hormonal da glândula adrenal.....40

Figura 17. Fluxograma ilustrando o direcionamento estrutural do diagnóstico do hiperadrenocorticismo.....42

Capítulo III

Figura 1. Distribuição do número de cães com hiperadrenocorticismo de acordo com a idade e classificação etiológica.....56

Figura 2. Distribuição (%) das manifestações clínicas em cães diagnosticados com hiperadrenocorticismo.....57

Figura 3. Valores médios, mínimos e máximos (*Box plots* com os interquartis) da espessura das glândulas adrenais esquerda e direita de 115 cães com hiperadrenocorticismo de acordo com a classificação etiológica.....57

Capítulo IV

Figura 1. Fluxograma da estruturação da metodologia do estudo. Em coloração cinza, segue a sequência da concepção do índice clínico do hiperadrenocorticismo. A partir da pontuação, emergiu os índices clínicos do hiperadrenocorticismo com peso (IDH-P), no qual se respalda na classificação da frequência das alterações determinadas pelo ACVIM (2013), assim como o sistema de pontuação sem peso (IDH-S). Os prontuários selecionados foram avaliados e, a partir do resultado do TSpBDD, e classificados em grupos. O grupo 1 foi composto pelos casos com teste positivo, o grupo 2 por casos com o resultado falso-negativo e o grupo 3 com resultado negativo.....65

Figura 2. Frequência das alterações clínicas dos cães com TSpBDD positivo (grupo 1), falso-negativo (grupo 2) e negativo (grupo 3). Na área vermelha destacam-se as alterações clínicas observadas em mais de 66,6% dos casos, enquanto que na área verde, as alterações verificadas entre 33,3 e 66,5%.....70

Figura 3. Frequência das alterações laboratoriais dos cães com TSpBDD positivo (grupo 1), falso-negativo (grupo 2) e negativo (grupo 3). Na área vermelha destacam-se as alterações clínicas observadas em mais de 66,6% dos casos, enquanto que na área verde, as alterações verificadas entre 33,3 e 66,5%.....71

Figura 4. Frequência das alterações ultrassonográficas abdominais dos cães com TSpBDD positivo (grupo 1), falso-negativo (grupo 2) e negativo (grupo 3). Na área vermelha destacam-se as alterações clínicas observadas em mais de 66,6% dos casos, enquanto que na área verde, as alterações verificadas entre 33,3 e 66,5%.....72

Figura 5. A) Comparação dos valores do IDH-P entre dos cães dos grupos 1, 2 e 3. B) Comparação dos valores do IDH-S entre dos cães dos grupos 1, 2 e 3.....73

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1. Frequência das principais manifestações clínicas em cães com hiperadrenocorticismos.....	30
--	----

Capítulo III

Tabela 1. Distribuição do padrão racial de 115 cães diagnosticados com hiperadrenocorticismos.....	58
--	----

Tabela 2. Valores médios, desvio padrão, mínimo e máximo para os parâmetros hematológicos mensurados em 115 cães com hiperadrenocorticismos.....	58
--	----

Tabela 3. Valores médios, desvio padrão, moda, mínimo e máximo para os parâmetros bioquímicos mensurados em 115 cães com hiperadrenocorticismos.....	59
--	----

Capítulo IV

Tabela 1. Variáveis correspondentes às alterações clínicas utilizadas no índice clínico simplificado de HAC (IDH-S) e com IDH-P de cães com suspeita de hiperadrenocorticismos submetidos ao TSpBDD como diagnóstico, determinadas por avaliação semiológica com seus respectivos e pesos.....	66
--	----

Tabela 2. Variáveis correspondentes às alterações laboratoriais utilizadas no índice clínico de HAC (IDH) de cães com suspeita de hiperadrenocorticismos submetidos ao TSpBDD como diagnóstico, com suas respectivas descrições e pesos.....	67
--	----

Tabela 3. Variáveis correspondentes às alterações ultrassonográficas utilizadas no IDH de cães com suspeita de hiperadrenocorticismos submetidos ao TSpBDD como diagnóstico, com suas respectivas descrições e com pesos IDH-S igual a 1.....	68
---	----

Tabela 4. Caracterização do perfil dos cães nos grupos avaliados.....	69
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	Hormônio adrenocorticotrópico
HAC	Hiperadrenocorticismo
ALT	Alanina aminotransferase
CYP	Citocromo P450
PI3-K	Fosfoinositídeo 3-quinase
P450c17	enzima 17 α -hidroxilase
P450c21	enzima 21-hidroxilase
P450c11 β	enzima 11 β -hidroxilase
P450c11AS	enzima aldosterona sintase
DHEA	desidroepiandrostenediona
GIP	Polipeptídeo inibitório gástrico
HAC	Hiperadrenocorticismo
HSL	Lipase hormônio sensível
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
StAR	Steroidogenic acute regulatory protein
SARDS	Síndrome da degeneração retiniana adquirida súbita
3 β -HSD	3 β -hidroxiesteroide desidrogenase
17 α -OHP	17 α -hidroxiprogesterona
IRS-1	Substrato do receptor de insulina -1
IRS-2	Substrato do receptor de insulina -2
DDT	Diclorodifeniltricloroetano
PCB	bifenilos policlorados

Os desafios promovem uma pluralidade de modificações – pessoais, sociais e culturais- sobretudo, mudanças fisiológicas. Os mecanismos são variados, são milhares de reações; tudo em prol da capacidade de lutar, fugir ou se adaptar a esses fatores desestabilizadores. O estresse causado pelos desafios garante não só a evolução, adaptação e sobrevivência; o estresse nos garante uma vida vivida, eustress.

(Francisco Martins, 2018)

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	16
1. CAPITULO 1.....	17
1.0. REVISÃO DELITERATURA.....	17
1.1. ANATOMIA E HISTOLOGIA	17
1.2. FISILOGIA DO CÓRTEX DA GLÂNDULA ADRENAL.....	19
1.3. EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE ADRENAL (E-HHA).....	22
1.4. FISIOPATOLOGIA E CLASSIFICAÇÃO DO HIPERADRECORTICISMO.....	24
1.5. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	25
1.6. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS.....	25
1.7. ALTERAÇÕES LABORATORIAIS.....	31
1.8. ALTERAÇÕES IMAGIOLÓGICAS.....	32
1.9. DIAGNÓSTICO.....	36
1.10. TRATAMENTO.....	42
1.11. MONITORAÇÃO.....	43
1.12 O ÍNDICE CLÍNICO COMO FERRAMENTA.....	44
2. CAPÍTULO 2.....	46
2.0. OBJETIVOS.....	46
3.CAPÍTULO 3.....	47
3.0. ARTIGO 1.....	47
4. CAPÍTULO 4.....	65
4.0. ARTIGO 2.....	66
5. CAPÍTULO 5.....	79
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	79
REFERÊNCIAS ADICIONAIS.....	80

INTRODUÇÃO

É indiscutível que o hiperadrenocorticismo (HAC) é nos dias atuais uma das principais endocrinopatias em cães. Fato que reflete numa notória expansão no desenvolvimento de pesquisas e conhecimentos a cerca da patogênese, do diagnóstico e tratamento desse transtorno. Apesar de ser um quadro frequente, ainda apresenta muitas complexidades e limitações na determinação do diagnóstico, tornando-o, às vezes, um grande desafio.

Um dos primeiros passos para estabelecer de forma adequada o diagnóstico de HAC é conhecer as principais alterações clínicas, laboratoriais e ultrassonográficas decorrentes do hipercortisolismo; prosseguindo com a compreensão das vantagens, desvantagens e possíveis interferências nas provas hormonais disponíveis, direcionando para uma escolha adequada do teste hormonal a ser utilizado, melhorando sua precisão e reduzindo a possibilidade de resultados falsos negativos e falsos positivos (BEHEND, 2015).

O adiamento do diagnóstico de HAC posterga o tratamento e o controle das alterações metabólicas, desfavorecendo a melhora dos parâmetros clínicos, o bem-estar e a sobrevivência desses pacientes (FRACASSI *et al.*, 2015). No entanto, por vezes essa investigação é limitada, tanto pela própria metodologia da dosagem hormonal aplicada, quanto pela logística na realização dos testes ou custos financeiros (PETERSON, 2007; O'NEIL *et al.*, 2016). Logo, o desenvolvimento de uma ferramenta simples, que favoreça a obtenção de informações clínicas e auxilie no diagnóstico do HAC, é benéfico.

Diante da relevância e desafios do diagnóstico do HAC, em 2013 foi publicado pelo *American College of Veterinary Internal Medicine* (ACVIM) um consenso com informações derivadas da medicina baseada em evidências. Dentre os dados, citam-se as principais alterações clínicas, laboratoriais e ultrassonográficas dessa endocrinopatia, especificando ainda, o quão frequente é cada uma, além de orientar sobre a realização dos principais testes utilizados. Dessas orientações, destaca-se a utilização das dosagens hormonais apenas em pacientes considerados suspeitos; nesse âmbito, inclui-se os cães que apresentam alguma alteração clínica ou laboratorial compatível com o quadro de HAC (BEHREND *et al.*, 2013).

Considerando a importância do quadro clínico-laboratorial de cães com HAC para o diagnóstico, objetivou-se elaborar um índice clínico a partir das alterações clínicas, laboratoriais e ultrassonográficas, e avaliá-lo em grupo de cães submetidos ao teste de supressão por baixa dose de dexametasona (TSpBDD).

CAPITULO I

1. REVISÃO DE LITERATURA

O hiperadrenocorticismo (HAC), também denominado de Síndrome de Cushing, é uma endocrinopatia caracterizada por um diverso conjunto de alterações clínicas, laboratoriais e imagiológicas. O quadro é decorrente da exposição excessiva, multissistêmica e crônica de glicocorticoides (GILOR *et al.*, 2011). Atualmente, trata-se de uma das endocrinopatias mais frequentes em cães (PÖPPL *et al.*, 2016; BEHREND, 2015)

Anatomicamente, o HAC é correlacionado a três glândulas principais, o hipotálamo, a hipófise e as adrenais. Tais relações anatomofisiológicas se baseiam na regulação, síntese e secreção de diversos fatores de transcrição, enzimas e hormônios, objetivando o controle homeostático do organismo (ELIAS *et al.*, 2008). Nessa configuração, ressalta-se a importância de um breve detalhamento da anatomia e do eixo hipotálamo-hipófise-glândula adrenal (E-HHA).

1.1. ANATOMIA E HISTOLOGIA

1.1.1 HIPOTÁLAMO E HIPÓFISE

O hipotálamo é uma zona do diencefalo que forma a porção inferior do terceiro ventrículo. Associa-se à neuro-hipófise através do infundíbulo, estrutura que representa uma extensão do hipotálamo até a hipófise. O hipotálamo produz diversos hormônios peptídicos e amínicos que atuam principalmente sobre a hipófise, influenciando-a na síntese e secreção de outros hormônios (GRECO e STABENFELDT, 2012).

A hipófise é constituída pela *pars distalis* e *pars tuberalis* (ambas localizadas na adeno-hipófise, segmento também denominado por lobo anterior), pela *pars nervosa* (neuro-hipófise ou lobo posterior) e *pars intermedia* (designada ainda como lobo intermédio). A adeno-hipófise produz diversos hormônios: glicoproteicos (FSH - hormônio folículo-estimulante; LH - hormônio luteinizante e TSH - hormônio estimulante da tireoide), somatotrópicos (GH - hormônio do crescimento e PRL - prolactina) e pró-opiomelanocortinas, como a corticotrofina (ACTH) e β -lipotrofina (GRECO e STABENFELDT, 2012)

1.1.2 GLÂNDULAS ADRENAIS

As glândulas adrenais estão localizadas no espaço retroperitoneal, próximo à junção toracolombar, cranial e medial ao rim respectivo (KEALY *et al.*, 2012) (Figura 1). A irrigação dessas glândulas é realizada pela aorta e ramos das artérias renais. As artérias renais penetram na cápsula adrenal, formando o plexo subcapsular, composto por pequenos ramos que seguem em direção à medula adrenal (ELIAS *et al.*, 2008).

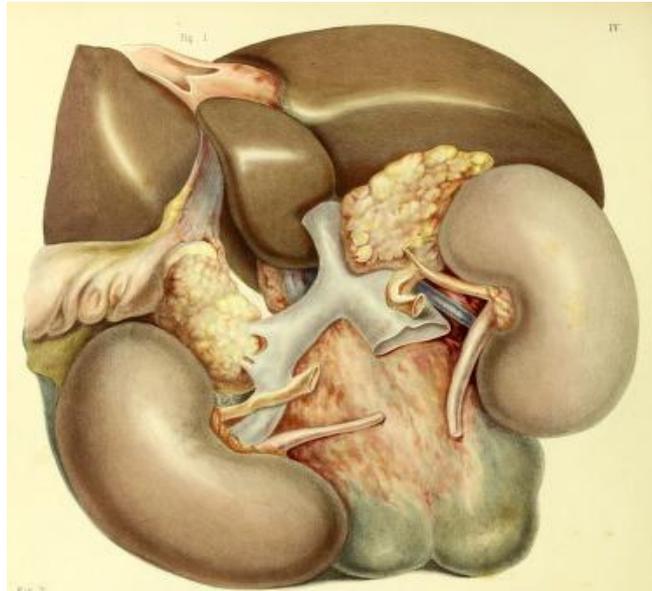


Figura 1. Desenho esquemático da localização e anatomia das glândulas adrenais. Glândulas adrenais em localização cranial e medial ao rim respectivo. Estruturas vasculares adjacentes, vista ventral. Fonte: Thomas Addison, 1856. Disponível: archive.org/details/b21298786

As glândulas adrenais são compostas por duas regiões distintas, tanto na morfologia e fisiologia, quanto na embriologia. O córtex é de origem mesodérmica e a medula de origem ectodérmica. Na histologia se identificam três camadas no córtex da glândula adrenal. A primeira é a zona glomerulosa, que é responsável pela síntese dos mineralocorticoides, a segunda zona é fasciculada, que produz glicocorticoides e a terceira é a zona reticulada que sintetiza andrógeno (NUNES, 2013; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013) (Figura 2).

A medula da glândula adrenal, que é um tecido neuroendócrino, é constituída por células denominadas cromafínicas, que secretam epinefrina e norepinefrina. O tamanho da glândula adrenal é variável com as condições fisiológicas do animal, raça, idade e peso (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013).

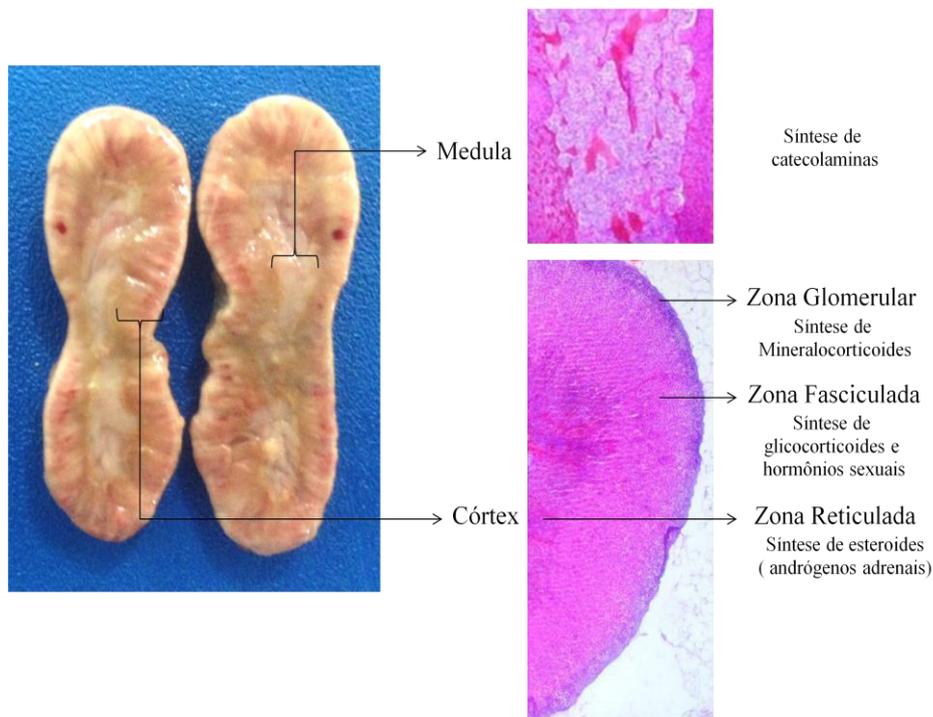


Figura 2. Esquema ilustrativo do aspecto macroscópico, histológico e fisiológico da glândula adrenal. Observar a distinção das duas camadas: o córtex e a medula na macroscopia. No corte histológico (à direita) nota-se a zona glomerular, mais externamente (zona da produção de mineralocorticóides); fasciculada, segmento intermediário do córtex que sintetiza glicocorticoides e hormônios sexuais; e reticulada, a mais interna, que produz andrógenos adrenais. A medula da glândula adrenal sintetiza as catecolaminas.

1.2.FISIOLOGIA DO CÓRTEX DA GLÂNDULA ADRENAL

O córtex da glândula adrenal sintetiza hormônios esteroidais, mineralocorticoides e andrógenos sexuais. Esse processo é denominado de esteroidogênese adrenal, caracterizado como um sistema dinâmico e enzimático, que consiste em converter o colesterol em hormônios esteroidais biologicamente ativos (MILLER e AUCHUS, 2011; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013).

O ACTH é o principal estimulador da esteroidogênese adrenal. Essa ativação ocorre através da sinalização das vias de transcrição de genes de enzimas¹ responsáveis pela biossíntese dos esteroides nas células adrenocorticais das zonas fasciculada e reticulada. Observa-se uma atividade reduzida do ACTH sobre a zona glomerulosa (NUNES, 2013).

A síntese dos esteroides (como por exemplo, do cortisol, aldosterona, testosterona e progesterona) é dependente da expressão gênica de enzimas esteroidogênicas produzidas

¹ Maioria da família P450 (CYP) citocromo oxigenase, como CYP17A1, CYP11A1, CYP11B1 e CYP11B2 (FLESERIU e CASTINETTI, 2016).

especificamente em determinada camada do córtex, característica essa, que garante particularidades a cada zona da glândula adrenal (MILLER e AUCHUS, 2011).

Os hormônios esteroidais são sintetizados a partir da molécula de colesterol. Esse substrato, oriundo basicamente da alimentação, é transportado como lipoproteínas de baixa densidade (LDL) até o córtex adrenal (GWYNNE e STRAUSS, 1982). O LDL é então captado pelas células adrenocorticais através de receptores de membrana específicos, processo denominado de endocitose. No citoplasma adrenocortical, o colesterol pode seguir por duas vias; pode ser esterificado e estocado em vacúolos ou ser convertido em colesterol livre para ser utilizado na esteroidogênese (MILLER e AUCHUS, 2011).

O controle que direciona o colesterol para a produção hormonal ou estocagem é realizado pelo ACTH. Esse hormônio regulatório atua via proteína Gs aumentando a atividade de expressão da enzima lipase hormônio-sensível (LHS), favorecendo a hidrólise dos ésteres de colesterol e a disponibilidade do substrato para a produção de hormônios esteroides (NUNES, 2013). A esteroidogênese ocorre no interior da matriz mitocondrial das células adrenocorticais, sendo necessário o transporte do colesterol livre do citoplasma para a membrana interna da mitocôndria, condução realizada pela proteína de transporte denominada de StAR - *steroidogenic acute regulatory protein* (também regulada pelo ACTH) (STOCCO e CLARK, 1996) (Figura 3).

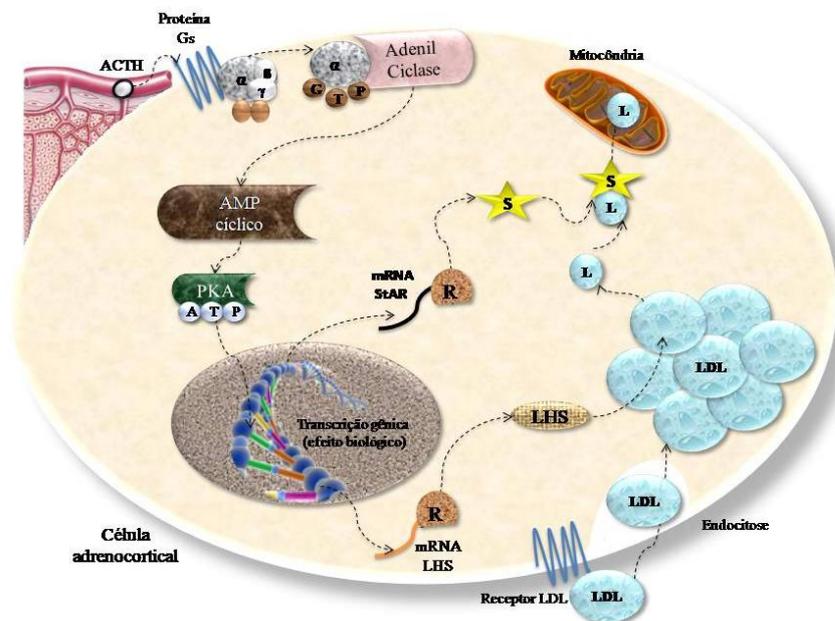


Figura 3. Processo citoplasmático da esteroidogênese na célula adrenocortical. Notar ligação do ACTH ao receptor de membrana do tipo proteína Gs, ativando a LHS e os fatores transcrição da proteína StAR, via AMP cíclico, viabilizando a formação do colesterol livre ('L') e o seu transporte para a matriz interna mitocondrial.

Na matriz interna da mitocôndria, o colesterol tem a cadeia lateral clivada por ação enzimática em três processos (20 α -hidroxilação, 22-hidroxilação e clivagem da cadeia lateral), sendo assim convertido em pregnenolona, cuja síntese é etapa limitante para a esteroidogênese (STOCCO e CLARK, 1996; MILLER e AUCHUS, 2011; FLESERIU e CASTINETTI, 2016). A pregnenolona é desidrogenada pela ação da enzima 3 β -hidroxiesteroide desidrogenase, convertendo-a em progesterona (MILLER e AUCHUS, 2011). Na sequência, tanto a progesterona como a pregnenolona podem ser hidroxiladas pela enzima microsomal 17 α -hidroxilase (P450c17), localizadas no retículo endoplasmático liso, e convertidas em 17 α -OH progesterona (17 α -OHP) e 17 α -OH pregnenolona (17 α -OH Preg), respectivamente. Na sequência, a 17 α -OHP é convertida pela enzima 21-hidroxilase (P450c21) em 11-dexosicortisol, que é hidroxilada pela enzima 11 β -hidroxilase (P450c11 β), sintetizando o cortisol (NUNES, 2013) (Figura 4).

A produção de mineralocorticóides (aldosterona) ocorre na zona glomerulosa a partir da conversão da progesterona em 11-desoxicorticosterona, pela ação da enzima 21-hidroxilase (P450c21). Em seguida ocorre a conversão em corticosterona e aldosterona pela ação da enzima aldosterona sintetase (P450c11AS). Essa via também é regulada pela expressão gênica, sendo estimulada principalmente pela angiotensina II e pelo aumento da concentração do potássio sérico (BASSET *et al.*, 2004; ELIAS *et al.*, 2008).

A síntese dos andrógenos, que ocorre com maior representatividade na zona reticular, também é estimulada pelo ACTH. Ocorre após a conversão da progesterona em 17-hidroxiprogesterona, seguindo com a conversão em desidroepiandrosterona (DHEA) e androstenediona pela enzima 17 α -hidroxilase (P450c17) (NUNES, 2013).

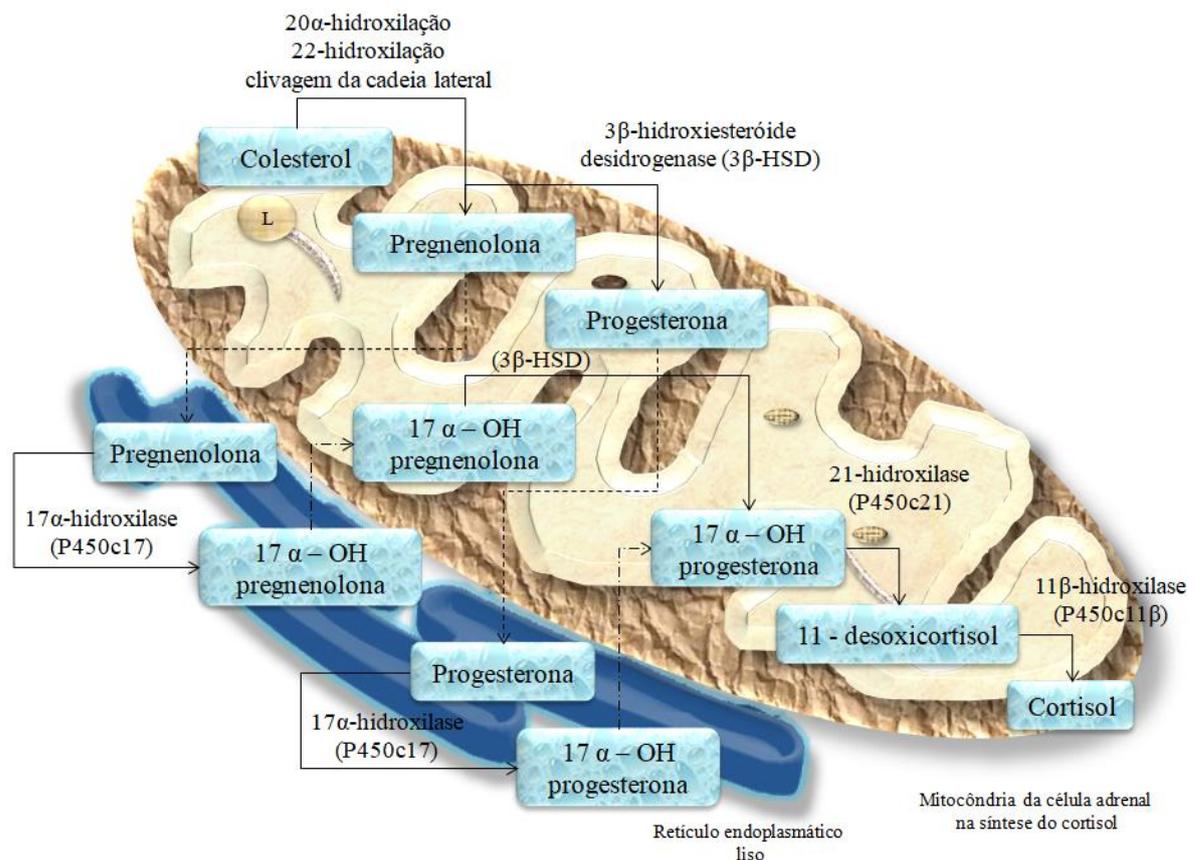


Figura 4. Sequência da esteroidogênese na matriz mitocondrial e retículo endoplasmático na síntese do cortisol. Processo de ação enzimática, que converte o colesterol em pregnenolona (etapa limitante para a síntese do cortisol), seguindo com a sua hidroxilação em 17α -OH pregnenolona ou progesterona no retículo endoplasmático liso. Retornando ao interior da mitocôndria esses hormônios são convertidos a 11-desoxicortisol pela 21-hidroxilase (P450v21), finalizando com a ação da enzima 11β -hidroxilase (P450C11 β) sintetizando o cortisol.

1.3.EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE ADRENAL (E-HHA)

O controle fisiológico das glândulas adrenais é realizado pelo E-HHA (Figura 5), correspondendo aos diferentes estímulos estressantes. Insumos neurais do sistema nervoso central e periférico convergem ao núcleo paraventricular- PVN do hipotálamo, sinalizando a necessidade do aumento da síntese e liberação do hormônio corticotrópico (CRH). Esse hormônio peptídico é lançado no sistema porta hipofisário, seguindo para a hipófise anterior e se ligando aos receptores CRH em células hipofisárias (corticotrópicas). Tal como acontece com outros receptores de membrana com proteínas Gs acoplada, os receptores de CRH estimulam a produção de segundos mensageiros intracelular, nesse caso o AMP cíclico (AMPC). A ativação desta via resulta em aumento da produção de pró-opiomelanocortina (POMC) e maior liberação de hormônio adrenocorticotrópico (ACTH), β -endorfina e

produtos proteolíticos da POMC. Além do CRH, outros compostos de baixa potência, atuam como fatores de liberação para ACTH, como a vasopressina, ocitocina e norepinefrina (NUNES, 2013).

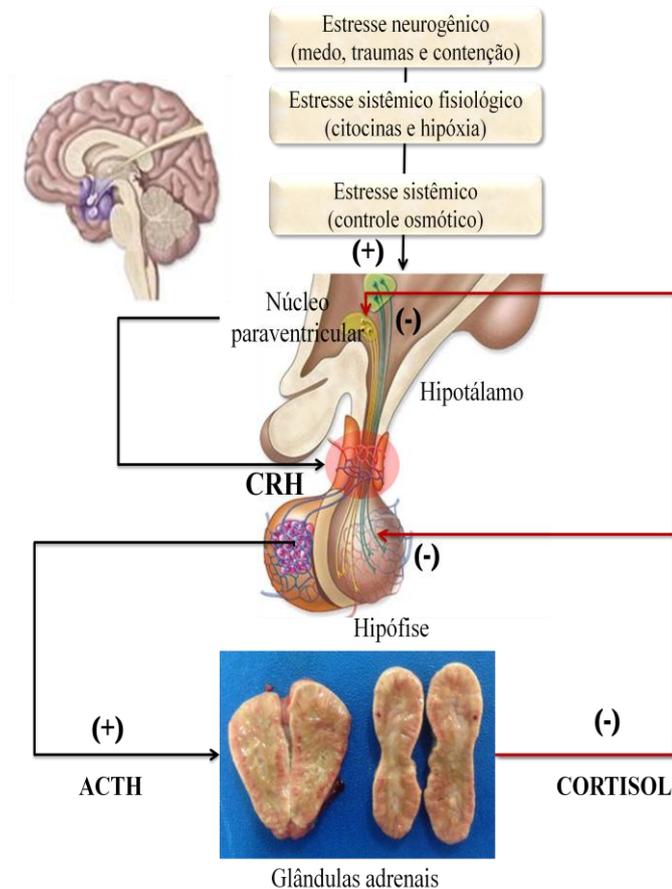


Figura 5. Esquema ilustrativo da regulação neuroendócrina do eixo hipotálamo hipófise-glândulas adrenais. O acionamento do o processo de ativação do eixo hipotálamo-hipófise-glândulas adrenais pode ocorrer por diferentes vias; como por exemplo o estresse neurogênico, sistêmico ou estresse fisiológico. A via sinalização no núcleo paraventricular é caracterizada pela atuação de diferentes neurotransmissores e receptores. Os estímulos estressores determinam ao nível do hipotálamo, a síntese e secreção do hormônio liberador de corticotropina (CRH), atuando na sequência em receptores das células da hipófise. Destaca-se que os neurônios que produzem CRH recebem terminações nervosas provenientes de várias regiões do sistema nervoso. Na hipófise, após a atuação do CRH, o hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) é sintetizado e secretado, ativando a produção hormonal nas glândulas adrenais. O estímulo do eixo hipotálamo-hipófise-glândulas adrenais é descontinuado pelo mecanismo de *feedback*, ou seja, os hormônios adrenais atuam de no hipotálamo e hipófise (linhas vermelhas), reduzindo a ativação do eixo, processo denominado de *feedback* negativo.

O sistema circulatório auxilia no transporte do ACTH até o córtex da glândula adrenal, onde atua na ativação via receptores de membrana proteína Gs, estimulando a secreção de glicocorticoides. Os glicocorticoides desempenham um papel importante na sinalização e homeostasia do E-HHA. Níveis elevados de glicocorticoides reduzem a síntese e liberação de CRH do hipotálamo e suprimem a produção da POMC e a secreção do ACTH e do CRH (NUNES, 2013).

1.4. FISIOPATOLOGIA E CLASSIFICAÇÃO DO HIPERADRECORTICISMO

O HAC resulta da falha no controle do *feedback* negativo do E-HHA. O quadro, caracterizado pela hipercortisolemia, pode ser causado pela produção excessiva de ACTH, recebendo o nome de HAC ACTH-dependente ou por neoplasias adrenocorticais, denominado de HAC ACTH-independente (BEHREND, 2015).

Até 85% dos casos em cães são HAC ACTH-dependente, causados principalmente por microadenomas hipofisários procedentes da *pars distalis* (FELDMAN e NELSON, 2004). Nesses casos, a produção excessiva de cortisol ocorre secundariamente à presença de tumores produtores de ACTH, que estimulam excessivamente o córtex da glândula adrenal, induzindo a hiperplasia adrenal bilateral (BEHREND, 2015). A fisiopatogenia dos tumores hipofisários não está bem estabelecida. No entanto, sugere-se que seja decorrente de uma mutação nas células corticotrópicas hipofisárias. Tais tumores podem ser classificados em microadenomas (diâmetro menor que 10 mm) ou macroadenomas (maiores que 10 mm) (CASTILLO e GALLELLI, 2010).

Nos casos de HAC ACTH-independente, as neoplasias adrenocorticais primárias produzem glicocorticoides de forma autônoma, não correspondendo ao controle do E-HHA. O excesso de glicocorticoides reduz a atividade do hipotálamo e da hipófise, suprimindo a síntese de CRH e ACTH, respectivamente, promovendo posteriormente a atrofia da glândula contralateral (FELDMAN e NELSON, 2004). As neoplasias adrenocorticais podem ser classificadas como adenomas ou carcinomas. Os adenomas são tumores pequenos, compostos por células bem diferenciadas, sendo difícil diferenciar adenoma de hiperplasia adrenal. Os carcinomas tendem a ser maiores, pleomórficos, com potencial invasivo e metastático (BEHREND, 2015).

O HAC também pode ser iatrogênico. Nesses casos, as manifestações clínicas são decorrentes do uso crônico de glicocorticoides exógenos e o diagnóstico é realizado com o teste de estimulação da glândula adrenal pelo ACTH sintético (FELDMAN e NELSON,

2004). Outra possível classificação é o “HAC atípico”, onde o paciente apresenta manifestações clínicas e exames laboratoriais sugestivos de hipercortisolemia e da endocrinopatia, porém os resultados de testes hormonais são negativos ou suspeitos (BENITAH *et al.*, 2005). Essa classificação ainda não está bem definida, mas suspeita-se que ocorra devido ao aumento de outros precursores esteroides, ou ainda devido às falhas na determinação dos valores mínimos de corte dos testes endócrinos tradicionais, como o teste de supressão por baixa dose de dexametasona (TSpBDD) (BEHREND *et al.*, 2013).

Deve ser considerado ainda o HAC do tipo “alimentar-dependente”. Nesse contexto, a glândula adrenal é estimulada via receptores do hormônio polipeptídico inibitório gástrico (GIP), os quais estão expressos inadequadamente na membrana das células adrenocorticais, após a alimentação (quando ocorre aumento sérico e fisiológico do GIP) (CHRISTOPOULOS *et al.*, 2005; GALAC *et al.*, 2008). Galac *et al.* (2005) relataram também um caso de um cão que após hipofisectomia apresentou elevação sérica de ACTH por secreção ectópica, sendo classificado como uma possível outra forma de HAC ACTH-dependente, o ACTH ectópico.

1.5. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

O HAC acomete principalmente cães de meia-idade a idosos, com média de 10 anos (BEHREND, 2015). Os casos de HAC ACTH-independente tendem acometer mais em animais idosos (média de $11,4 \pm 2,3$ anos), quando comparados aos portadores de HAC ACTH-dependente (média de $10,4 \pm 3,2$ anos) (REUSCH e FELDMAN, 1991).

A predisposição de gênero ainda não é consenso (BEHREND, 2015). No entanto, estudos relatam maior ocorrência em fêmeas (REUSCH e FELDMAN, 1991; 2010; PÖPPL *et al.*, 2016). Algumas raças, como Poodle, Dachshund e Yorkshire Terrier, são citadas como mais predispostas, sendo frequente também em cães de outras raças e até mesmo sem padrão definido (PÖPPL *et al.*, 2016; O’NEILL *et al.*, 2016).

1.6. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

As manifestações clínicas são decorrentes dos efeitos crônicos e sistêmicos do hipercortisolismo, exteriorizando a evolução clínica com um tempo variável (FELDMAN e NELSON, 2004). As alterações mais comuns são poliúria, polidipsia, polifagia, abdome abaulado/pendular, alopecia simétrica, taquipneia, hipertensão, atrofia de músculos, pele e testículos, podendo apresentar outros indícios menos comuns (BEHREND *et al.*, 2013). Alguns casos apresentam poucas manifestações e muitas vezes os tutores não notam as

alterações na fase inicial, ou ainda, associam-nas ao processo de envelhecimento natural (MELIÁN *et al.*, 2010).

Em cerca de 90% dos casos ocorre associação de poliúria com polidipsia compensatória, quadro decorrente do aumento da taxa de filtração glomerular e da redução na sinalização do hormônio antidiurético (ADH) (HERRTAGE e RAMSEY, 2015). A poliúria severa e a infecção do trato urinário pode ainda predispor à ocorrência de incontinência urinária (BEHREND *et al.*, 2013).

A polifagia pode está presente em até 50% dos casos (LING *et al.*, 1979; FELDMAN e NELSON, 2004). Os glicocorticoides reduzem a sensibilidade da insulina, interferindo na utilização da glicose e no controle do centro da saciedade. Por isso, em muitos casos, a obesidade também se apresenta associada ao HAC (PETERSON e NIDHOLS, 2004; MELIÁN *et al.*, 2010; GRECO e STABENFELDT, 2012; BEHREND, 2015).

O abdome abaulado/pendular também é frequente e resulta da associação de diferentes fatores, como a hepatomegalia por acúmulo excessivo de glicogênio, fraqueza muscular com déficit na sustentação das vísceras e do acúmulo de tecido adiposo intra-abdominal (Figuras 5, 6, 7 e 8) (BEHREND, 2015). O catabolismo proteico em resposta ao excesso de glicocorticoides culmina em fraqueza muscular e conseqüentemente intolerância ao exercício e letargia (BEHREND, 2015).

A dispneia ocorre como consequência da fraqueza muscular no diafragma e nos músculos atuantes nos movimentos respiratórios, além da dificuldade na expansão do tórax devido ao acúmulo da gordura torácica, abdominal e hepatomegalia. Nesses casos deve-se também investigar a presença de mineralização em brônquios e pulmão (BERRY *et al.*, 1994; SCHWARZ *et al.*, 2000), além de tromboembolismo (FELDMAN e NELSON, 2004; BERRY *et al.*, 2000).

O tromboembolismo pulmonar, apesar de incomum, pode ocorrer secundário a hipercoagulabilidade, causando um quadro de dispneia aguda (BEHREND *et al.*, 2013). A hipertensão arterial leve a moderada pode ser observada. É decorrente do hipercortisolismo, que aumenta o efeito permissivo à angiotensina II e noradrenalina (GOY THOLLOT *et al.*, 2002; MARTINEZ *et al.*, 2005). Na maioria dos cães, a pressão arterial normaliza após o controle dos níveis de cortisol (ORTEGA *et al.*, 1996; SMETS *et al.*, 2012).

Das alterações dermatológicas, destaca-se a alopecia como uma das principais manifestações. Geralmente se apresenta de forma bilateral, simétrica e não puriginosa.

Verifica-se ainda atrofia cutânea, telangiectasia, por vezes associadas às piодermites recorrentes, discromia e calcinose cutânea (Figura 8b) (BEHREND, 2015). Tais manifestações são decorrentes da ação dos glicocorticoides sobre a divisão celular da epiderme e no sistema imunológico, causando atrofia dos folículos pilosos, redução da síntese de colágeno e redução na resposta imunológica (MUNTENER *et al.*, 2012). Além dessas manifestações cutâneas, comedões podem ser visualizados ao redor dos mamilos e ao longo da linha média dorsal (ZUR e WHITE, 2011). A hiperpigmentação pode ocorrer, na forma difusa ou focal (BEHREND, 2015); e em 10% dos casos apresentam demodicose (ZUR e WHITE, 2011).

A calcinose cutânea não é rara em cães com HAC, entretanto, quando presente, são bem características. Podem se apresentar desde pápulas firmes e eritematosas até placas mineralizadas. Geralmente acomete a região do dorso, seguido de cabeça e região inguinal (BEHREND, 2015). Parece ocorrer uma maior predisposição em cães de porte grande como Rottweiler, Labrador Retriever, Staffordshire Terrier, Boxer e Akita Inu (DOERR *et al.*, 2013). Além da calcificação cutânea, pode ser observado a calcificação ectópica em anéis traqueais, paredes dos brônquios, rins e veias e artérias (SCHWARZ *et al.*, 2000).



Figura 6. Dachshund, macho, 15 anos, com hiperadrenocorticismo. Observar o abdome pendular, alopecia simétrica bilateral e rarefação pilosa (a) lateral esquerda e (b) lateral direita.



Figura 7. a) Poodle, fêmea, 10 anos, com hiperadrenocorticismo, notar abdome pendular, rarefação pilosa, discromia e atrofia muscular. b) Poodle, macho, 10 anos, com hiperadrenocorticismo notar alopecia, hiperpigmentação, telogenização e hiperpigmentação.

Diferentes manifestações oftálmicas podem está correlacionadas; como por exemplo, a “síndrome da degeneração retiniana adquirida súbita” (SARDS), caracterizada pela ocorrência da cegueira súbita e alterações metabólicas (CARTER *et al.*, 2009). Citam-se outros possíveis fatores para cegueira, como hiperlipidemia e hiperglicemia, causando redução no fluxo sanguíneo da retina. Alguns casos podem ocorrer devido à compressão do quiasma óptico por um macroadenoma hipofisário (CABRERA BLATTER *et al.*, 2012). Apesar de ser proposta a associação da SARDS com HAC, apenas 33% dos cães com SARDS apresentaram quadro clínico compatível com de HAC, apresentando regressão das manifestações clínicas com o tempo (STUCKEY *et al.*, 2013).



Figura 8. Alterações cutâneas de cães com hiperadrenocorticismo. a) Poodle, macho, 12 anos, calcinose cutânea ventro-inguinal, atrofia cutânea, telangiectasia, áreas eritematosas, comedões e abdome distendido. b) Poodle, 13 anos, macho, atrofia cutânea, hérnia umbilical e telangiectasia. c) Yorkshire Terrier, 9 anos, discreta telangiectasia.

As alterações reprodutivas, como atrofia testicular e anestro prolongado, são incomuns no HAC. Ambas alterações são decorrentes da inibição dos hormônios gonadotrópicos (HERRTAGE e RAMSEY, 2015). Em adição, a hipercortisolemia crônica também pode suprimir a secreção do hormônio tireotrópico (TSH), bem como diminuir o processo de desidiação de tiroxina (T_4) em triiodotiroxina (T_3), levando a um quadro de hipotireoidismo secundário (BEHREND, 2015).

Podem ocorrer alterações clínicas originadas dos efeitos secundários aos tumores adrenais ou pituitários. Nos casos de carcinomas adrenocorticais, as principais são decorrentes da invasão de veias adjacentes, favorecendo a ocorrência de hemorragias intra-abdominais agudas, anemia, dor, trombos e ascite (LANG *et al.*, 2011). Nos casos de tumores hipofisários, descreve-se um conjunto de alterações, denominada de “síndrome do macroadenoma”; composta por inapetência, anorexia, letargia, andar em círculos, ataxia e alterações comportamentais. A gravidade dessas alterações está diretamente relacionada ao tamanho tumoral, agravando o caso e piorando o prognóstico (THEON e FELDMAN, 1998; BEHREND, 2015).

A síndrome do macrotumor hipofisário pode ocorrer meses ou anos após o diagnóstico e desenvolve-se. No entanto, em alguns casos, pode se apresentar no início da doença (BEHREND *et al.*, 2013). O tamanho do tumor hipofisário não tem correlação com o grau de desenvolvimento das manifestações neurológicas (WOOD *et al.*, 2007).

Pode-se observar em casos raros o desenvolvimento de alterações musculares graves, como a miotonia (CISNEROS *et al.*, 2011). Nessses casos, caracteriza-se uma marcha rígida, mais evidenciada nos membros pélvicos (SWINNEY *et al.*, 2002) (Figura 9). A paralisia do nervo facial unilateral ou bilateral também é infrequente, havendo desconfiança da real ocorrência na forma associada em cães com HAC (BEHREND, 2015).

Manifestações clínicas inespecíficas podem ser associadas às complicações de comorbidades, como insuficiência cardíaca congestiva, diabetes mellitus, pancreatite, pielonefrite e glomerulonefrite (NIDHOLS, 1997). A gravidade dos casos é variável, não evidenciando correlação das alterações com a quantidade de cortisol produzida pela glândula adrenal (BEHREND, 2015).



Figura 9. Maltês, macho, 11 anos, com o quadro de miotonia em membros pélvicos e HAC.

É interessante destacar o papel da enzima 11 β -hidroxiesteroide desidrogenase tipo 1 (11 β -HSD1) na variação do perfil clínico do HAC. Dados em camundongos evidenciam que mesmo em alta concentração de glicocorticoides, na ausência da 11 β -HSD1, os camundongos são protegidos das manifestões clínicas, como intolerância à glicose, hiperinsulinemia, esteatose hepática, hipertensão, miopatia e atrofia dérmica, sendo considerada sua ausência um protetivo e determinante para caracterização da Síndrome de Cushing (MORGAN *et al.*, 2014). De uma maneira geral, o HAC pode ser configurado com uma grande variedade de alterações clínicas (Tabela 1). No entanto, devido ao diagnóstico mais precoce do HAC, é provável notar, cada vez mais, o HAC numa forma mais discreta (BEHREND *et al.*, 2013), que se manifestarem diferentes alterações com o passar dos anos.

Tabela 1. Frequência (%) das principais manifestações clínicas em cães com hiperadrenocorticismo.

Manifestações clínicas	Spearman e Little (1978) n= 8	Reusch e Feldman (1991) n= 41	Fracassi <i>et al.</i> (2016) n= 85
Poliúria	100	86	85,9
Polidipsia	100	86	84,7
Alopecia	100	64	*
Abdome abaulado	87,5	67	65,9
Obesidade	75	*	*
Hepatomegalia	50	50	*
Polifagia	50	56	84,7
Fraqueza muscular	37,5	56	62,3
Letargia	37,5	*	*
Taquipneia/dispneia	37,5	*	*
Alterações dermatológicas	*	78	58,8

*Não observado.

1.7.ALTERAÇÕES LABORATORIAIS

A associação de alterações hematológicas e bioquímicas com as alterações clínicas e ultrassonográficas auxiliam no direcionamento da suspeita e fundamentam a realização de testes hormonais (GILOR *et al.*, 2011).

No exame hematológico verifica-se alteração no leucograma, como neutrofilia, monocitose, linfopenia e eosinopenia, quadro comumente denominado como leucograma de estresse. Esse perfil é decorrente de alterações patofisiológicas, como a redução da migração dos neutrófilos dos vasos para os tecidos, linfocitólise e redistribuição dos linfócitos aos órgãos linfoides, causando linfopenia e sequestro medular de eosinófilos, caracterizando a eosinopenia (BEHREND, 2015).

A eritrocitose pode ser observada em alguns casos, assim como a trombocitose e a tendência à hipercoagulabilidade (PACE *et al.*, 2013). Estudos indicam que a trombocitose pode ocorrer entre 60% e 80% dos cães com HAC (HERRTAGE, 2011; PACE *et al.*, 2013; ROSE *et al.*, 2013). A associação entre hipercoagulabilidade e o HAC são incertas, mas indica-se a avaliação das provas de coagulação, do número de plaquetas e pressão arterial, como também o controle da hipercolesterolemia e diabetes mellitus (ROSE *et al.*, 2013; KLOSE *et al.*, 2011).

Nas análises bioquímicas, as alterações mais frequentes são: elevação da atividade das enzimas fosfatase alcalina (FA) e alanina aminotransferase (ALT), hiperlipidemia e, em alguns casos, hiperglicemia (BEHREND, 2015; PACE *et al.*, 2013). Um discreta hiperglicemia pode ocorrer pela resistência insulínica causada pelos glicocorticoides, favorecendo o aumento da gliconeogênese hepática e a diminuição da utilização periférica da glicose (BEHREND, 2015).

A elevação da atividade de FA é decorrente da indução das isoformas esteroide-induzida e hepática, via efeito do hipercortisolismo na expressão gênica (WIEDMEYER *et al.*, 2002). O aumento da ALT deve-se ao acúmulo de glicogênio hepático, que induz lesão nos hepatócitos e o aumento da atividade enzimática (BEHREND, 2015). A hiperlipidemia é justificável pela ação lipolítica decorrente da resistência insulínica e pelo excesso do glicocorticoides (XENOULIS *et al.*, 2010).

As alterações mais comuns no exame de urina são densidade urinária baixa e proteinúria (PACE *et al.*, 2013; FRACASSI *et al.*, 2015). Na maioria dos casos, a densidade é menor que 1,015 (SMETS *et al.*, 2012). A proteinúria é correlacionada com a perda glomerular e tubular, possivelmente decorrente da hipertensão, do aumento da permeabilidade

glomerular ou da falha na reabsorção tubular (SMETS *et al.*, 2012a). Ressalta-se que mesmo após inserção do tratamento e diminuição da taxa de filtração glomerular, alguns cães persistem com proteinúria (SMETS *et al.*, 2012a). Verifica-se o quadro de infecção urinária em cerca de 50% dos casos, geralmente subclínicos, constatando-se piúria ou bacteriúria em apenas 18% (FORRESTER *et al.*, 1999).

1.8.ALTERAÇÕES IMAGIOLÓGICAS

Dentre os exames imagiológicos, destaca-se como o principal método de avaliação a ultrassonografia. Trata-se de uma importante ferramenta na avaliação das glândulas adrenais, pois proporciona informações relevantes, como o tamanho, a forma e o aspecto do parênquima. A radiografia, quando comparada aos outros exames de imagens como ultrassonografia, tomografia computadorizada e ressonância magnética, apresenta baixa sensibilidade na avaliação da glândula adrenal (SCHWARZ *et al.*, 2000).

As dimensões das glândulas adrenais podem variar no tamanho e na forma de acordo com o peso e a raça (BENIGNI *et al.*, 2011). Um trabalho recente comparou as medidas das glândulas adrenais feitas na ultrassonografia na macroscopia e microscopia, para determinar a precisão na aferição do tamanho da glândula adrenal em cães. A espessura do polo caudal e comprimento foram os parâmetros com menores erros, sendo as medidas realizadas na ultrassonografia subestimadas, mas sem diferença estatística (PAGANI *et al.*, 2016). Soulsby *et al.* (2014) consideram que a espessura do polo caudal para cães saudáveis de até 10 kg de peso deve ser igual ou inferior a 0,54 cm, entre 10 e 30 kg de peso até 0,68 cm e acima de 30 kg de peso até 0,80 cm.

A ultrassonografia abdominal é rotineiramente utilizada para auxiliar no diagnóstico e na diferenciação do HAC ACTH-dependente do ACTH-independente (SOULSBY *et al.*, 2014). Em cães portadores de HAC ACTH-dependente, as glândulas adrenais apresentam-se hiperplásicas ou de tamanho normal e simétricas (Figura 10), mas a assimetria leve também pode ser visualizada (GROOTERS *et al.*, 1996; BENCHEKROUN *et al.*, 2010). Glândulas adrenais com moderada assimetria, atrofia da adrenal contralateral e destruição da arquitetura é compatível com neoplasia adrenal (Figura 11) (BENCHEKROUN *et al.*, 2010). O exame de imagem auxilia também na identificação de alterações hepáticas e de possíveis metástases abdominais ou invasão vascular (BENIGNI *et al.*, 2011).



Figura 10. Caracterização ultra-sonográfica de hiperplasia bilateral de glândulas adrenais. Canino de pequeno porte com glândulas adrenais aumentadas; esquerda com formato de haltêres mantido e dimensões aumentadas.



Figura 11. Aumento unilateral com alteração no parênquima e no formato da glândula adrenal esquerda. Aumento da glândula adrenal esquerda, caracterizado como processo neoplásico, com uma área nodular hiperecogênica em polo caudal (0,98 x 0,91 cm).

A maioria dos tumores adrenais são unilaterais, mas tumores bilaterais também são possíveis (FORD *et al.*, 1993; VAN SLUIJS *et al.*, 1995; HOERAUF; REUSCH, 1999). A identificação de massa em uma ou ambas adrenais na ultrassonografia abdominal sugere pesquisa de HAC (BEHREND *et al.*, 2013). No entanto, o diagnóstico de HAC não deve ser firmado apenas por meio do exame imagiológico, uma vez que a imagem não diferencia uma neoplasia adrenocortical funcional de uma neoplasia não funcional, feocromocitoma, granuloma ou lesão metastática (HERRTAGE e RAMSEY, 2015), assim como glândulas adrenais de tamanho normal não excluem o diagnóstico de HAC (PETERSON *et al.*, 2007; BEHREND *et al.*, 2013).

Pagani *et al.* (2016) compararam as alterações descritas na ultrassonografia abdominal e os achados histológicos. Os dados indicam que a bilateralidade das lesões adrenais prediz lesões benignas, como hiperplasia cortical, assim como massas grandes (>20 mm) e

irregulares são preditores de neoplasia maligna. Tais características estruturais podem auxiliar no diagnóstico, mas não são patognomônicas, especialmente por alguns casos ACTH-dependentes desenvolverem hiperplasia macronodular de adrenais.

Na avaliação ultra-sonográfica hepática, comumente se constata alta frequência de hepatomegalia, sendo observada ainda hiperecogenicidade em quase 50% dos casos, um quadro compatível com esteatose por acúmulo de gordura (RAMSEY e RISTIC 2007) (Figura 12). A hepatopatia sugestiva do tipo vacuolar é um achado ultrassonográfico geralmente associada ao HAC, mas não é específica (SEPESY *et al.*, 2006).



Figura 12. a) Fígado com dimensões aumentadas, parênquima com textura heterogênea e hiperecogenicidade. b) Hepatomegalia hiperecogenicidade hepática. Vesícula biliar (VB) repleta e sem alteração. Sugestivos de esteatose e hepatopatia esteroidal.

A mucocele biliar também é frequentemente associada, mas a causa exata não foi estabelecida (BEHREND, 2015). Segundo Mesich *et al.* (2009), cães com HAC apresentam maiores chances de desenvolver mucocele biliar decorrente das alterações na motilidade da vesícula biliar ou de glicoproteínas, como a mucina. Em contrapartida, Kutsunai (2014) indica que a hiperlipidemia, presente em muitos cães com HAC, pode ser o fator de risco para a formação de mucocele e não o hipercortisolismo de forma direta.

Há evidências de associação do HAC com as doenças colestática (KIM *et al.*, 2017). Um estudo mostrou que é possível que as mucocelos da vesícula biliar e as lamas biliares tenham a mesma fisiopatologia, podendo representar uma doença contínua. Assim, a lama biliar pode ser considerada um estágio anterior ao aparecimento de mucocelos da vesícula biliar (MIZUTANI *et al.*, 2017) (Figuras 13 e 14).



Figura 13. Aspectos ultrassonográficos das alterações em vesícula biliar de cães com hiperadrenocorticismo. Presença moderada de lama biliar e colestitite. a) Moderada presença de lama biliar, com alterações hepáticas compatíveis com hepatopatia esteroidal. b) Hiperecogenicidade hepática, acentuada quantidade de lama biliar e padrão radiado discreto (mucocele biliar em formação).



Figura 14. Aspecto ultrassonográfico de mucocele de vesícula biliar em cão com hiperadrenocorticismo. Notar vesícula biliar (VB) distendida, com paredes irregulares. Observa-se no lúmen da VB o padrão radiado clássico.

Além da calcinose cutânea, verifica-se também a mineralização da pelve renal (Figura 10), do fígado e da mucosa gástrica (BEHREND e KEMPPAINEN, 2001; PETERSON, 2007). Tais alterações podem ocorrer devido à interferência que o hipercortisolismo acarreta no metabolismo do cálcio, promovendo o hiperparatiroidismo secundário adrenal (aumento da

PTH e com cálcio ionizado normal), calcificação distrófica dos pulmões, pele e urolitíase de oxalato de cálcio (TEBB *et al.*, 2005; HESS *et al.*, 1998).

Quase todas as condições que causam uma interação persistente ou intermitente de hipercalcemia ou hipercalciúria podem causar nefrocalcinose. O desenvolvimento de nefrocalcinose intersticial dependerá da distribuição tubular de cálcio e ânions (fosfato e oxalato) para o interstício, bem como características locais, como pH e proteínas inibitórias (SAYER *et al.*, 2004). Estes efeitos secundários são resultantes da acidose metabólica tubular persistente e sustentada, supondo também uma possível associação com a hipocalcemia. No entanto, os mecanismos por trás dessa condição não são completamente elucidados (TREPICCIÓN *et al.*, 2017). Não se sabe o que determina o local e o padrão de deposição mineral. Verifica-se que alguns pacientes apresentam nefrocalcinose e não nefrolitíases, enquanto outros têm o inverso (KAREN *et al.*, 2002).



Figura 15. Aspecto ultrassonográfico de mineralização renal, denominado de nefrocalcinose. Notar rins simétricos, com aumento de ecogenicidade cortical e inúmeras pequenas estrias hiperecogênicas e mineralizações em região de divertículos

1.9. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico definitivo do HAC é obtido através do histórico, avaliação clínica, exames de imagens e dosagens hormonais. Os testes hormonais mais utilizados são o TSpBDD e o de estimulação por ACTH, sendo indicado ainda como triagem pelo consenso a relação cortisol/creatinina urinária (BEHREND *et al.*, 2013).

Nenhum teste utilizado é considerado 100% sensível ou específico, podendo ocorrer resultados falsos positivos ou falsos negativos (GILOR *et al.*, 2011). Preconiza-se que os

casos suspeitos de HAC com o primeiro teste negativo sejam submetidos a outros testes hormonais. Ressalta-se que mesmo com todos os exames hormonais negativos, o paciente pode apresentar uma hipercortisolemia leve não comprovada e constatada o suficiente para tornar os testes positivos, sendo útil a realização de novos testes após três a seis meses, caso as manifestações clínicas progridam. Contudo, se mais de um teste for negativo, deve ser considerada a possibilidade do cão não possuir HAC (BEHREND *et al.*, 2013).

Devido à introdução de novos métodos e ensaios, como também ao diagnóstico mais precoce e um possível menor grau de hipersecreção de cortisol, os valores de referência previamente estabelecidos podem não se aplicar adequadamente, sendo necessária a atualização específica para cada laboratório e metodologia utilizada (BEHREND *et al.*, 2013).

Os principais ensaios para dosagem do cortisol são radioimunoensaio (RIE), ensaio imunoenzimático (ELISA) e quimioluminescência (BEHREND *et al.*, 2013). O ensaio por RIE apresenta facilidades na validade dos *kits* e maior sensibilidade. No entanto, esse ensaio apresenta custos mais elevados, quando comparado com a quimioluminescência, além de entraves na logística, como restrição no prazo de validade dos reagentes radioativos e os riscos de manipulação (RUSSELL *et al.*, 2007; FURTADO e SOILA, 2015).

Além desses pontos, sabe-se que os cães podem apresentar sensibilidade variável ao cortisol, como ocorre em humanos, podendo ter manifestações clínicas de hipercortisolismo com concentração normal de cortisol (HUIZENGA *et al.*, 1998). Por tudo isso, o diagnóstico é considerado um grande desafio, principalmente nos casos mais sutis ou quando outras doenças estão associadas (GILOR *et al.*, 2011).

1.9.1. TESTE DE SUPRESSÃO POR BAIXA DOSE DE DEXAMETASONA (TSpBDD)

Devido a sua sensibilidade elevada o TSpBDD é considerado de eleição para o diagnóstico (BEHREND, 2015). O teste consiste na mensuração do cortisol em três momentos, o primeiro basal, antes da administração da dexametasona (0,01 a 0,015 mg/kg, por via intravenosa) e após 4 e 8 horas da administração do fármaco (BEHREND *et al.*, 2013). No estado fisiológico, a aplicação da dexametasona induz supressão da liberação de ACTH pela hipófise, ocorrendo menor estímulo para a síntese e secreção de cortisol e consequentemente redução da sua concentração sérica para valores inferiores a 1 µg/dL. Nos

cães com tumores hipofisários ou adrenais, a administração de glicocorticoides exógenos não é capaz de suprimir o E-HHA, portanto a secreção de cortisol não sofre redução. Sendo assim, a falta de supressão do eixo 8 horas após a administração da dexametasona, com resultado do cortisol pós-dexametasona superiores a 1,4 µg/dL é consistente com o diagnóstico de HAC (BEHREND e KEMPPAINEN, 2001).

Em cerca de 40% dos cães com HAC é possível diferenciar a sua origem, se HAC ACTH-dependente ou ACTH-independente (GILOR e GRAVES, 2011; BEHREND, 2015). Isso ocorre quando há supressão, redução em mais de 50% em relação ao cortisol basal, com quatro ou oito horas após aplicação da dexametasona, indicando tratar-se de HAC ACTH-dependente. Se nas duas coletas (4 e 8 horas) as concentrações de cortisol pós-dexametasona não suprimir em mais de 50% em relação ao cortisol basal configura-se que possa ser HAC ACTH-dependente ou ACTH-independente (BEHREND, 2015) (Figura 16).

Outro teste utilizado para diferenciar a origem do HAC é o teste de supressão por alta dose de dexametasona (TSpADD), identificando os cães com HAC ACTH-dependente em cerca de 75% dos casos. Dessa forma, a falta de supressão nos dois testes de dexametasona não confirma HAC ACTH-independente, pois em 25% dos cães com HAC ACTH-dependente podem ainda não suprimir mesmo com doses altas de dexametasona (FELDMAN *et al.*, 1996). É realizado da mesma forma que o TSBDD, o que difere é a dose de dexametasona que é 0,1 mg/kg, por via intravenosa (PETERSON, 2007).

Os testes podem ser feitos em qualquer horário do dia (PETERSON, 2007). No entanto, sabe-se que o TSpBDD é o mais afetado pelo estresse, leva oito horas para ser concluído e não fornece informações pré-tratamento que podem ser usadas na monitoração pós-tratamento (GILOR; GRAVES, 2011). Cães com outras doenças não adrenais podem apresentar cortisol elevado e resultados falsos-positivos para HAC, portanto é recomendado esperar a melhora clínica do paciente para a realização dos testes funcionais. Além disso, sabe-se que outras medicações como progestágenos e cetoconazol podem induzir resultados falsos-negativos (BEHREND *et al.*, 2013). O fenobarbital pode induzir resultados falso-positivos devido ao aumento no tempo de depuração da dexametasona (MULLER *et al.*, 2000).

1.9.2 TESTE DE ESTIMULAÇÃO POR ACTH

O teste de estimulação por ACTH também é utilizado no diagnóstico do HAC em cães. Com administração de um ACTH sintético, avalia-se a capacidade máxima de produção de cortisol pelo córtex adrenal (GILOR e GRAVES; 2011). O protocolo mais utilizado preconiza a mensuração do cortisol basal e o cortisol após 1 hora da aplicação do ACTH sintético, na dose de 5 µg/kg, por via intravenosa ou intramuscular. Os valores de cortisol pós-ACTH acima de 22 µg/dL são consistentes com HAC endógeno (PETERSON, 2007). Devido a sua menor sensibilidade, a utilidade como teste de triagem para HAC espontâneo é inferior ao TSBDD (BEHREND *et al.*, 2013).

O teste de estimulação com ACTH também é utilizado para o diagnóstico de HAC iatrogênico e na monitoração do tratamento do HAC (BEHREND e KEMPPAINEN, 2001; BEHREND, 2015; PETERSON, 2007; FURTADO e SOILA, 2015; HERRTAGE e RAMSEY, 2015). Recomenda-se a utilização do ACTH sintético (Cortrosyn ou Synacthen 0,25 mg/mL), na dose de 5 µg/kg, por via intravenosa, com amostras de sangue coletadas antes e 60 minutos após a administração de ACTH sintético. No caso de cães com HAC iatrogênico, os valores de cortisol estão abaixo da normalidade uma vez que o uso crônico de glicocorticoide causa atrofia bilateral de ambas adrenais (BEHREND, 2015).

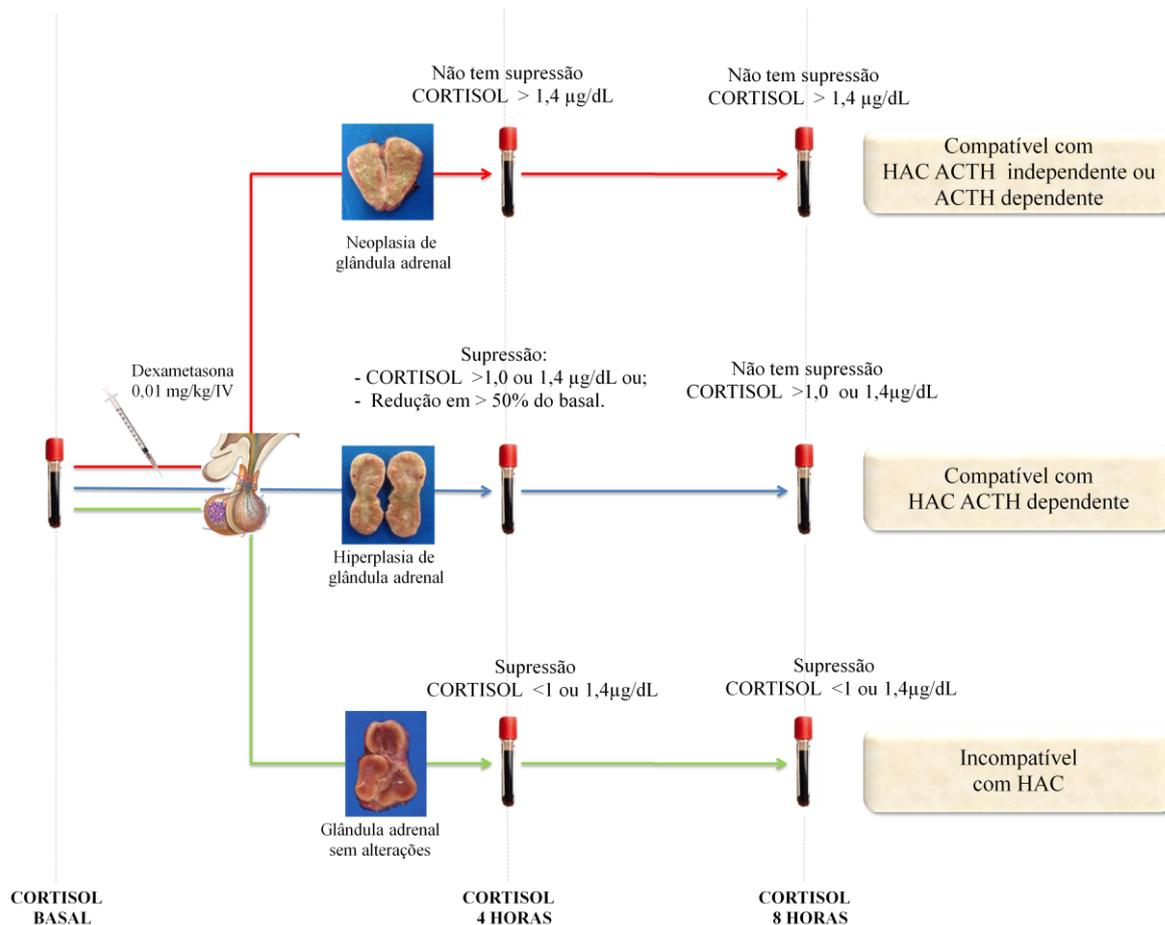


Figura 16. Esquema ilustrativo do teste de supressão por baixa dose de dexametasona (TSpBDD). O teste, considerado padrão ouro para o diagnóstico de hiperadrenocorticismo, é realizado com três coletas de sangue em oito horas. A primeira coleta (cortisol basal) é realizada antes da aplicação da dexametasona (0,01 mg/kg, por via intravenosa) a segunda coleta com 4 horas e a terceira após 8 horas. Na linha verde, onde se observa a adrenal sem alteração, representa o paciente sem hiperadrenocorticismo, com o TSpBDD negativo. Nesse teste, verifica-se a ação inibitória que a dexametasona efetuou sob a hipófise e o hipotálamo, suprimindo assim, a secreção de cortisol por 4 e 8 horas. Na sequência da linha azul, visualiza-se uma glândula adrenal hiperplásica, com a representação do teste positivo e compatível com hiperadrenocorticismo ACTH-dependente. Nesses casos, a dexametasona suprime a produção de CRH e ACTH, fazendo com que a concentração reduza pelo menos em 50%, mais comumente observado na coleta de 4 horas, considerando assim o eixo suprimido. Por fim, a sequência da linha vermelha, representa o TSpBDD em casos de neoplasias adrenocorticais produtoras ou daqueles casos de HAC ACTH-dependente em que não há supressão da produção hormonal pela glândula adrenal.

1.9.3 TESTES HORMONAIS COMPLEMENTARES

Outro teste de triagem para o diagnóstico é razão cortisol:creatinina urinária em amostra seriada. O teste apresenta alta sensibilidade e baixa especificidade, diferenciando cães saudios dos pacientes com hipercortisolismo. No entanto, o teste deve ser realizado com

amostra seriada de urina, coletada por 2 a 3 dias (BEHREND *et al.*, 2013). Não é recomendado utilizá-lo como único teste para o diagnóstico devido à possibilidade de resultados falsos-positivos, principalmente nos cães com doenças não adrenais (ZEUGSWETTER *et al.*, 2010).

Além do diagnóstico, as dosagem hormonais podem auxiliar na diferenciação da origem do HAC afim de estabelecer o tratamento e o prognóstico adequadamente (BEHREND *et al.*, 2013). Para a identificação da etiologia do HAC recomenda-se a avaliação do TSpBDD e da ultrassonografia abdominal, sendo plausível a realização da dosagem do ACTH endógeno e TSpADD (PETERSON, 2007). No entanto, tais testes só devem ser realizados após um resultado positivo nos testes de triagem (BEHREND *et al.*, 2013).

Para os casos de pacientes com histórico, manifestações clínicas e exames laboratoriais sugestivos de HAC, com exames hormonais negativos, pode-se optar pela dosagem de precursores esteroides para excluir a possibilidade de HAC “atípico” (RISTIC *et al.*, 2002). Dentre esses precursores, destaca-se a 17-hidroxiprogesterona, que comumente encontra-se elevada nestes casos de HAC atípico (BENITAH *et al.*, 2005). Entretanto, a interpretação desse resultado, bem como dos outros precursores, como por exemplo a progesterona, deve ser realizada com extrema cautela devido sua baixa especificidade, sobretudo em casos com poucas manifestações clássicas de HAC (BEHREND *et al.*, 2013).

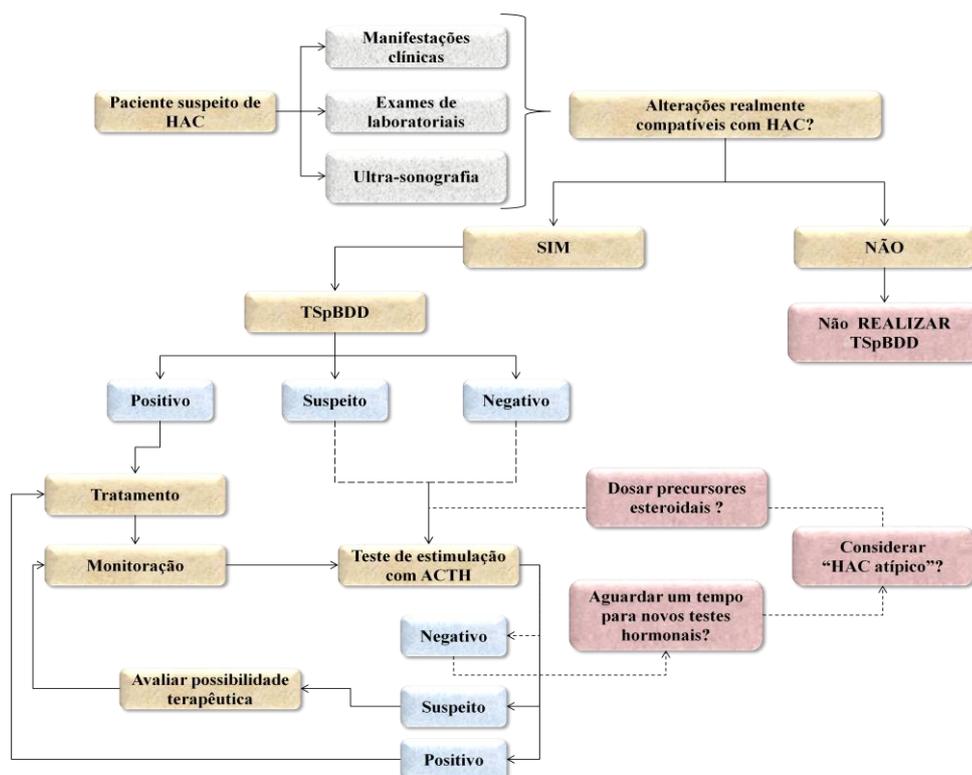


Figura 17. Fluxograma ilustrando o direcionamento estrutural do diagnóstico do hiperadrenocorticismo.

1.10. TRATAMENTO

O tratamento é justificado pela presença das manifestações clínicas e complicações sistêmicas secundárias ao excesso de cortisol (BEHREND, 2015). Contudo, a escolha da terapia adequada deve ser embasada a partir da etiologia do HAC, se for ACTH-dependente ou independente. Além dessas, outras condições importantes devem ser consideradas, como o potencial de malignidade, comorbidades, contra-indicações, disponibilidade cirúrgica e intolerância medicamentosa (PETERSON, 2007; BEHREND, 2015).

Nos casos de HAC ACTH-dependente a terapia medicamentosa é a mais recomendada (BEHREND, 2015). A técnica transfenoidal de hipofisectomia tem bons resultados, com remissão em 80% dos casos. No entanto, considera-se um procedimento tecnicamente complexo, com probabilidade de complicações trans e pós-operatórias e baixa disponibilidade (HANSON *et al.*, 2005).

Existem diversas opções terapêuticas para o tratamento do HAC, considerando-se abordagens cirúrgicas e medicamentosas (RAMSEY *et al.*, 2010). A escolha da conduta terapêutica está diretamente relacionada com a classificação do HAC, visto que, neoplasias

hipofisárias são na maioria dos casos, tratadas com medicamentos e para os tumores adrenais a primeira indicação é tratamento cirúrgico.

Na abordagem medicamentosa atual, recomenda-se o mitotano ou o trilostano. Esse último é o fármaco com menos efeitos secundários (ARENAS *et al.*, 2014; FRACASSI *et al.*, 2015). A dose preconizada é de 1 mg/kg, a cada 12 horas por via oral, associado à alimentação. O tratamento com mitotano é dividido em duas fases; a primeira consiste na administração diária, por via oral, de uma dose de 50 mg/kg dividida em duas administrações diárias, durante 5 a 9 dias, e na segunda fase, a dose é fracionada no decorrer da semana. Após inserção da terapia, o controle da doença deve ocorrer entre três a seis meses (BEHREND, 2015).

1.11. MONITORAÇÃO

A monitoração do tratamento é realizada interpretando os resultados do teste de estimulação com ACTH e controle das manifestações clínicas e laboratoriais (ALDRIDGE *et al.*, 2016). O primeiro teste pode ser realizado a partir de 10 dias de tratamento, avaliando a possibilidade de hipocortisolismo e ajustando a dose (BEHREND, 2015).

A primeira monitoração do tratamento é realizada para excluir possível excesso de dosagem, uma vez que o efeito total do medicamento é observado somente após 30 dias. Posteriormente, os ajustes na dose são baseados na sintomatologia clínica e nos resultados de testes de estimulação com ACTH, realizados em intervalos de 10 a 14 dias após cada ajuste de dose, não devendo ser superior a 25%. Após a estabilização clínica do paciente e tendo concentrações de cortisol sérico basal e pós-ACTH entre 1 a 5 µg/dL, outros testes de estimulação com ACTH devem ser realizados após 30 e 90 dias, e depois, a cada três meses. Em adição, valores de cortisol pós-ACTH em torno de 9 µg/dL são considerados aceitáveis se os sinais clínicos do HAC estiverem controlados. No caso de valores de cortisol pós-ACTH menores que 1 µg/dL, o trilostano deve ser suspenso e reiniciado somente após a recuperação da função adrenocortical demonstrada em um teste de estimulação com ACTH (BEHREND, 2015).

Os efeitos colaterais do trilostano ocorrem em 25 a 40% dos casos (NEIGER *et al.*, 2002; RUCKSTUHL *et al.*, 2002; ALENZA *et al.*, 2006; ARENAS *et al.*, 2014) e são geralmente inferiores aos do mitotano. Tais efeitos incluem letargia, fraqueza, diminuição do apetite, êmese e/ou diarreia (BEHREND, 2015). Devido a sua inibição enzimática, os efeitos

colaterais do trilostano são reversíveis. No entanto, a supressão pode prolongar-se por semanas a anos, mesmo após a suspensão do fármaco (ALENZA *et al.*, 2006). De acordo com Burkhardt *et al.* (2011) a necrose adrenal decorrente da deficiência prolongada ou permanente de cortisol não é um efeito direto do trilostano, mas principalmente secundário ao aumento severo das concentrações de ACTH pela diminuição do *feedback* negativo sobre a hipófise pelo uso do trilostano.

O hipoaldosteronismo pode ocorrer independentemente da concentração sérica de cortisol, entretanto o trilostano demonstrou menos efeito sobre as concentrações de aldosterona do que o mitotano (REID *et al.*, 2014). Por conseguinte, deve-se ter cautela com uso em conjunto de medicações que potencializam o efeito supressor sobre a concentração sérica da aldosterona, como os inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA) e antagonistas de aldosterona (BEHREND, 2015). Além disso, cães em tratamentos com trilostano devem ser monitorados, com ultrassonografia abdominal, a cada bimestre uma vez que o tratamento pode alterar o tamanho e a forma das adrenais (MANTIS *et al.*, 2003).

1.12 O ÍNDICE CLÍNICO COMO FERRAMENTA

A prática clínica baseada em evidências tem apresentado um uso consciencioso, explícito e criterioso, permitindo que as melhores evidências auxiliem na tomada de decisão clínica sobre cuidados de pacientes individuais. É considerada uma das melhores formas de orientação para a tomada de uma decisão clínica, tanto na medicina, como em outras áreas. Através do conhecimento da melhor evidência científica disponível, o profissional pode associar esse conhecimento à sua expertise (SACKETT, 2000).

Dentre alguns modelos desenvolvidos na medicina veterinária inserem-se os sistemas de pontuação que utilizam a estatística como metodologia; buscam um direcionamento, a partir das evidências, na tomada de decisão para o diagnóstico, tratamento e prognóstico. Destaca-se sua aplicabilidade em diferentes áreas e casos, como por exemplo, otite externa (NUTTALL e BENSIGNOR, 2014), miopatia (SNYDER *et al.*, 2015), artropatia (CUNNINGHAM *et al.*, 2017), alteração renal (SEGEV *et al.*, 2008), trombocitopenia imunomediada (MAKIELSKI *et al.*, 2018) e intermação (SEGEV *et al.*, 2015).

Os sistemas de pontuação ou escore clínico podem servir como ferramentas de caracterização, padronização e diagnóstico clínico. Para otite externa canina foi avaliado o eritema, edema/inchaço, erosão/ulceração, exsudato e dor dos canais auditivos, aplicando uma escala de referência e comparação, estabelecendo uma pontuação clinicamente relevante para o diagnóstico (NUTTALL e BENSIGNOR, 2014). Outro sistema de pontuação foi desenvolvido para determinar um escore radiológico a partir do ângulo do platô tibial e anteversão femoral com o desfecho da deficiência do ligamento em cães de grande porte, resultando na indicação para o rastreamento de cães com baixo risco (CUNNINGHAM *et al.*, 2017).

Os métodos podem auxiliar na avaliação da gravidade das alterações, pressumindo com precisão o desfecho do quadro clínico, como foi indicado na pesquisa realizada em cães tratados com hemodiálise (SEGEV *et al.*, 2008). Algumas metodologias utilizam questionários na avaliação e como ferramenta de padronização da gravidade, como foi utilizado nos casos de sangramento decorrente da trombocitopenia imunomediada; inclusive sendo possível monitorar a resposta do tratamento (MAKIELSKI *et al.*, 2018). Outras metodologias foram elaboradas com a finalidade de determinar o prognóstico, como foi aplicado no estudo em cães com intermação (SEGEV *et al.*, 2015).

A utilização desses sistemas elaborados a partir da medicina baseada em evidências visa buscar informações de qualidade, identificando as melhores informações para o diagnóstico, tratamento e prognóstico, buscando o melhor custo/benefício no cuidado à saúde.

CAPITULO II

2.OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Elaborar um índice de diagnóstico de HAC (IDH) e avaliar sua aplicabilidade em cães submetidos ao TSpBDD.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar quais aspectos da resenha, anamnese e exame físico são mais frequentes em cães com TSpBDD positivo.

Determinar a frequência das principais alterações do hemograma, bioquímica sanguínea e urinálise em cães triados para HAC pelo TSpBDD com o resultado positivo e tratados, resultado negativo e tratados (falso-negativo), e com resultado negativo e não tratados (verdadeiro-negativo).

Determinar a frequência das principais alterações ultrassonográficas em cães triados para HAC pelo TSpBDD com o resultado positivo e tratados, resultado negativo e tratados (falso-negativo), e com resultado negativo e não tratados (verdadeiro-negativo).

Analisar os resultados do IDH em relação aos resultados dos TSpBDD dos pacientes com diagnóstico confirmado de HAC.

Avaliar a correlação do IDH com o índice das alterações clínicas (IC), laboratoriais (IL) e ultrassonográfico (IUS).

“Stress is life and life is stress”

(Hans Selye, 1956)

CAPÍTULO III

3. ARTIGO 1 (Normas da Revista Pesquisa Veterinária Brasileira)

Aspectos clínico-epidemiológicos e laboratoriais em uma série de cães com hiperadrenocorticismo: 115 casos (2010-2014)

Francisco Sávio de Moura Martins^{1*}, Guilherme Luiz Carvalho de Carvalho¹; Luciana Jesus², Álan Gomes Pöpl³; Félix H. Diaz González³

ABSTRACT.- Martins F.S.M., Carvalho, G.L.C., Jesus L., Pöpl A.G. & González F.H.D. 2018. [Epidemiological, clinical and laboratory aspects in a series of dogs with hyperadrenocorticism: 115 cases (2010-2014).] *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Hospital de Clínicas Veterinárias – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre - RS, Brasil. Av. Bento Gonçalves, 9090, Agronomia, Porto Alegre - RS, Brasil.

E-mail: savio_mmartins@hotmail.com.br

The clinical-epidemiological characterization assists in directing the diagnosis. The objective was to describe epidemiological, clinical and laboratory aspects of a series of dogs with hyperadrenocorticism (HAC). We evaluated 115 records of dogs diagnosed by the low dose dexamethasone suppression test and the ACTH stimulation test. Of the cases, 81.3% were ACTH-dependent and 18.7% ACTH-independent. The females were more affected, representing 69.3% of the cases. The mean age was 10.3 (\pm 2.5) years and 64.9% were gonadectomized. Most of the dogs were of small size, up to 10 kg (73.9%). The most frequent breeds were Poodle (27%), Dachshund (17.4%) and Yorkshire (10.4%). The most frequent clinical manifestations were polyphagia (86%), polydipsia (82.6%), polyuria (80%), pendulous abdomen (82.6%), cutaneous atrophy (79.1%), muscular weakness (78.3%) and dyspnea (74.8%). The hemogram showed neutrophilia (66%), eosinopenia (58.3%) and lymphopenia (42.6%). The main findings in the biochemical analyzes were increased alkaline phosphatase activity (81.74%), increased ALT activity (62.6%), hypercholesterolemia (66%) and hypertriglyceridemia (54.7%). Urinalysis revealed hyposostenuria in 14.9%, isostenuria in 13.5% and hyperestenuria in 71.6%; besides proteinuria in 50% of the cases. Abdominal ultrasound showed bilateral adrenal hyperplasia (92.2%) with adrenal asymmetry in 20.8% of the cases, in addition to hepatomegaly (80.9%), biliary mud (67.8%) and hepatic hyperechogenicity (47, 8%). It was concluded that females of small size, mainly Poodles and Dachshunds, presented higher frequency in the population studied and that the main changes observed in clinical and complementary tests were polyphagia, polyuria, polydipsia, abdominal enlargement, adrenal hyperplasia, increased phosphatase alkaline and hyperlipidemia.

INDEX TERMS: Cushing Syndrome. Hypercortisolism. Glucocorticoids.

RESUMO- A caracterização clínica-epidemiológica auxilia no direcionamento do diagnóstico. Objetivou-se descrever aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais de uma série de cães com hiperadrenocorticismo (HAC). Foram avaliados 115 prontuários de cães diagnosticados pelo teste de supressão por baixa dose de dexametasona e teste de estimulação com ACTH. Dos casos, 81,3% foram ACTH dependente e 18,7% ACTH independente. As fêmeas foram mais acometidas, representando 69,3% dos casos. A média de idade foi 10,3 (\pm 2,5) anos e 64,9% eram gonadectomizados. A maioria dos cães foi de porte pequeno, de até 10 kg (73,9%). As raças mais frequentes foram Poodle (27%), Dachshund (17,4%) e Yorkshire (10,4%). As manifestações clínicas mais constantes foram polifagia (86%), polidipsia (82,6%), poliúria (80%), abdome pendular (82,6%), atrofia cutânea (79,1%), fraqueza muscular (78,3%) e dispneia (74,8%). O hemograma revelou neutrofilia (66%), eosinopenia (58,3%) e linfopenia (42,6%). Nas análises bioquímicas foi observado aumento de fosfatase alcalina em 81,74% dos casos, aumento da atividade da ALT (62,6%), hipercolesterolemia (66%) e hipertrigliceridemia (54,7%). A urinálise revelou hipostenúria em 14,9%, isostenúria em 13,5% e hiperestenúria em 71,6%; além de proteinúria em 50% dos casos. A ecografia abdominal evidenciou hiperplasia bilateral de adrenal (92,2%) com assimetria de adrenais em 20,8% dos casos, além de hepatomegalia (80,9%), lama biliar (67,8%) e hiperecogenicidade hepática (47,8%). Conclui-se que fêmeas de pequeno porte, principalmente das raças Poodles e Dachshunds, apresentaram maior frequência na população estudada e que as principais alterações observadas clínicas e nos exames complementares foram polifagia, poliúria, polidipsia, aumento abdominal, hiperplasia da adrenal, aumento de fosfatase alcalina e hiperlipidemia.

INTRODUÇÃO

A Síndrome de Cushing ou hiperadrenocorticismo (HAC) é uma endocrinopatia que apresenta um quadro clínico multissistêmico causado pelas concentrações elevadas de glicocorticoides (GILOR *et al.*, 2011). O hipercortisolismo pode ocorrer secundariamente ao aumento da secreção do hormônio corticotrófico (ACTH) pela hipófise, classificado como HAC ACTH-dependente ou pode ser decorrente do aumento na produção de cortisol pela glândula adrenal neoplásica, denominado de HAC ACTH-independente (PETERSON, 2007; BEHREND, 2015).

O HAC é atualmente a doença endócrina mais frequente em cães (PÖPPL *et al.*, 2016). Sendo descrito em algumas raças, como o Poodle e o Dashchund, com maior predisposição (LING *et al.*, 1979). As manifestações clínicas são, em sua maioria, de aparecimento lento e progressivo, das quais se destaca a poliúria, polidipsia, polifagia e abdomen pendular. Dos aspectos laboratoriais, refere-se o leucograma de estresse, elevação da atividade da fosfatase alcalina e hipertrigliceridemia como as principais alterações (BEHREND, 2015).

Considera-se para o diagnóstico o histórico e avaliação clínica, exames de imagem e os testes hormonais, como o teste de supressão com baixa dose dexametasona (TSpBDD) e o teste de estimulação por ACTH sintético (BEHREND, 2013). Dentre as opções terapêuticas, considera-se a abordagem cirúrgica ou medicamentosa. O direcionamento da conduta terapêutica ocorre a partir da classificação etiológica do HAC, visto que neoplasias hipofisárias são, na maioria dos casos, tratadas com medicamentos; e a primeira indicação para as neoplasias de glândulas adrenais é a cirurgia de adrenalectomia. O prognóstico do HAC canino pode variar de acordo com a gravidade do quadro e a presença de comorbidades (BEHREND, 2015). O objetivo deste trabalho foi determinar a frequência de alterações clínicas, laboratoriais e ultrassonográficas de cães com HAC, a fim de fomentar a percepção de casos suspeitos em rotinas clínico-hospitalares.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo retrospectivo com uma amostra populacional de 115 cães com HAC, diagnosticados e acompanhados pelo Serviço de Endocrinologia e Metabologia de um hospital de clínicas veterinárias referenciado entre os anos 2010 e 2014. Os dados clínico-epidemiológicos, laboratoriais e ultrassonográficos de interesse foram obtidos a partir dos prontuários clínicos padronizados. Foram excluídos prontuários que não contemplaram as informações necessárias para o estudo, os casos associados com diabetes mellitus, doença renal crônica e insuficiência hepática, assim como também, os cães tratados com furosemida, glicocorticoides e fenobarbital.

A classificação etiológica do HAC foi indicada através da associação do TSpBDD com os aspectos da ultrassonografia abdominal, classificando-o em ACTH-dependente ou ACTH-independente. Foi considerada hiperplasia a glândula adrenal com pólo caudal maior que 0,54 cm para cães de até 10 kg de peso, maior que 0,68 cm para cães entre 10 e 30 kg e maior que 0,8 cm para cães acima de 30 kg e assimetria de adrenal quando a diferença entre as glândulas adrenais foi maior que 0,4 cm (SOULSBY *et al.*, 2014). Foram analisadas as variáveis quantitativas e qualitativas, sendo obtidas médias, medianas e variâncias, assim como, distribuição, contagens e proporções de alguns dados.

RESULTADOS

Dos cães avaliados 81,3% foi HAC ACTH-dependente e 18,7% HAC ACTH-independente. As concentrações médias do cortisol pós-dexametasona nos três momentos (basal, quatro e oito horas) foram, no grupo HAC ACTH-dependente, de 62,1 ng/mL, 21,5 ng/mL e 47,3 ng/mL, enquanto no HAC ACTH-independente, foram 52,8 ng/mL, 36,2 ng/mL e 40,7 ng/mL. A ocorrência foi maior em fêmeas, representando 69,3% dos casos, contra 30,7% dos machos. Na população avaliada, 65% dos cães eram gonadectomizados. A média de idade foi de $10,3 \pm 2,5$ anos, com a idade mínima de 4 anos e máxima de 16 anos. De acordo com a classificação etiológica, a média de idade dos cães com HAC ACTH-dependente foi de 9,3 anos e com HAC ACTH-independente foi de 11,4 anos. A distribuição do número de casos por idade e classificação etiológica pode ser observada na Figura 1. Considerando o porte, 78% foram cães de pequeno porte (até 10 kg de peso), seguido pelo porte médio (entre 10 e 20 kg) com 16% e grande porte (maior que 20 kg) com apenas 6%. A distribuição da frequência por raças segue descrita na Tabela 1.

As manifestações clínicas mais frequentes estão apresentadas na Figura 2. O hemograma revelou neutrofilia (66%), eosinopenia (58,3%), linfopenia (42,6%) e monocitose (30,5%). Os valores médios de hemácias, hemoglobina, hematócrito foram $6,4 \pm 1,0 \times 10^6/\mu\text{L}$, $15,8 \pm 3,9$ g/dL e $46,05 \pm 7,2\%$, respectivamente (Tabela 2). Notou-se anemia normocítica normocrômica em 10,4% dos cães com HAC, enquanto que 4,3% tinham anemia macrocítica normocrômica. Dos cães anêmicos, 80% eram ACTH-

dependente. A trombocitose foi identificada em 33,9% dos casos e o valor médio do número de plaquetas foi 479.900/ μ L.

Nas análises bioquímicas foi observado o aumento de atividade de fosfatase alcalina em 81,7% dos casos, hipercolesterolemia em 66%, aumento da ALT em 62,6%, hipertrigliceridemia em 54,8%, hiperglicemia em 30,5% e creatinina menor que 0,7 mg/dL em 48,7%. A urinálise evidenciou proteinúria em 48,7% e densidade urinária menor que 1,015 em 26,1% dos casos. As Tabelas 3 e 4 apresentam os valores médios, desvios, mínimo e máximo para cada variável.

Na ultrassonografia abdominal as principais alterações foram hiperplasia bilateral da glândula adrenal (92,2%) e hepatomegalia (80,9%), seguidas da ocorrência de lama biliar (67,8%), hiperecogenicidade hepática (47,8%) e calcificação renal (37,4%). Em 26,1% verificou-se irregularidade no formato da glândula adrenal, ocorrendo assimetria do polo caudal das glândulas em 20,8% e heterogenicidade do parênquima em 18,3%. Das alterações das glândulas adrenais, no grupo de cães com HAC ACTH-dependente o parênquima heterogêneo foi visualizado em 11,1% e o formato irregular em 17,2%. No grupo HAC ACTH-independente, a assimetria e o parênquima heterogêneo ocorreram em 55% dos casos e o formato irregular em 60%.

As médias das medidas do polo caudal das glândulas adrenais do grupo HAC ACTH-dependente foram $0,9 \pm 0,40$ cm na esquerda e $0,83 \pm 0,33$ cm na direita, com máximas de 3,3 cm e 2,6 cm e mínimas de 0,4 cm e 0,35 cm, respectivamente. No grupo HAC ACTH-independente a média das glândulas adrenais esquerda foi $1,31 \pm 0,76$ cm (mínima de 0,69 cm e máxima de 3,65 cm) e da direita foi $1,46 \pm 1,0$ cm (mínima de 0,5 cm e máxima de 4,5 cm). Nos cães de pequeno porte, os valores médios do polo caudal das glândulas adrenais foram $0,88 \pm 0,44$ cm a adrenal esquerda e $0,86 \pm 0,44$ cm a direita; nos cães de porte médio, os valores médios do polo caudal foram $1,17 (\pm 0,60)$ cm para a adrenal esquerda e $1,12 \pm 0,78$ cm para a direita, enquanto que para os cães de porte grande a espessura média do polo caudal da glândula adrenal esquerda foi de $1,26 \pm 0,56$ cm e a adrenal direita $1,43 \pm 0,48$ cm (Figura 3).

DISCUSSÃO

A caracterização do perfil clínico-epidemiológico auxilia no direcionamento diagnóstico, por isso, considera-se importante determinar os aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais das doenças, principalmente de afecções que apresentam complexidades no diagnóstico, como o HAC em cães. No presente estudo, foram verificados casos clínicos clássicos, com alterações clínicas bem caracterizadas; no entanto, em alguns pacientes as manifestações foram mais sutis, não apresentando alterações consideradas frequentes, como poliúria, polifagia, elevação de atividade da fosfatase alcalina e hiperplasia de glândulas adrenais. Mesmo com todos os avanços em técnicas e metodologias nas análises hormonais, a avaliação da composição dos aspectos clínicos e dos exames complementares é fundamental para a determinação do diagnóstico (BENCHEKROUN *et al.*, 2010, BEHREND *et al.*, 2015).

O HAC ACTH-dependente foi identificado como mais frequente, com cerca de 80% dos casos; resultado similar ao encontrado em outros estudos (REUSCH e FELDMAN, 1991; THEON e FELDMAN, 1998). A determinação da classificação etiológica do HAC é importante não só para determinação do protocolo terapêutico e prognóstico (FRACASSI *et al.*, 2015; BEHREND, 2015), mas também como base para desenvolvimento de estudo sobre a patogenia, identificando fatores que influenciem na incidência e etiologia dessa endocrinopatia.

Dentre os possíveis fatores, o aumento da exposição aos disruptores endócrinos², tanto pelos componentes alimentares (KOESTEL *et al.*, 2017), como por brinquedos ou utensílios (WOOTEN e SMITH, 2013). Tais substâncias interferem em diversos mecanismos fisiológicos, desde a inibição da síntese dos hormônios (como por exemplo, o lindano que reduz a expressão da proteína Star, diminuindo a esteroidogênese), como se ligando aos receptores esteroidais, alterando o processo de transdução e sinalização, modulando o painel enzimático do metabolismo dos hormônios sexuais (como por exemplo, os análogos do diclorodifeniltricloroetano) (KOESTEL *et al.*, 2017; WOOTEN e SMITH, 2013).

Estudos recentes avaliaram a capacidade de ligação desses pesticidas com o receptor de glicocorticoide (GR), evidenciando os efeitos antagonistas da ação hormonal (ZHANG, 2016). Tais resultados, associados ao conhecimento do potencial acumulativo e do possível efeito sobre *feed-back*

² Nota: Disruptores endócrinos são substâncias exógenas do organismo que possam interferir na síntese, secreção, transporte, metabolismo ou eliminação dos diferentes hormônios (Sonnenschein, Soto, 2010). Exemplos: bifenilos policlorados, dioxinas (solventes industriais), bisfenol A (plásticos), PBDES (retardantes de chama), diclorodifeniltricloroetano (pesticidas), dietilestilbestrol (produtos farmacêuticos) e parabenos (conservantes).

negativo hipofisário deve ser considerado nos aspectos patofisiológicos da doença. Supõe-se que uma mutação na estrutura do GR reduziria a sensibilidade dos glicocorticoides a esses receptores, ocasionando uma maior secreção compensatória do ACTH, justificando assim a maior frequência do HAC ACTH-dependente. Contudo, novas evidências distanciam tal possibilidade (VAN WIJK *et al.*, 2014). Apesar de grandes avanços nas técnicas biomoleculares aplicadas na endocrinologia, a etiopatogênese e os fatores desencadeantes das mutações envolvidas na ocorrência do HAC continuam incertos (TESHIMA *et al.*, 2009; KOOL *et al.*, 2013), destacando a importância e caracterização dos estudos clínico-epidemiológicos.

O HAC acomete principalmente cães de meia-idade a idosos, com média de 10 anos (GALLELLI *et al.*, 2010; BEHREND, 2015). Os dados mostram que os cães com HAC ACTH-independente tendem a ser mais senis, quando comparados aos portadores de HAC ACTH-dependente (REUSCH e FELDMAN, 1991), perfil que foi verificado no presente estudo. Segundo Kennedy *et al.* (2012) é provável que isso ocorra devido ao acúmulo de danos e mutações lesivas ao DNA, levando ao comprometimento da informação genética, associando o envelhecimento a doenças senis, como câncer e neurodegeneração.

A maioria das pesquisas apontam que o HAC ocorre em maior frequência em cadelas (REUSCH e FELDMAN, 1991; GALLELLI *et al.*, 2010; PÖPPL *et al.*, 2016). No entanto, não há consenso da existência de predisposição por gênero. Na presente avaliação, o HAC ACTH-dependente foi mais frequente em fêmeas, enquanto que o HAC ACTH-independente em machos. Um estudo realizado na década de 1970 não verificou diferença significativa na distribuição sexual entre os grupos avaliados (LING *et al.*, 1979). No começo da década de 1990, Reusch e Feldman (1991) indicaram que a porcentagem de fêmeas com HAC foi superior a 60%. Behrend *et al.* (2015) afirmaram que existe uma predisposição sexual relacionada às fêmeas.

Quanto à condição reprodutiva, estudos não referem aumento do diagnóstico de HAC em cães gonadectomizados (LOURENC *et al.* 2015; O'NEILL, 2016). Contudo, Belanger *et al.* (2017) verificaram que a gonadectomia em machos e fêmeas foi significativamente associada ao maior risco para o desenvolvimento de HAC. Na presente investigação as fêmeas castradas foram mais frequentes na população do HAC ACTH-dependente, fato que corrobora Peterson (2007), ao citar que devido à interação entre os hormônios sexuais femininos e o eixo hipotalâmico hipofisário, as fêmeas apresentam maior predisposição ao desenvolvimento de HAC, mais notoriamente ao tipo ACTH-dependente.

O'Neill *et al.* (2016) também reportaram que cães de grande porte apresentam menor risco para desenvolver HAC ACTH-dependente quando comparado com cães de pequeno porte. Esse aspecto pode ser devido à diversidade entre as raças de cães, com significativa alteração na massa muscular e tamanho, resultante da pressão seletiva na formação e manutenção de raças modernas. É notório que cães de porte pequeno e médio são mais acometidos pelo HAC, ponto que pode ser justificado pelos dados de um estudo que comparou a expressão gênica entre o porte dos cães, identificando variantes no que se refere a menor expressão de IRS4, IGSF1 e ACSL4 em cães de pequeno e médio porte (PLASSAIS *et al.*, 2017). Tais substratos são importantes no desenvolvimento da hipófise (WANG *et al.*, 2017) e na esteroidogênese (MIDZAK e PAPADOPOULOS, 2016), podendo ser essa a justificativa para a correlação entre a ocorrência do HAC e o porte.

Sabendo que a severidade dos casos estudados foi variável e que não há correlação entre a gravidade e a concentração de cortisol (BEHREND, 2015), é interessante destacar o papel da enzima 11 β -hidroxiesteroide desidrogenase tipo-1 (11 β -HSD1). Morgan *et al.* (2014) mostraram que a ativação dos glicocorticoides por 11 β -HSD1 nos tecidos periféricos são fatores determinantes para caracterização da Síndrome de Cushing em camundongos. Os dados evidenciaram que, mesmo em alta concentração de glicocorticoides, na ausência da 11 β -HSD1, os camundongos são protegidos das manifestações clínicas, como intolerância à glicose, hiperinsulinemia, esteatose hepática, adiposidade, hipertensão, miopatia e atrofia dérmica. Isso ocorre devido à disponibilidade e a ação dos glicocorticoides ser dependente também do metabolismo intracelular específico do tecido (MORGAN *et al.*, 2009), assim como o nível de expressão da enzima, podendo implicar na variação do quadro clínico.

Behrend *et al.* (2013) classificaram as principais alterações clínicas em manifestações frequentes, menos frequentes e infrequentes; os resultados do presente estudo se assemelharam aos dados propostos pelos autores. Contudo, o desenvolvimento de maiores informações sobre essa endocrinopatia auxilia na identificação de formas clínicas mais sutis, como foi destacado pelos autores. Além das manifestações mais clássicas, verificamos entre as menos frequentes a letargia/apatia, hiperpigmentação, comedões, piodermatite e telogenização, além das infrequentes, como tromboembolismo, ruptura de ligamentos, paralisia de nervo facial, calcinose cutânea, atrofia testicular, miopatia e persistência de anestro. A baixa observação de persistência de anestro pode ser decorrente da maior parte das fêmeas ser gonadectomizada no momento do diagnóstico. A observação de um número considerável de pacientes com paralisia de nervo facial nesta série de casos chama a atenção para a necessidade de estudos mais amplos a fim de compreender a origem desta alteração pouco relatada associada ao HAC.

Com relação aos exames laboratoriais, o hemograma revelou a frequência de anemia em 17% dos casos. A anemia normocítica normocrômica foi a mais frequente, acometendo principalmente os pacientes com HAC ACTH-dependente. Chervier *et al.* (2012) acreditam que 14% das anemias em cães estão associadas a endocrinopatias, sendo em 80% das vezes considerada uma anemia leve. Tal dado contrasta com a expectativa de eritrocitose devido ao eventual papel dos andrógenos adrenais sobre a eritropoiese. No presente estudo, a frequência de anemia foi menor nos casos de HAC ACTH-independente. Chervier *et al.* (2012) destaca ainda que a anemia em processos neoplásicos ocorre mais comumente do que anemia de origem inflamatória crônica. Em alguns casos, a anemia pode ser decorrente da indução ao quadro de eutireoideo doente, devido à ação supressora da hipercortisolemia crônica na secreção do hormônio tireotrópico (TSH), reduzindo o processo de desiodação de tiroxina (T₄) em triiodotiroxina (T₃) (BEHREND, 2015). Importante salientar que a anemia pode ser preditiva de comorbidades e pode orientar no prognóstico do paciente, recomendando maiores investigações.

As alterações mais comuns no leucograma foram neutrofilia, sem desvio a esquerda e eosinopenia. Behrend (2015) aponta que a neutrofilia é decorrente da desmarginalização capilar, a monocitose secundária ao menor estímulo de retirada da circulação, a linfopenia decorrente da destruição celular induzida por esteroides e a eosinopenia resultante do sequestro da medula óssea. Contudo, tal perfil é bem caracterizado avaliando-se a distribuição relativa (percentual) dos leucócitos. A trombocitose é considerada uma alteração corriqueira no HAC. Estudos indicam que pode ocorrer entre 60% e 80% dos cães com HAC (HERRTAGE, 2011; PACE *et al.*, 2013; ROSE *et al.*, 2013). No presente estudo observou-se em 33,9% dos casos. Até o presente momento não se sabe o papel na relevância da trombocitose nos cães com HAC (BEHREND, 2015), já que não se comprovou a associação entre hipercoagulabilidade e o HAC canino, mas há indicações que o perfil de coagulação desses pacientes deve ser avaliado, devendo ser monitorados os fatores de coagulação e a contagem de plaquetas, bem como identificar e tratar os possíveis fatores associados, como a hipertensão, hipercolesterolemia e diabetes mellitus (ROSE *et al.*, 2013; KLOSE *et al.*, 2011).

Quanto à alteração nos parâmetros bioquímicos, a mais frequente foi o aumento da atividade da fosfatase alcalina (FA), decorrente do aumento da isoenzima induzida por glicocorticoides, além da vacuolização e sobrecarga de glicogênio hepático, favorecendo a colestase intra-hepática (KOOISTRA e GALAC, 2010). Trata-se de uma das alterações mais comuns (HERRTAGE *et al.*, 2011; BEHREND, 2015). No presente estudo aproximadamente 20% dos casos não apresentava elevação da atividade da FA, sendo válido ressaltar que pacientes com hipercortisolemia podem apresentar valores de atividade da FA no intervalo de referência.

Na maioria dos casos o aumento de ALT é discreto, ocorrendo pelo aumento da permeabilidade da membrana hepatocelular devido à deposição de glicogênio nos hepatócitos, com eventual grau discreto de morte celular (BEHREND *et al.*, 2013). Por tanto, deve-se considerar maior comprometimento hepático nos casos de HAC com valores de atividade de ALT mais acentuados. No presente estudo, verificou-se aumento na atividade da ALT em mais da metade dos cães, sendo justificável a indicação do uso de fármacos que atuem no controle do estresse oxidativo e na inflamação, como o S-adenilmetionina e silimarina (AU *et al.*, 2013).

Os valores da ureia encontraram-se elevados em quase 30% dos casos, indicando possivelmente um aumento do catabolismo proteico induzido pelos glicocorticoides. Todavia, tanto a ureia quanto a creatinina podem apresentar valores reduzidos (creatinina < 0,7 mg/dL foi presente em quase 50% nesses casos). Esse quadro ocorre devido ao catabolismo muscular induzido pelos glicocorticoides, além da poliúria, que induz a maior perda urinária dos compostos nitrogenados, bem como do estímulo dos glicocorticoides na filtração glomerular (BEHREND *et al.*, 2013; HERRTAGE, 2011).

A hiperlipidemia foi presente em cerca de 60% dos cães com HAC. Segundo Ramsey e Ristic (2007), a hipercolesterolemia é observada em 90% dos casos com HAC e muitos desses animais também apresentam hipertrigliceridemia. Possivelmente o quadro ocorra devido ao estímulo crônico do glicocorticoide, levando a lipólise e um aumento de concentrações de colesterol e triglicerídeos, e do efeito da resistência insulínica, com menor ativação da lipase lipoproteica e maior ativação da lipase hormônio sensível. Miceli *et al.* (2017) evidenciaram que cães com níveis de glicemia em jejum acima de 105 mg/dL, com dislipemia (triglicerídeos >221,2 mg/dL e hipercolesterolemia >350 mg/dL), com uma razão de cortisol:creatinina urinária > 100 x 10⁻⁶ apresentam maior risco de desenvolver diabetes mellitus. O trabalho ressalta que 93,75% desses casos apresentavam HAC ACTH-dependente, indicando maior predisposição desse grupo, propondo inclusive terapia insulínica preventiva. Estudo nacional refere associação das endocrinopatias em 16% do casos (PÖPPL *et al.*, 2016). Dados biomoleculares evidenciaram a redução de expressão de genes envolvidos no mecanismo de sinalização da insulina (IRS-1, IRS-2, PI3-K e Akt-2) de cães com HAC, contribuindo para indução de resistência insulínica nesses cães (NOZAWA *et al.*, 2014).

No exame de urina, verificou-se proteinúria em quase 50% dos casos e hipostenúria (densidade urinária < 1.008) em 15% dos casos. Essas alterações são relatadas como as principais alterações no exame de urina em cães com HAC (BEHREND *et al.*, 2013). Cabe ressaltar que, mesmo após inserção do tratamento e diminuição da taxa de filtração glomerular, alguns cães ainda persistem com proteinúria (SMETS *et al.*, 2012a) havendo evidências de disfunção tanto a nível glomerular, quanto tubular nos cães com HAC não tratada, o que justifica a monitoração da função renal e controle da hipertensão (SMETS *et al.*, 2012b).

Na ecografia abdominal verificou-se aumento bilateral das glândulas adrenais em 92% dos casos. Benchekroun *et al.* (2010) referem que o aumento bilateral das adrenais sugere que o HAC seja ACTH-dependente, enquanto que o aumento unilateral direciona para HAC ACTH-independente. Apesar de ter sido uma alteração presente em quase todos os casos analisados, estudos apontam que as glândulas adrenais podem apresentar vários tamanhos ou alterações em qualquer tipo de HAC (BENCHEKROUN *et al.*, 2010). No entanto, observou-se que a frequência de formato irregular das glândulas adrenais foi de 60% no grupo de cães com HAC ACTH-independente, ou seja, 3,5 vezes mais que no grupo do HAC ACTH-dependente. Ressalta-se que em 7% dos casos não foram observadas alterações nas glândulas adrenais, corroborando com o conceito de que não se descarta a possibilidade de HAC com a identificação de glândulas adrenais com tamanho e aspecto normais (BEHREND *et al.*, 2013).

Pagani *et al.* (2016) compararam as alterações descritas na ultrassonografia e os achados histológicos. Os dados indicaram que a bilateridade das lesões adrenais prediz lesões benignas, como a hiperplasia cortical, assim como massas grandes (>20 mm) e irregulares foram preditores de neoplasia maligna. Tais características estruturais podem auxiliar no diagnóstico, mas não são patognômicas, especialmente por alguns casos ACTH-dependentes desenvolverem hiperplasia macronodular de adrenais, e ser comum a hiperplasia adrenal como resultado de ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal frente a doenças crônicas.

Na ultrassonografia abdominal constatou-se alta frequência de hepatomegalia, sendo observada hiperecogenicidade em quase 50% dos casos, um quadro compatível com esteatose por sobrecarga de glicogênio ou esteroides (RAMSEY e RISTIC, 2007). A ocorrência de lama biliar foi verificada em quase 70% dos casos, comprovando a alta prevalência de complicações colestáticas em cães com HAC. Acredita-se que a fisiopatologia da ocorrência do transtornos de colestase em pacientes com HAC ACTH-dependente possa estar relacionado ao metabolismo do colesterol. Kim *et al.* (2017) evidenciaram associação do HAC ACTH-dependente com doença colestática, como também, que pacientes com tal comorbidade necessitam de doses maiores de trilostano. Um estudo recente também mostrou que é possível que as mucocelas da vesícula biliar e a lama biliar tenham a mesma fisiopatologia, podendo representar uma doença contínua, sendo que a lama biliar pode ser considerada o estágio anterior ao aparecimento de mucocelas da vesícula biliar (KUTSUNAI *et al.*, 2017; MIZUTANI *et al.*, 2017).

CONCLUSÃO

Conclui-se que fêmeas, entre 10 e 12 anos, de raças de pequeno porte, principalmente das raças Poodle e Dachshund, apresentaram maior frequência de HAC. As principais alterações clínicas observadas foram polifagia, poliúria, polidipsia e abdome pendular. As alterações laboratoriais mais recorrentes foram hiperfosfatemia, hiperlipidemia e aumento discreto da atividade de ALT. Hiperplasia bilateral da adrenal é a alteração mais frequente da ultrassonografia, seguida por hepatomegalia, presença de lama biliar e hiperecogenicidade hepática. Esse estudo retrospectivo possibilitou a obtenção de informações importantes quanto à caracterização de cães com HAC, com identificação de casos com manifestações clínicas sutis, apontando um novo panorama do hiperadrenocorticismismo em cães, instigando o desenvolvimento de novos conhecimentos.

REFERÊNCIAS

- Au, A.Y., Hasenwinkel, J.M., Frondoza, C.G. 2013. Hepatoprotective effects of S-adenosylmethionine and silybin on canine hepatocytes in vitro. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* v.97, p.331-341.
- Behrend E.N. Canine Hyperadrenocorticism. 2015. In: FELDMAN E.C., NELSON R.W. & REUSCH C.E. *Canine and Feline Endocrinology*. 4. ed. St. Louis Saunders, p.377- 444.
- Behrend E.N., Kooistra H.S., Nelson R., Reusch C.E. & Scott-Moncrieff J.C. 2013. Diagnosis of spontaneous canine hyperadrenocorticism: 2012 ACVIM consensus statement (Small Animal). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 27, p.1292-1304.

- Belanger J.M., Bellumori T.P., Bannasch D.L., Famula T.R. & Berbauer A.M. 2017. Correlation of neuter status and expression of heritable disorders. *Canine Genetics and Epidemiology*, v.4, (6).
- Benchekroun G., Fornel-Thibaud P., Piñeiro M.I.R., Rault D., Besso J., Cohen A., Hernandez J., Stambouli F., Gomes E., Garnier F., Begon D., Maurey-Guenec C. & Rosenberg D. 2010. Ultrasonography criteria for differentiating ACTH-dependency from ACTH independency in 47 dogs with hyperadrenocorticism and equivocal adrenal asymmetry. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.24, p.1077-1085.
- Chervier C., Caderé J.L., Rodriguez-Pineiro M.I., Deputte, & ChabanneL. 2012. Causes of anaemia other than acute blood loss and their clinical significance in dogs. *Journal of Small Animal Practice*, v.53, p.223 – 227.
- Fracassi F., Corradini S., Floriano D., Boari A., Aste G., Pietra M., Bergamini P.F & Dondi F. 2015. Prognostic factors for Survival in dogs with pituitary-dependent hypercortisolism treated with trilostane, *Veterinary Record*, v.176, p.49.
- Gallelli M.F., Cabrera M.F.B. & Castillo V. 2010. A comparative study by age and gender of the pituitary adenoma and ACTH and alpha-MSH secretion in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism, *Research in Veterinary Science*, v.88, p.33.
- Gilor C. & Graves T.K. 2011. Interpretation of laboratory test for canine Cushing's Syndrome. *Topics in Companion Animal Medicine*, v. 26, n. 2, p. 98 – 108.
- Kennedy S.R., Loeb L.A. & Herr A.J. 2012. Somatic mutations in aging, cancer and neurodegeneration. *Mechanisms of Ageing and Development*, v.133, p.118 – 126.
- Kim K.H., Han S.M., Jeon K.O., Kim H.T., Li Q., Ryu M.O., Song W.J., Park S.C., Youn H.Y. 2017. Clinical Relationship between cholestatic disease and pPituitary-dependent hyperadrenocorticism in dogs: A retrospective case series. *J Vet Intern Med.* 2017, v.31(2), p.335-342.
- Klose T.C., Creevy K.E. & Brainard B.M. 2011. Evaluation of coagulation status in dogs with naturally occurring canine hyperadrenocorticism. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, v.21(6), p.625-632.
- Koestel Z.L., Backus R.C., Tsuruta K, Spollen W.G., Johnson S.A., Javurek A.B., Ellersieck M.R., Wiedmeyer C.E., Kannan K, Xue J, Bivens N.J., Givan S.A. & Rosenfeld C.S. 2017. Bisphenol A (BPA) in the serum of pet dogs following short-term consumption of canned dog food and potential health consequences of exposure to BPA. *Science of the Total Environment*, v.579, p.1804-1814.
- Kooistra H.S. & Galac S. 2010. Recent advances in the diagnosis of Cushing's Syndrome in dogs. *Veterinary Clinical North Small Animal Practice*, v. 40, p. 259-267.
- Kool M.M.J., Galac S., Spandauw C. G., Kooistra S.H.S. & Mol J.A. 2013. Activating mutations of GNAS in K9 cortisol-secreting adrenocortical tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.27, p.1486 – 1492.
- Kutsunai M., Kanemoto H., Fukushima K., Fujino Y., Ohno K. & Tsujimoto H. 2014. The association between gall bladder mucoceles and hyperlipidaemia in dogs: a retrospective case control study, *Veterinary Journal*, v.199, p.76.
- Ling G.V., Stabenfeldt G.H., Comer K.M., Gribble D.H. & Schechter R.D. 1979. Canine hyperadrenocorticism: pretreatment clinical and laboratory evaluation of 117 cases, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.174, p.1211.
- Miceli D.D., Pignataro O.P. & Castillo V.A. 2017. Concurrent hyperadrenocorticism and diabetes mellitus in dogs. *Res Vet Sci.* v.15, p.425-431.
- Midzak A. & Papadopoulos, V. 2016. Adrenal mitochondria and steroidogenesis: from individual proteins to functional protein assemblies. *Front Endocrinol.*, v.7, p.106.
- Mizutani S., Torisu S., Kaneko Y., Yamamoto S., Fujimoto S., Ong B.H.E., Naganobu K. 2017. Retrospective analysis of canine gallbladder contents in biliary sludge and gallbladder mucoceles. *Journal Vet Med Sci.* v.79(2), p.366–374.
- Morgan S.A., McCabe E.L., Gathercole L.L., Hassan-Smith Z.K., Lerner D.P., Bujalska I.J., Stewart P.M., Tomlinson J.W. & Lavery G.G. 2014. 11beta-HSD1 is the major regulator of the tissue-specific effects of circulating glucocorticoid excess. *Proc Natl Acad Sci U S A.* v.111(24), p.2482-2491.
- Morgan S.A., Sherlock M., Gathercole L.L., Lavery G.G., Lenaghan C., Bujalska I.J., Laber D., Yu A., Convey G., Mayers R., Hegyi K., Sethi J.K., Stewart P.M., Smith D.M. & Tomlinson J.W. 2009. 11β-Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 Regulates Glucocorticoid-Induced Insulin Resistance in Skeletal Muscle. *Diabetes*, v.58 (11), p.2506-2515.
- Nozawa S., Oda H., Akiyama R., Hitomi O.D.A., Ran A., Ueda K., Saeki K., Shono S., Maruyama N., Murata A. Tazaki H., Mori A., Momota Y., Azakami D., Sako T. & Ishioka K. 2014. Decreased gene expressions of insulin signal molecules in canine hyperadrenocorticism. *The Journal of Veterinary Medical Science.* v.76(8), p.1177-1182.

- O'Neill D.G., Scudder C., Faire J.M., Church D.B., McGreevy P.D., Thomson P.C. & Brodbelt D.C. 2016. Epidemiology of hyperadrenocorticism among 210.824 dogs attending primary-care veterinary practices in the UK 2009 to 2014. *Journal of Small Animal Practice*, v.57, p.365–373.
- Pace S.L., Creevy K.E., Krimer P.M. & Brainard B.M. 2013. Assessment of coagulation and potential biochemical markers for hypercoagulability in canine hyperadrenocorticism. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.27, p.1113.
- Pagani E., Tarducci A., Borrelli A., Iotti B., Tursi M., Zanatta R. 2017. Accuracy of ultrasonographic measurements of adrenal glands in dogs: comparison with necroscopic findings. *Anat. Histol. Embryol*, v.46, p.187–194.
- Peterson, M.E. 2007. Diagnosis of hyperadrenocorticism in dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v.22, p2-11.
- Plassais J., Rimbault M., Williams F.J., Davis B.W., Schoenebeck J.J., Ostrander E.A. 2017. Analysis of large versus small dogs reveals three genes on the canine X chromosome associated with body weight, muscling and back fat thickness. *PLoS Genet*, v.13(3), p.1006661.
- Pöppel A.G., Coelho I.C., Silveira C.A., Moresco M.B. & Carvalho G.L.C. 2016. Frequency of endocrinopathies and characteristics of affected dogs and cats in southern Brazil (2004-2014). *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 44, p. 1379-9.
- Ramsey I. & Ristic J. 2007. Diagnosis of canine hyperadrenocorticism. In *Practice*. v.29(8).
- Reusch C.E. & Feldman E.C. 1991. Canine hyperadrenocorticism due to adrenocortical neoplasia: pretreatment evaluation of 41 dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.5, n.1, p.3-10.
- Rose L., Dunn M.E. & Bédard C. 2013. Effect of canine hyperadrenocorticism on coagulation parameters. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.27, p.207-211.
- Smets P.M.Y., Lefebvre H.P., Aresu L., Croubels S., Haers H., Piron K., Meyer E. & Daminet S. 2012a. Renal function and morphology in aged beagle dogs before and after hydrocortisone administration. *PLoS ONE*, v.7(2), p.e31702.
- Smets P.M.Y., Lefebvre H.P., Meij B.P., Croubels S., Meyer E., Van de Maele I. & Daminet S. 2012b. Long-term follow-up of renal function in dogs after treatment for ACTH dependent hyperadrenocorticism. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.26, p.565.
- Sonnenschein C. & Soto A. 2010. Environmental causes of cancer: endocrine disruptors as carcinogens. *Nature Reviews Endocrinology*, v.6, p.363-370.
- Soulsby S.N., Holland M., Hudson J.A. & Behrend E.M. 2015. Ultrasonography evaluation of adrenal gland size compared to body weight in normal dogs. *Veterinary Radiology and Ultrasonography*, v.56, p.317-326.
- Teshima T., Hara Y., Takekoshi S., Teramoto A., Osamura, R.Y. & Tagawa M. 2009. Expression of genes related to corticotropin production and glucocorticoid feedback in corticotroph adenomas of dogs with Cushing's disease. *Domestic Animal Endocrinology*, v.36, p.3 – 12.
- Theon A.P. & Feldman E.C. 1998. Megavoltage irradiation of pituitary macrotumors in dogs with neurologic signs, *Journal of the American Veterinary Medicine Association*, 213:225.
- Van W., Rijnberk A., Crougns R.J.M., Meij B.P. & Mol J.A. 2014. Molecular screening for somatic mutations in corticotropic adenomas of dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Journal of Endocrinological Investigation*, v.20, p.1 – 7.
- Wang Y., Brûlé E., Silander T., Bak B., Joustra S.D. & Bernard D.J. 2017. The short mRNA isoform of the immunoglobulin superfamily, member 1 gene encodes an intracellular glycoprotein. *PLOS ONE*, v.12(7), p. e0180731.
- Wooten K.J. & Smith P.N. 2013. Canine toys and training devices as sources of exposure to phthalates and bisphenol A: Quantitation of chemicals in leachate and in vitro screening for endocrine activity. *Chemosphere*, v.93(10), p.2245-53.
- Zhang Y., Dong S., Wang H., Tao S. & Kiyama R. 2016. Biological impact of environmental aromatic hydrocarbons (ePAHs) as endocrine disruptors. *Environ. Pollut.* v.213:, p.809–824.

Legendas das figuras

Figura 1 - Distribuição do número de cães com hiperadrenorticismo de acordo com a idade e classificação etiológica.

Figura 2 - Distribuição (%) das manifestações clínicas em cães diagnosticados com hiperadrenocorticismo.

Figura 3- Valores médios, mínimos e máximos (*Box plots* com os interquartis) da espessura do polo caudal da glândula adrenal esquerda e direita de 115 cães com hiperadrenocorticismo de acordo com a classificação etiológica.

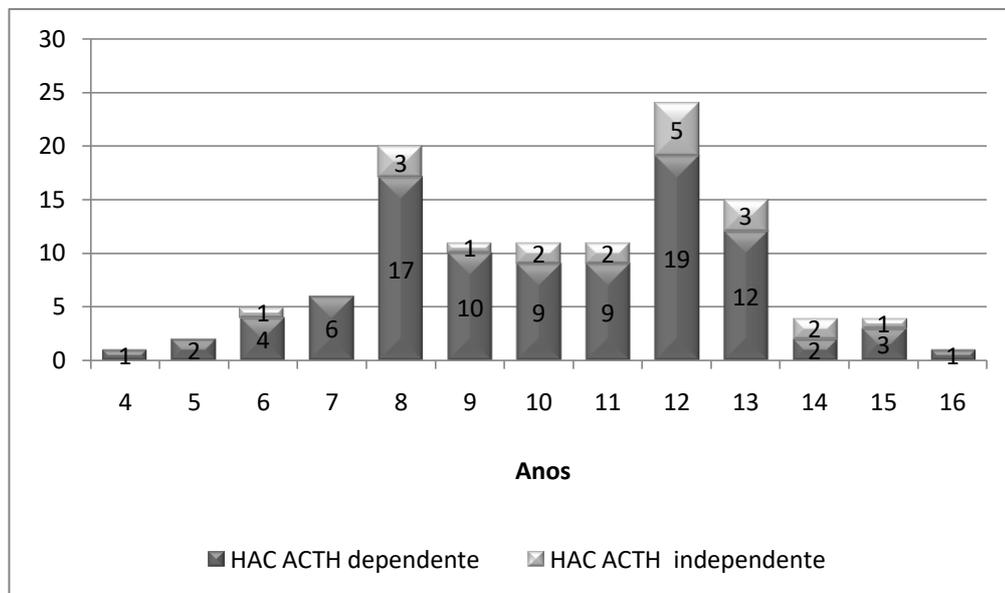


Figura 1 -

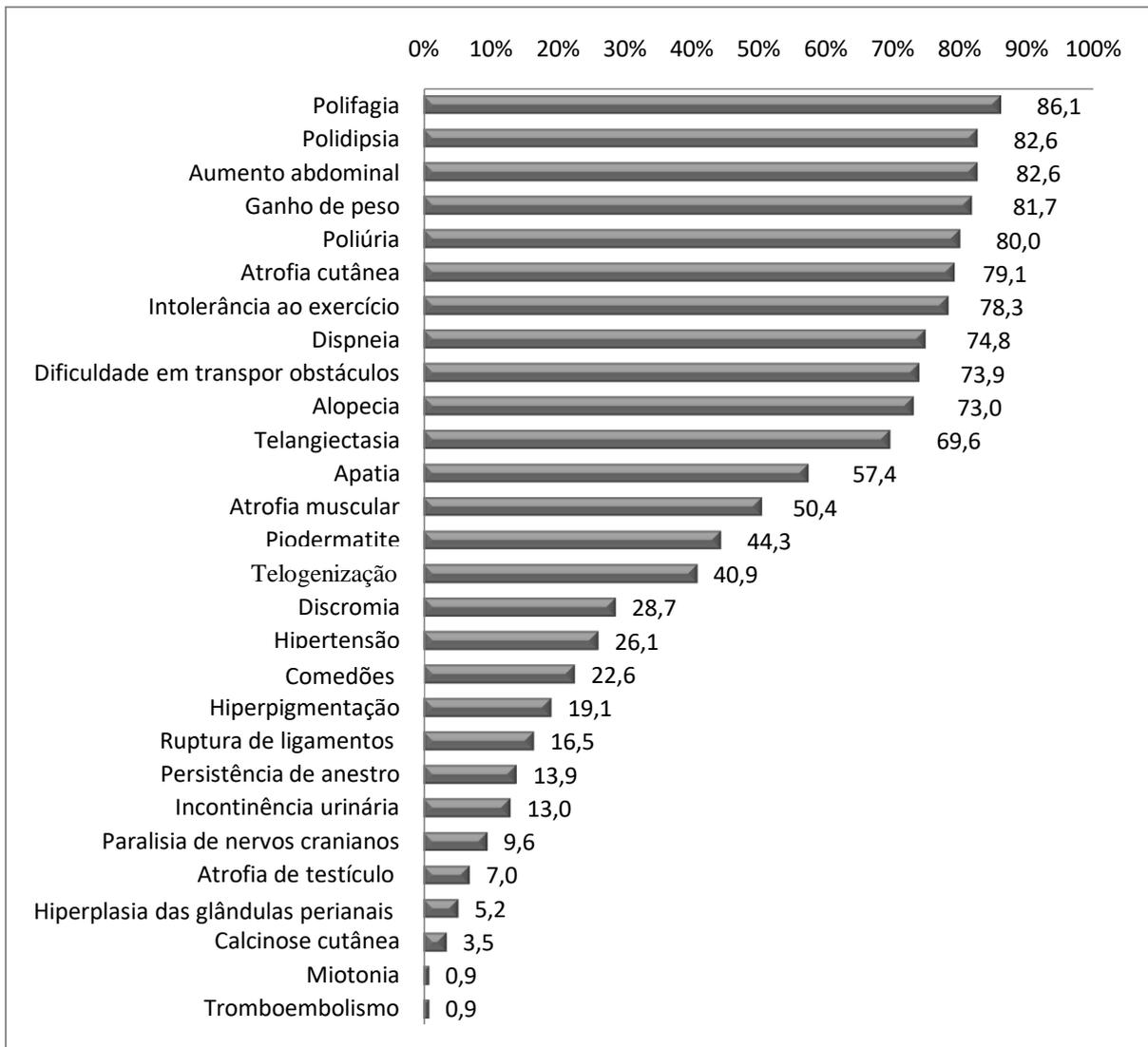


Figura 2.

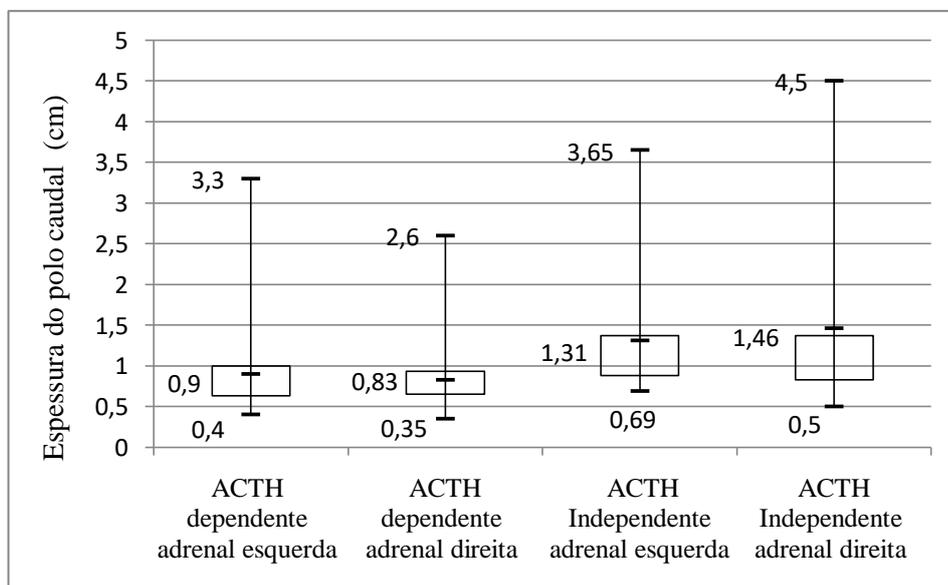


Figura 3.

Tabela 1 - Distribuição do padrão racial de 115 cães diagnosticados com hiperadrenocorticismos.

Raça	Número de casos	Porcentagem
Poodle	31	26,9
Dachshund	20	17,3
Sem padrão racial definido	14	12,2
Yorkshire Terrier	12	10,4
Bichon Frisé	9	7,8
Maltês	5	4,3
Shih-tzu	4	3,4
Pinscher	3	2,6
Schnauzer	3	2,6
Cocker Spaniel	2	1,7
West Highland White Terrier	2	1,7
American Staffordshire Terrier	1	0,9
Beagle	1	0,9
Boxer	1	0,9
Bulldog Francês	1	0,9
Chihuahua	1	0,9
Chow Chow	1	0,9
Dogo Argentino	1	0,9
Labrador	1	0,9
Lhasa Apso	1	0,9
Scotish Terrier	1	0,9

Tabela 2 - Valores médios, desvio padrão, mínimo e máximo para os parâmetros hematológicos mensurados em 115 cães com hiperadrenocorticismos.

Parâmetros (valor de referência)	Média (desvio padrão)	Mediana	Mínimo	Máximo
Hemácias (5,7 a 7,45x10 ⁶ /μL)	6,4 (± 1,06)	6,5	3,5	8,28
Hemoglobina (12 - 18 g/dL)	15,8 (±3,9)	15,7	9,5	18,2
Hematócrito (37 - 55%)	46,0 (±7,1)	47	29	63,1
Plaquetas (200.000- 600.000 /μL)	479.900 (174.493)	445.000	342.000	1.000.000

Tabela 3 - Valores médios, desvio padrão, moda, mínimo e máximo para os parâmetros bioquímicos mensurados em 115 cães com hiperadrenocorticismos.

Parâmetros (valor de referência)	Média (desvio padrão)	Mediana	Moda	Mínimo	Máximo
Fosfatase alcalina (< 156 mg/dL)	391 (± 1.102,13)	391	339	33	6.516
Colesterol (135 - 270 mg/dL)	330,79 (± 143,25)	298	256	100	1013
ALT (< 102 U/L)	194,94 (± 177,97)	143	260	7,2	923,2
Triglicerídeos (32 - 138 mg/dL)	310,04 (± 398,01)	176	132	23	2.956,36
Creatinina (0,5 - 1,5 mg/dL)	0,77 (± 0,28)	0,7	0,5	0,3	1,87
Ureia (21 - 60 mg/dL)	40,0 (± 28,60)	30,0	20	10	171,5
Glicose (65 - 118 mg/dL)	105,27 (± 23,20)	103	116	58,9	163
Densidade urinária (1.015 - 1.045)	1,021 (± 0,011)	1,020	1,010	1,006	1,052

CAPÍTULO IV

4. ARTIGO 2 (Normas da Revista Semina Ciências Agrárias)

Avaliação de um índice clínico como ferramenta no diagnóstico do hiperadrenocorticismismo canino

Evaluation of a clinical index as a tool in canine hyperadrenocorticism diagnosis

MARTINS, F. S. M.¹; CARVALHO, G. L. C.¹.; GONZALEZ, F. H. D.²; SILVA, G.³.; PÖPPL, A. G.¹

1-HCV/UFRGS. 2-LACVet/UFRGS. 3-EpiLab/UFRGS

RESUMO

O diagnóstico de hiperadrenocorticismismo (HAC) pode ser desafiador, sendo útil a criação de ferramentas que possam auxiliar durante a determinação do diagnóstico. O objetivo deste trabalho foi elaborar e avaliar um índice clínico de HAC (IDH) de cães submetidos ao teste de supressão por baixa dose de dexametasona (TSBDD). Foram revisados 289 prontuários de pacientes e selecionados por julgamento 143 prontuários como amostragem. Dessa população, 100 cães apresentavam o resultado do TSpBDD positivo (cortisol 8 horas >1,0 µg/dL) (grupo 1); 15 cães com o TSpBDD negativo (cortisol 8 horas <1,0 µg/dL), e teste de estimulação por ACTH positivo (cortisol pós-ACTH > 22 µg/dL) (grupo 2); e 28 cães clinicamente suspeitos, porém com TSpBDD e teste de estimulação negativos (grupo 3). Foram elaborados dois índices, um de contagem simples (IDH-S), somando um ponto para cada alteração do paciente; e um com sistema por peso, onde foi atribuído um peso para cada variável a partir de informações do consenso de diagnóstico do HAC (ACVIM, 2013). Para análise dos dados foram utilizados os testes ANOVA e Tukey e o teste de correlação de Pearson. As principais alterações observadas no estudo foram polifagia, poliúria, polidipsia, abdome abaulado, aumento de atividade de fosfatase alcalina e ALT, hiperlipidemia, hiperplasia bilateral da adrenal, e hepatomegalia. As médias do IDH-S foram: grupo 1 = 22,3 ± 4,9 pontos; grupo 2 = 21,1 ± 3,6 pontos e grupo 3 = 15 ± 4,6. A média do IDH-P no grupo 1 foi de 57,4 ± 11,6 pontos; no grupo 2 a média foi de 54,5 ± 9,7 pontos e no grupo 3 foi de 38,3 ± 12,7 pontos. No teste de Tukey (intervalo de confiança de 95%), observou-se diferença significativa (p< 0,001), tanto no IDH-S, quanto no IDH-P, entre os pacientes dos grupos 1 e 3 e entre os grupos 2 e 3. No entanto, não houve diferença significativa entre o IDH-S dos grupos 1 e 2 (p= 0,63) e nem no IDH-P (p=0,65) entre os grupos 1 e 2. O IDH pode auxiliar na diferenciação de cães positivos e falso-negativos no TSpDBB e poderá predizer o diagnóstico de

hiperadrenocorticismo em cães após novos estudos. O IDH demonstrou ser um método útil, simples e acessível, podendo ser uma ferramenta aplicável na prática clínica diferenciando cães positivos e negativos no TSpDBB.

Palavras-chave: Síndrome de Cushing, hipercortisolismo, diagnóstico, índice clínico

ABSTRACT

The diagnosis of hyperadrenocorticism (HAC) can be challenging, and it is useful to create tools that can aid in the determination of the diagnosis. The objective of this work was to elaborate and evaluate a clinical index of HAC (IDH) of dogs submitted to the dexamethasone low dose suppression test (TSBDD). A total of 289 patient records and 143 patient records were reviewed as a sample. From this population, 100 dogs presented the positive TSpBDD result (cortisol 8 hours > 1.0 µg / dL) (group 1); 15 dogs with negative TSpBDD (cortisol 8 hours < 1.0 µg / dL), and positive ACTH stimulation test (group 2); and 28 dogs clinically suspected, but with TSpBDD and negative stimulation test (group 3). Two indexes were elaborated, one more simple (IDH-S), counting one point by any alteration and one with weighted system, where a weight for each variable was attributed from the information of the diagnostic consensus of the HAC (ACVIM, 2013). Data analysis was performed using the ANOVA and Tukey tests and the Pearson and Spearman correlation tests. The mean IDH, evaluating the variables with weight, in the group of positive dogs in TSpBDD was 57.4 points (± 11.6). In the group with false-negative results the mean was 54.5 points (± 9.7). In the negative group the mean was 38.3 (± 12.7). In the group of dogs with positive TSpBDD, the mean score was 22.3 points (± 4.9), without considering the weight of the variables (IDH-S); in the group with false-negative TSpBDD the mean was 21.1 points (± 3.6); and in the negative group the mean was 15 points (± 4.6). In the Tukey test, with the 95% confidence interval, we observed a statistical difference between the group with positive and negative TSpBDD (groups 1 and 3) and between the group of false negative and negative TSpBDD (groups 2 and 3) ($p = 0.001$). In the IDH composition there was a strong correlation with the clinical index and a moderate correlation with the laboratory index. The main changes observed were polyphagia, polyuria, polydipsia, bulging abdomen, increased alkaline phosphatase and ALT activity, hyperlipidemia, bilateral adrenal hyperplasia, hepatomegaly, presence of biliary mud and hepatic hyperechogenicity. IDH may have aided in the differentiation of positive and

negative dogs in TSpDBB and may predict the diagnosis of hyperadrenocorticism in dogs after further studies.

Keywords: *Cushing Syndrome, hypercortisolism, diagnostic, clinical index*

1. INTRODUÇÃO

É indiscutível que nos dias atuais o hiperadrenocorticismo (HAC) é uma das principais endocrinopatias em cães, fato que reflete numa notória expansão no desenvolvimento de pesquisas e conhecimentos a cerca da patogênese, diagnóstico e tratamento deste transtorno. Apesar de ser uma doença frequente, ainda apresenta algumas complexidades e limitações na determinação do diagnóstico, tornando-o, às vezes, um grande desafio.

Um dos primeiros passos para estabelecer adequadamente o diagnóstico de HAC, é identificar as principais alterações decorrentes de hipercortisolismo. A compreensão das vantagens, desvantagens e interferências nas diferentes provas hormonais disponíveis, proporciona uma escolha adequada do teste a ser realizado, melhorando assim sua precisão, e reduzindo a possibilidade de resultados falsos-negativos e falsos-positivos (BEHEND, 2015).

O atraso no diagnóstico e tratamento do HAC posterga o controle da cortisolemia, favorecendo a continuidade das alterações dos parâmetros metabólicos, bem-estar e sobrevida desses pacientes (FRACASSI *et al.*, 2015). Por vezes, a investigação com dosagens hormonais pode ser limitada, seja por se tratar de um caso precoce, onde ainda haja um menor grau de hipersecreção de cortisol com os valores de referência não atualizados e estabelecidos (BEHREND *et al.*, 2013), ou por fatores que impliquem em elevação dos custos, tornando-os inacessíveis. Dessas causas, cita-se ainda a dificuldade na validação e acessibilidade a novos *kits* enzimáticos para análise, entraves na logística de realização dos testes e no envio de amostras para análise, além da restrição no prazo de validade dos reagentes radioativos e os riscos de manipulação.

Alguns estudos estão desenvolvendo sistemas de pontuação clínica que auxiliam na obtenção do diagnóstico e da gravidade do quadro em diferentes doenças (NUTTALL *et al.*, 2014; SNYDER *et al.*, 2015; HASSAN *et al.*, 2018). Tais sistemas de pontuação são utilizados para avaliar a gravidade das doenças e auxiliam na tomada de decisões do diagnóstico e no tratamento, principalmente de quadros complicados e honerosos (SEGEV *et*

al., 2016). Logo, o desenvolvimento de uma ferramenta simples que possibilite a obtenção de informações importantes acerca do quadro clínico e diagnóstico do HAC é benéfico.

Considerando a importância dos aspectos clínico-laboratoriais e ultrassonográficos para o diagnóstico de cães com HAC, este estudo teve por objetivo sugerir um índice clínico, a partir da identificação das principais alterações dessa endocrinopatia em pacientes submetidos ao teste de supressão por baixa dose de dexametasona (TSpBDD).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. AMOSTRAGEM E CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO E GRUPOS

Foram revisados 289 prontuários clínicos de pacientes atendidos entre 2010 e 2017, por um serviço de atendimento especializado, de onde foram selecionados por julgamento 143 prontuários como amostragem. Para inclusão no estudo, os pacientes deveriam apresentar o TSpBDD e o teste de estimulação por ACTH como testes de triagem hormonal, além dos exames laboratoriais, como hemograma, bioquímica sérica, urinálise e ultrassonografia no período da investigação.

Foram excluídos do estudo os pacientes com comorbidades, como diabetes mellitus, hipotireoidismo, doença renal crônica, hepatopatias crônicas graves e neoplasias não adrenais. Foram excluídos também os prontuários com dados incompletos, ou com dosagens hormonais não realizadas pelo método de radioimunoensaio. Excluíram-se ainda os cães em tratamento com glicocorticoides, diuréticos e barbitúricos.

Da população avaliada, 100 cães apresentavam o resultado do TSpBDD positivo (cortisol 8 horas $>1,0 \mu\text{g/dL}$) (grupo 1); 15 cães com o TSpBDD negativo (cortisol 8 horas $<1,0 \mu\text{g/dL}$), e teste de estimulação por ACTH positivo (cortisol pós-ACTH $> 22 \mu\text{g/dL}$) (grupo 2 ou falsos-negativos); e 28 cães clinicamente suspeitos, porém com TSpBDD e teste de estimulação negativos (grupo 3) e que não foram tratados para HAC baseado nos testes negativos.

Os cães positivos e falsos-positivos no TSpBDD foram classificados em duas categorias: HAC ACTH-dependente ou HAC ACTH-independente. A diferenciação etiológica foi sugerida com base nas alterações das glândulas adrenais apresentadas na ultrassonografia abdominal e nos resultados do TSpBDD (BEHREND, 2015) quando possível. A caracterização da população foi realizada com as seguintes variáveis: sexo, idade, condição reprodutiva (gonadectomizado ou não), raça, porte (pequeno $< 9,9 \text{ kg}$ de peso;

médio 10 a 19,9 kg e grande >20 kg) e classificação etiológica de HAC (ACTH-dependente ou ACTH-independente).

2.2. SELEÇÃO E PONTUAÇÃO DAS VARIÁVEIS CONSTITUINTES DO IDH

O IDH foi estruturado na metodologia Delphi, caracterizada por agregar informações obtidas por especialistas, elaborando um consenso sobre os aspectos determinantes que possam auxiliar na obtenção de um diagnóstico (JONES e HUNTER, 1995). Desta forma, o IDH foi elaborado a partir do somatório das alterações clínicas, laboratoriais e ultrassonográficas de cães suspeitos submetidos aos testes hormonais por meio do somatório do índice clínico (IC), laboratorial (IL) e ultrassonográfico (IUS).

Foram elaborados dois sistemas de pontuação para o IDH; um sem peso, onde se considerou 1 ponto para cada alteração observada no diagnóstico, sendo denominado de IDH simplificado (IDH-S). O segundo processo foi constituído a partir do somatório de pontos com pesos atribuídos a cada variável (IDH-P), no qual foi determinado de acordo com o tipo de alteração verificada. Alterações consideradas mais frequentes receberam o peso de três pontos, as alterações frequentes receberam peso dois pontos e cada alteração infrequente peso de um ponto. A frequência das alterações foi designada ou adaptada a partir das indicações do consenso de diagnóstico do HAC, publicado pelo *American College of Veterinary Internal Medicine* (ACVIM, 2013) (Tabelas 1, 2 e 3).

A seguir, um fluxograma da metodologia utilizada no estudo (Figura 1).

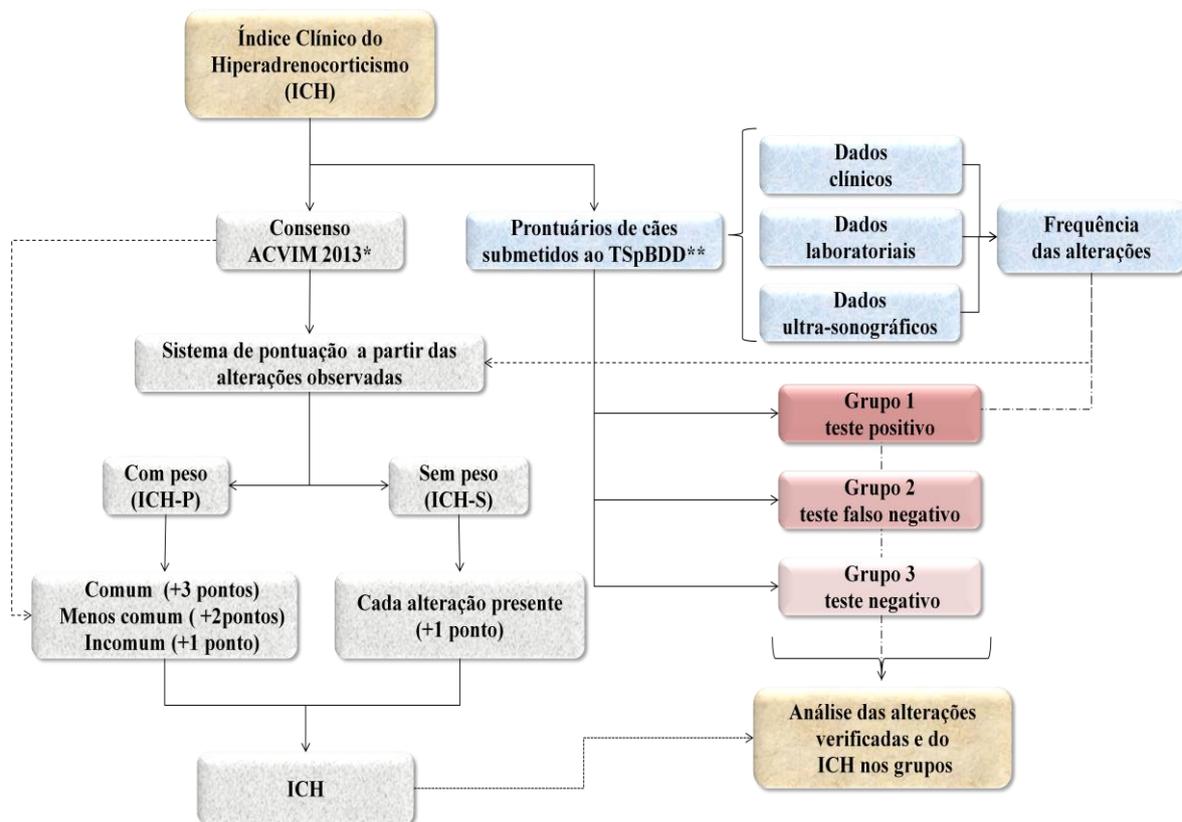


Figura 1. Fluxograma da estruturação da metodologia do estudo. Em coloração cinza, segue a sequência da concepção do índice clínico do hiperadrenocorticism. A partir da pontuação, emergiu os índices clínicos do hiperadrenocorticism com peso (IDH-P), no qual se respalda na classificação da frequência das alterações determinadas pelo ACVIM (2013), assim como o sistema de pontuação sem peso (IDH-S). Os prontuários selecionados foram avaliados e, a partir do resultado do TSpBDD, e classificados em grupos. O grupo 1 foi composto pelos casos com teste positivo, o grupo 2 por casos com o resultado falso-negativo e o grupo 3 com resultado negativo.

Tabela 1 – Variáveis correspondentes às alterações clínicas utilizadas no índice clínico simplificado de HAC (IDH-S) e com IDH-P de cães com suspeita de hiperadrenocorticismos submetidos ao TSpBDD como diagnóstico, determinadas por avaliação semiológica com seus respectivos e pesos.

Variáveis clínicas consideradas	Peso IDH-P
Abaulamento abdominal	3
Alopecia simétrica	3
Atrofia cutânea	2
Atrofia muscular	3
Atrofia testicular	1
Calcinose cutânea	1
Comedões	2
Dificuldade em transpor obstáculos	3
Discromia	1
Dispneia/Taquipneia	3
Ganho de peso	3
Hiperpigmentação	2
Hiperplasia glândulas perianais	1
Hipertensão sistêmica	3
Incontinência urinária	2
Intolerância à atividade física	2
Letargia /apatia	3
Miotonia	1
Paralisia de nervos cranianos	1
Persistência de anestro	1
Piodermatite	3
Polidipsia	3
Polifagia	3
Poliúria	3
Ruptura de ligamentos	1
Teleangiectasia	3
Telogenização	2
Tromboembolismo	1

Tabela 2– Variáveis correspondentes às alterações laboratoriais utilizadas no índice clínico de HAC (IDH) de cães com suspeita de hiperadrenocorticismo submetidos ao TSpBDD como diagnóstico, com suas respectivas descrições e pesos para o IDH-P.

Variáveis laboratoriais avaliadas no Índice Clínico de HAC	Descrição	Peso IDH-P
ALT elevada	> 102 U/L	3
Creatinina reduzida	< 0,7 mg/Dl	1
Densidade urinária baixa (Método de refratometria)	<1,015	3
Eosinopenia	<100 / μ L	3
Eritrocitose	> 8,5 x10 ⁶ / μ L	3
Fosfatase alcalina elevada	>156 U/L	3
Hipercolesterolemia	>270 mg/dL	3
Hipertrigliceridemia	>138mg/dL	3
Linfopenia	<1.000/ μ L	3
Neutrofilia	>17.000/ μ L	3
Proteinúria (detecção em fita de urinálise)	1 a 4 +	3
Trombocitose	>600.000/ μ L	3

Tabela 3 – Variáveis correspondentes às alterações ultrassonográficas utilizadas no IDH de cães com suspeita de hiperadrenocorticismismo submetidos ao TSpBDD como diagnóstico, com suas respectivas descrições e pesos para o IDH-P.

Variáveis ultrassonográficas	Descrição	Peso IDH-P
Glândula adrenal assimétrica	Diferença entre as glândulas adrenais > 0,4 cm no polo caudal	1
Glândula adrenal heterogênea	Imagem com parênquima heterogêneo	1
Glândula adrenal hiperplásica (espessura do polo caudal)*	Cães de pequeno porte < 0,54 cm Cães de médio porte < 0,68cm Cães de grande porte < 0,8 cm	3
Glândula adrenal irregular	Imagem irregular da glândula adrenal	1
Hepatomegalia	Imagem e padrão anatômico compatível com aumento do órgão	3
Hiperecogenicidade hepática	Comparação de ecogenicidade de órgãos abdominais	3
Lama biliar/mucocele	Presença de sedimento moderado a grave ou filamentos irradiados	2
Nefrocalcinose	Imagem hiperecótica renal, sem formação de sombra acústica, compatíveis com calcificações	1

*Soulsby *et al.* (2014)

2.3. COLETA E ANÁLISE DOS DADOS

Os dados de interesse foram obtidos dos prontuários e digitados numa matriz de dados em planilha Excel. As variáveis que constituíram o IC, IL e IU foram todas analisadas como variáveis dicotômicas, sendo obtida ainda a distribuição por frequência e proporções nos três grupos.

Para a análise dos resultados foi aplicada análise descritiva dos dados epidemiológicos, teste de ANOVA e Tukey para avaliação do IDH. O teste da ANOVA foi utilizado após o teste de seus pressupostos. O teste de Tukey foi utilizado para avaliar o IDH-

S e IDH-P, entre os grupos. Por fim, foram realizadas análises de correlação de Pearson entre o IDH-P e IDH-S para cada sub-índice IC, IL e IUS.

3. RESULTADOS

3.1. CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS

A caracterização dos grupos pode ser observada na Tabela 4.

Tabela 4. Caracterização do perfil dos cães nos grupos avaliados.

Grupos	Idade (anos)	Fêmeas	Gonadectomizados	Distribuição racial
Grupo 1 (n=100)	10,2 ±2,5	65%	60%	Poodle (27%) Dachshund (20%)
Grupo 2 (n=15)	11,0 ±2,4	80%	80%	Poodle (26,7%) Bichon F. (20%)
Grupo 3 (n=28)	10 ±2,1	78%	82%	Poodle (42,9%) Yorkshire T. (25%)

3.2. ÍNDICE CLÍNICO (IC)

Os resultados podem ser avaliados na Figura 2, onde o destaque em vermelho são as alterações acima de 66,6; em destaque verde, a manifestações clínicas com frequência entre 33,3 e 66,5%. O conjunto de manifestações clínicas dos casos foi diversificado.

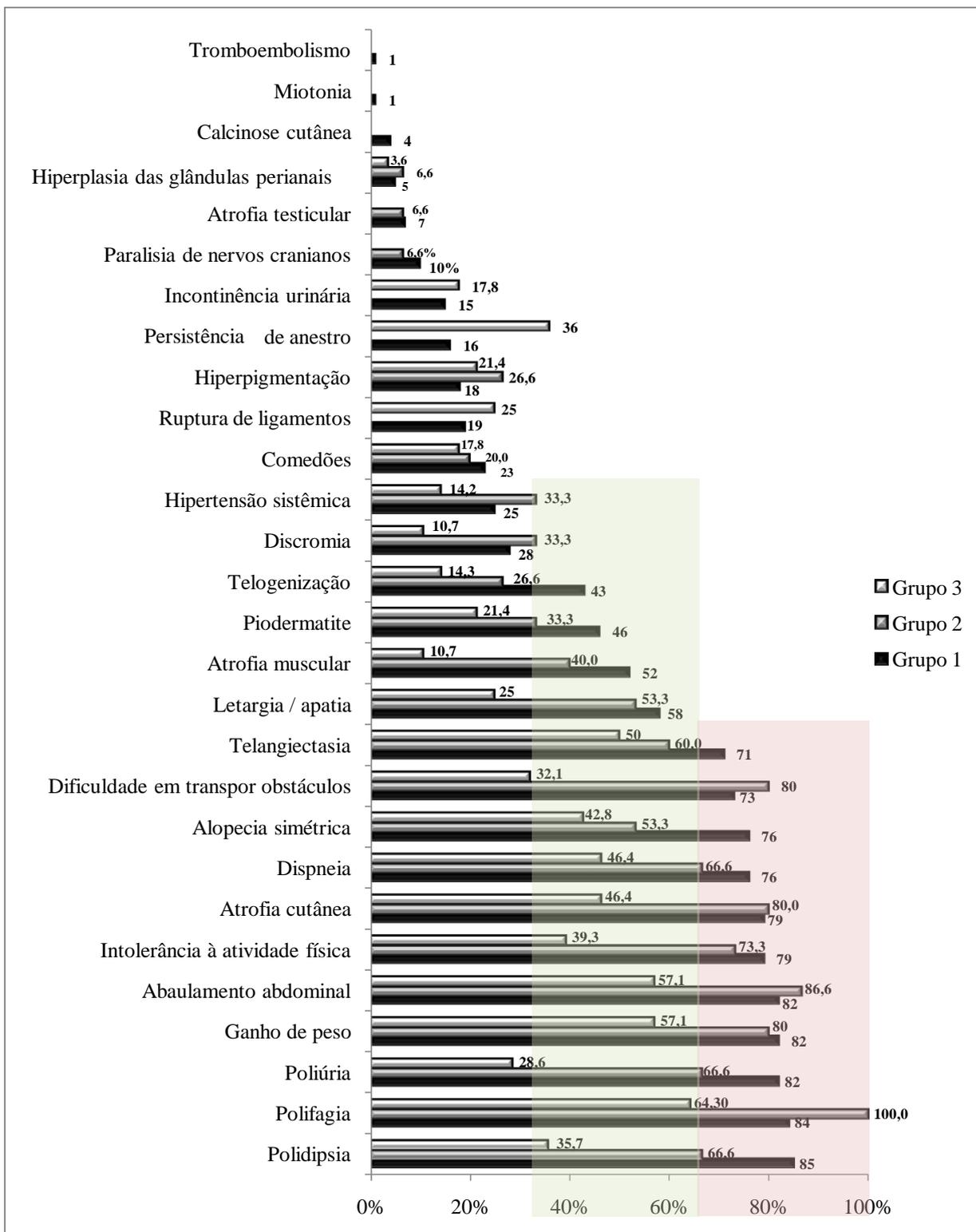


Figura 2. Frequência das alterações clínicas dos cães com TSpBDD positivo (grupo 1), falso-negativo (grupo 2) e negativo (grupo 3). Na área vermelha destacam-se as alterações clínicas observadas em mais de 66,6% dos casos, enquanto que na área verde, as alterações verificadas entre 33,3 e 66,5%.

3.3. ÍNDICE LABORATORIAL (IL)

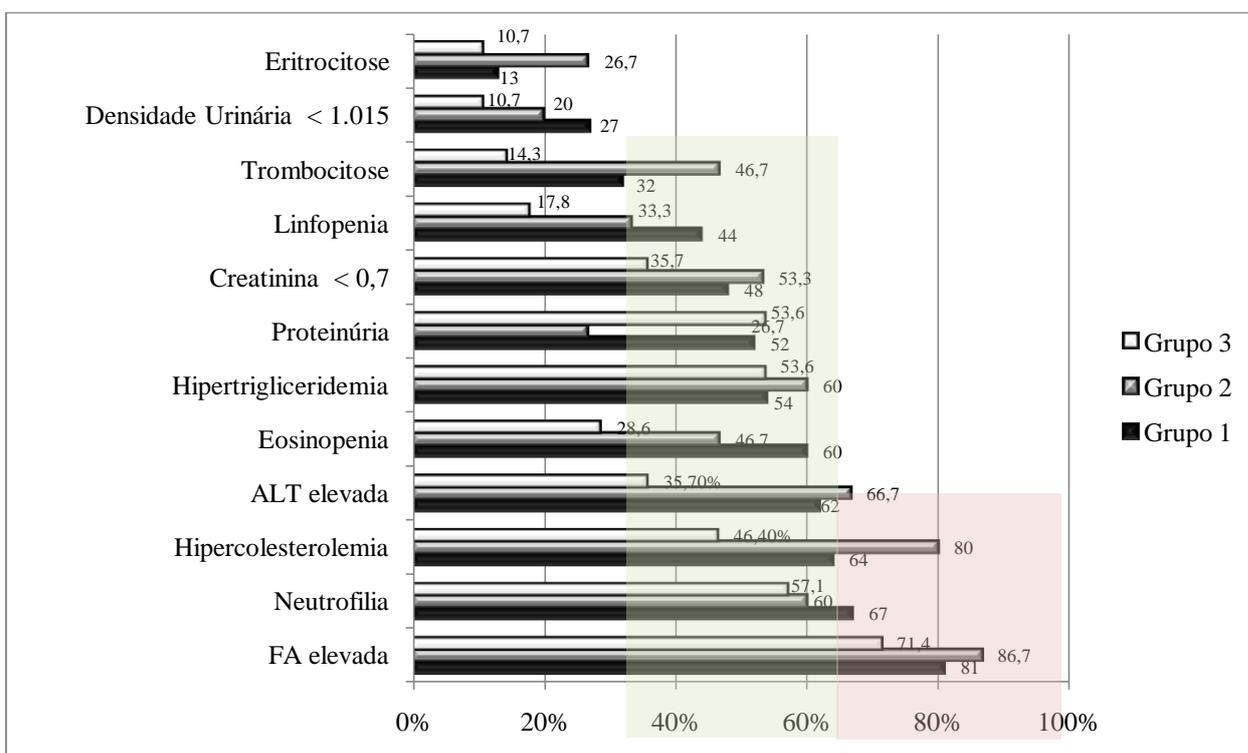


Figura 3. Frequência das alterações laboratoriais dos cães com TSpBDD positivo (grupo 1), falso-negativo (grupo 2) e negativo (grupo 3). Na área vermelha destacam-se as alterações clínicas observadas em mais de 66,6% dos casos, enquanto que na área verde, as alterações verificadas entre 33,3 e 66,5%.

3.4. ÍNDICE ULTRASSONOGRÁFICO (IUS)

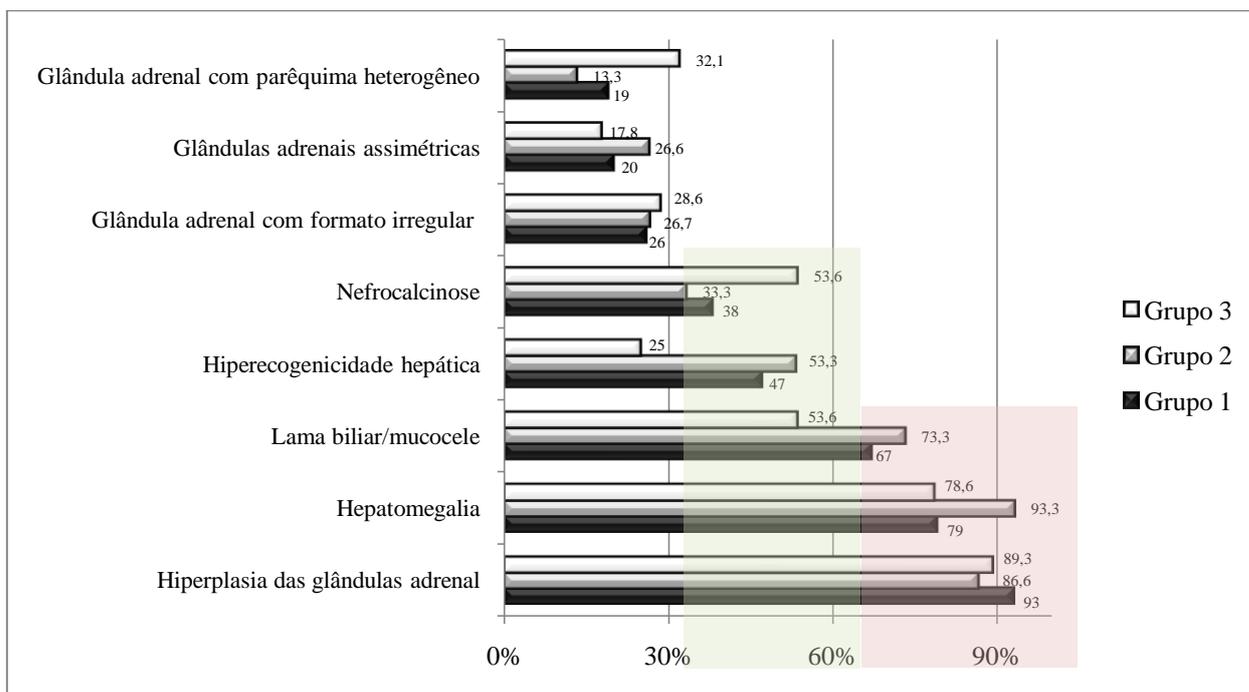


Figura 4. Frequência das alterações ultrassonográficas abdominais dos cães com TSpBDD positivo (grupo 1), falso-negativo (grupo 2) e negativo (grupo 3). Na área vermelha destacam-se as alterações clínicas observadas em mais de 66,6% dos casos, enquanto que na área verde, as alterações verificadas entre 33,3 e 66,5%.

3.5. ÍNDICE CLÍNICO DO HIPERADRENOCORTICISMO (IDH)

A média do IDH-P no grupo 1 foi de $57,4 \pm 11,6$ pontos (variação de 21 a 83). No grupo 2 a média foi de $54,5 \pm 9,7$ pontos (variação de 35 a 70). O grupo 3 teve média de $38,3 \pm 12,7$ pontos (variação de 17 a 68).

No teste de Tukey, com o intervalo de confiança de 95%, não houve diferença significativa ($p= 0,65$) entre o IDH-P dos grupos 1 e 2. No entanto, observou-se diferença significativa ($p < 0,001$) entre os grupos 1 e 3, e entre os grupos 2 e 3 (Figura 5).

Avaliando os resultados do IDH-S, obteve-se no grupo 1 a média de $22,3 \pm 4,9$ pontos (variando de 8 a 35), no grupo 2 a média foi $21,1 \pm 3,6$ pontos (variação de 13 a 26); e no grupo 3 a média foi $15 \pm 4,6$ pontos (variação de 6 a 25). No teste de Tukey, observou-se também diferença significativa ($p < 0,001$) no IDH-S entre os pacientes dos grupos 1 e 3 e

entre os grupos 2 e 3 (Figura 5). Não houve diferença significativa ($p= 0,63$) entre o IDH-S dos grupos 1 e 2.

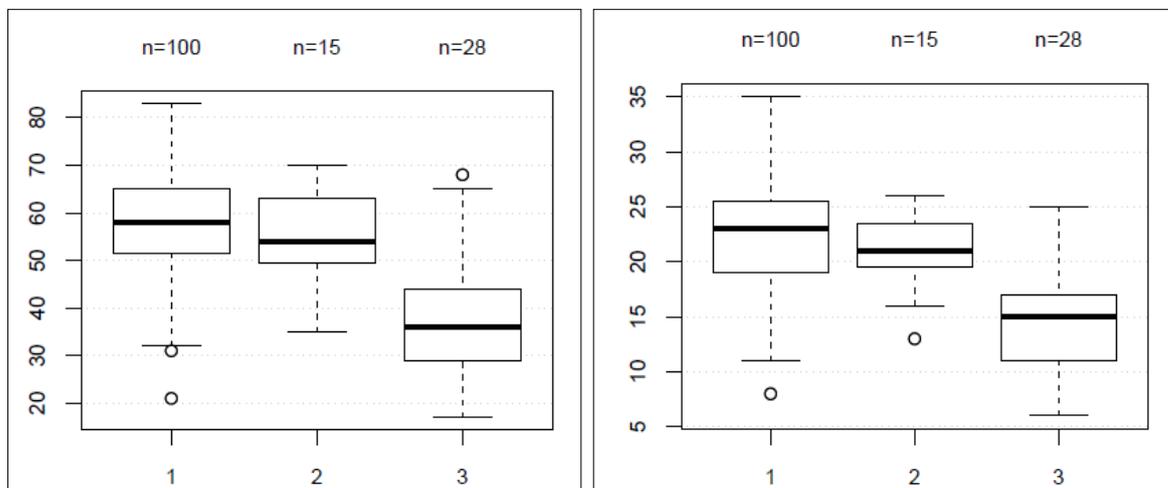


Figura 5. A) Comparação dos valores do IDH-P entre dos cães dos grupos 1, 2 e 3. B) Comparação dos valores do IDH-S entre dos cães dos grupos 1, 2 e 3.

A análise de correlação de Pearson do IDH-S com os índices clínico (IC), laboratorial (IL) e ultrassonográfico (IUS) foram todas positivas. Não houve diferença nas correlações realizadas com IDH-S e o IDH-P. No IDH-S o IC foi o fator mais significativo ($r= 0,851$), seguido pelo IL ($r= 0,643$) e IU ($r= 0,349$). Na análise de correlação do IDH-P, o IC também foi o mais significativo ($r= 0,862$), seguido pelo IL ($r= 0,673$) e IU ($r= 0,339$).

4. DISCUSSÃO

Os cães com resultado positivo desse estudo apresentaram dados demográficos similares aos referidos na literatura, com a média de idade de 10 anos (GALLELLI *et al.*, 2010; BEHREND, 2015; PÖPPL *et al.*, 2016), maior frequência em fêmeas e de porte pequeno (REUSCH e FELDMAN, 1991; GALLELLI *et al.*, 2010; BEHREND *et al.*, 2013; PÖPPL *et al.*, 2016). A distribuição por raça foi similar aos dados de outros países, destacando maior ocorrência em cães de raça, como o Poodle, o Dachshund, Bichon Frisé e o Yorkshire Terrier (BEHREND, 2015; PÖPPL *et al.*, 2016; O'NEILL *et al.*, 2016).

Na população amostral de cães com HAC, a classificação etiológica corroborou a proporção de HAC ACTH-dependente e ACTH-dependente referida em outros estudos, assim

como também, aproximou-se do número percentual de 15% de resultados falsos-negativos no TSpBDD (REUSCH e FELDMAN, 1991; BEHREND, 2015; FRACASSI et al, 2015).

O teste hormonal utilizado de primeira escolha foi o TSpBDD, sendo realizado nos casos suspeitos com o primeiro teste negativo, o teste de estimulação por ACTH, utilizado também nos pacientes positivos durante a monitoração do tratamento, como é preconizado na literatura (PETERSON, 2007; BENCHEKROUN *et al.*, 2010, BEHREND *et al.*, 2015). Esses testes são recomendados de acordo com a apresentação clínica (BEHREND *et al.*, 2013), sendo útil a aplicação de um índice clínico nos casos suspeitos, direcionamento da aplicação dos testes hormonais.

Constatou-se que os grupos 1 e 2 apresentaram um conjunto maior de alterações clínicas classificadas pelo consenso do ACVIM (BEHREND *et al.*, 2013) como frequentes. Enquanto que o grupo 3 apresentou um maior número de manifestações clínicas classificadas como infrequentes. Apesar de denotar uma informação evidente, essa caracterização clínica com dados infrequentes, pode indicar o momento clínico para a realização de provas hormonais. De acordo com Peterson (2007) os cães que apresentam alguma manifestação clínica de HAC devem ser submetidos aos testes hormonais. No entanto, muitas vezes as alterações são inespecíficas ou podem ser associadas a outras enfermidades, tornando difícil a decisão do teste e da viabilidade do tratamento. Salienta-se que poucos estudos determinam a frequência do conjunto das alterações clínicas, laboratoriais e ultrassonográficas de cães com HAC.

Dentre as alterações laboratoriais, verificou-se que o aumento da atividade de fosfatase alcalina foi a mais frequente nos três grupos, evidenciando sua inespecificidade para direcionar o diagnóstico. No entanto, deve-se considerar a associação das alterações classificadas com as mais frequentes, como por exemplo, a elevação da ALT, hiperlipidemia, creatinina e densidade urinária diminuídas, consolidando a suspeita e realização das provas hormonais, levando em conta que a ausência de anormalidades comuns deve diminuir a suspeita de HAC. O consenso aponta que nenhuma das alterações pode ser considerada patognomônica para HAC (BEHREND *et al.*, 2013).

Avaliando a distribuição das alterações da ultrassonografia abdominal verifica-se um aspecto similar, destacando a presença de hiperplasia da glândula adrenal comum aos grupos avaliados, indicando ser um forte ponto na instituição da suspeita clínica. Benchekroun *et al.* (2010) afirmam que as glândulas adrenais podem apresentar dimensões e alterações estruturais em qualquer tipo de HAC, podendo não apresentar nenhuma alteração.

Justificando a realização de provas hormonais mesmo em casos que apresentem um baixo índice ultra-sonográficos, desde que apresentem índices clínicos e/ou laboratoriais compatíveis (BEHREND *et al.*, 2013). A hepatomegalia também apresentou uma distribuição maior que 66% nos três grupos, verificando uma diferença na ocorrência da hipercorticogenicidade hepática, apresentando uma maior ocorrência nos cães positivos.

A severidade das manifestações do HAC pode ser variável, não havendo correlação aparente das alterações com a quantidade de cortisol produzida pela glândula adrenal (BEHREND, 2015). Estudos apontam que alguns casos possam apresentar uma tendência a apresentar manifestações mais discretas do que os casos observados em estudos mais antigos (BEHREND *et al.*, 2013; O'NEIL *et al.*, 2016).

Foi verificada diferença significativa entre os grupos nos dois tipos de índices (IDH-P e IDH-S), sugerindo que essa ferramenta pode prever o resultado do teste hormonal. É interessante observar que o IDH dos pacientes que foram submetidos ao tratamento para HAC foi estatisticamente diferente dos casos não submetidos ao tratamento, e assumidos como verdadeiros-negativos. Esse resultado é pertinente, pois uma das considerações para o tratamento, utilizada também na monitoração, são as alterações clínicas e laboratoriais dos pacientes com HAC (BEHREND, 2015; ALDRIDGE *et al.*, 2016).

Neste estudo inicial, sugere-se que por meio das informações clínicas e exames complementares é possível estabelecer um índice clínico que diferencie o TSpBDD negativo do falso-negativo ou positivo, podendo servir com ferramenta no diagnóstico de HAC em cães, especialmente em situações de limitação financeira do tutor, ou limitação logística para realização dos ensaios hormonais. Sendo assim, com base na identificação de alterações causadas pelo hipercortisolismo crônico é possível identificar diferenças entre os pacientes suspeitos de HAC, mas negativo no teste hormonal, dos pacientes que receberam tratamento para a doença. O IUS apesar de apresentar a correlação mais fraca com IDH, detém informações relevantes na conduta do caso, escolha dos testes diagnósticos e opções terapêuticas.

A amostragem por julgamento pode ser uma limitação do estudo. Embora o uso da amostragem por julgamento possa não ser considerado um método confiável, sabe-se que, nos casos onde o objetivo é aprender ou melhorar um processo específico ou sistema, as amostras de julgamento são tecnicamente e conceitualmente mais apropriadas, não sendo meramente uma abordagem conveniente ou apenas econômica (PERLA e PROVOST, 2012).

Propõe-se com estes resultados estabelecer um sistema acessível que permita ao médico veterinário aplicar de forma simples o IDH para estabelecer um diagnóstico precoce e uma monitoração com redução de custos. É necessária a realização de um estudo prospectivo com uma população maior e com melhor avaliação dos variáveis.

5. CONCLUSÃO

Os IDH-S e o IDH-P demonstraram ser compostos por um método útil, não complicado e acessível, podendo ser uma ferramenta aplicável na prática clínica e na diferenciação de cães positivos e negativos no TSpDBB. Considerando ainda os dados obtidos, indica-se como mais promissor o IDH-P, no qual exalta as alterações mais frequentes do HAC, sobretudo as variáveis do índice clínico.

REFERÊNCIAS

ALDRIDGE, C.; BEHREND, E.N.; KEMPPAINEN, R.J.; LEE-FOWLER, T.M.; MARTIN, L.G.; WARD, C.R.; BRUYETTE, D.; PANNU, J.; GAILLARD, P.; LEE, H.P. Comparison of 2 Doses for ACTH stimulation testing in dogs suspected of or treated for hyperadrenocorticism. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.28, 2016.

BENCHEKROUN, G., FORNEL-THIBAUD, PIÑEIRO, M.I.R.; RAULT, D., BESSO, J., et al. Ultrasonography criteria for differentiating ACTH dependency from ACTH independency in 47 dogs with hyperadrenocorticism and equivocal adrenal asymmetry. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.24, p. 1077–1085, 2010.

BEHREND, E.N. Canine Hyperadrenocorticism. In FELDMAN, E.C.; NELSON, R.W.; REUSCH, C.E et al. **Canine and Feline Endocrinology**. 4. ed. St. Louis Saunders, p.377-444, 2015.

BEHREND, E.N.; KOOISTRA, H.S.; NELSON, R.; REUSCH, C.E.; SCOTT-MONCRIEFF, J.C. Diagnosis of spontaneous canine hyperadrenocorticism: 2012 ACVIM consensus statement (Small animal). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, p.1292-1304, 2013.

FRACASSI, F.; CORRADINI, S., FLORIANO, D.; BOARI, A.; ASTE, G.; PIETRA, M.; BERGAMINI, P.F; DONDI, F. Prognostic factors for Survival in dogs with pituitary-dependent hypercortisolism treated with trilostane, **Veterinary Record**, v.176, p.49, 2015.

GALLELLI, M.F.; CABRERA, M.F.B.; CASTILLO, V. A comparative study by age and gender of the pituitary adenoma and ACTH and alpha-MSH secretion in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism, **Research in Veterinary Science**, v.88, p.33, 2010.

O'NEILL, D.G.; SCUDDER, C.; FAIRE, J.M.; CHURCH, D.B.; McGREEVY, P.D.; THOMSON, P.C.; BRODBELT, D.C. Epidemiology of hyperadrenocorticism among 210.824 dogs attending primary-care veterinary practices in the UK 2009 to 2014. **Journal of Small Animal Practice**, v. 57, p. 365–373, 2016.

PETERSON, M.E. Diagnosis of hyperadrenocorticism in dogs. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.22. P.2-11, 2007.

PÖPPL, A. G.; COELHO, I.C. ; SILVEIRA, C.A.; MORESCO, M.B.; CARVALHO, G.L.C. Frequency of endocrinopathies and characteristics of affected dogs and cats in southern Brazil (2004-2014). **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 44, p. 1379-9, 2016.

REUSCH, C.E.; FELDMAN, E.C.: Canine Hyperadrenocorticism Due to Adrenocortical Neoplasia: Pretreatment Evaluation of 41 Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.5, n.1, p: 3-10, 1991.

SOULSBY, S.N.; HOLLAND, M.; HUDSON, J.A.; BEHREND, E.M.: Ultrasonography evaluation of adrenal gland size compared to body weight in normal dogs. **Veterinary Radiology and Ultrasonography**, v.56, p.317-326, 2015.

PERLA, R.; PROVOST, L. Judgment sampling: A health care improvement perspective. **Quality management in health care**. 21. 169-75, 2012.

Os sapiens não saiam apenas à procura de alimentos e materiais. Também saiam à procura de conhecimento.

(Harari – Uma Breve História da Humanidade)

Não deixe o perfeito ser o inimigo do bom.

Coragem para de ser imperfeito...

(Voltaire)

CAPÍTULO V

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento do presente estudo possibilitou a obtenção de informações importantes quanto à caracterização dos principais aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais de cães com HAC. A distribuição da frequência das alterações dos grupos 1 e 2 foram similares ao do consenso do ACVIM (2013), apresentando diferenças quando comparados aos pacientes com TSpBDD negativo.

O IDH, nos sistemas do IDH-S e do IDH-P, demonstrou ser um método útil, podendo ser uma ferramenta aplicável na prática clínica, auxiliando no direcionamento do TSpBDD. Considerando os dados, constatou-se a importância das manifestações clínicas para determinação do diagnóstico e da tomada de decisão pelo tratamento, ressaltando o papel do IDH-P, o qual destaca as alterações clínicas mais frequentes do HAC em cães.

Diante das limitações do estudo e das objeções inerentes ao diagnóstico do HAC, espera-se que outras análises estatísticas e novos estudos prospectivos sejam realizados com o IDH, visando concretizá-lo na prática clínica e auxiliando no diagnóstico do HAC.

REFERÊNCIAS ADICIONAIS

ALDRIDGE, C.; BEHREND, E.N.; KEMPPAINEN, R.J.; LEE-FOWLER, T.M.; MARTIN, L.G.; WARD, C.R.; BRUYETTE, D.; PANNU, J.; GAILLARD, P.; LEE, H.P. Comparison of 2 Doses for ACTH stimulation testing in dogs suspected of or treated for hyperadrenocorticism. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.28, 2016.

ARENAS, C.; MELI, C.; PEREZ-ALENZA, M.D. Long-Term Survival of Dogs with Adrenal-Dependent Hyperadrenocorticism: A comparison between mitotane and twice daily trilostane treatment. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.28, p. 473–480, 2014.

BASSETT, M.H.; WHITE, P.C.; RAINEY, W.E. The regulation of aldosterone synthase expression. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.217, p.67-74, 2004.

BENCHEKROUN, G., FORNEL-THIBAUD, PIÑEIRO, M.I.R.; RAULT, D., BESSO, J., et al. Ultrasonography criteria for differentiating ACTH dependency from ACTH independency in 47 dogs with hyperadrenocorticism and equivocal adrenal asymmetry. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.24, p. 1077–1085, 2010.

PAGANI, E.; TARDUCCI, A.; BORRELLI, A.; IOTTI, B.; TURSI, M.; ZANATTA, R. Accuracy of Ultrasonographic Measurements of Adrenal Glands in Dogs: Comparison with Necroscopic Findings. **Anat. Histol. Embryol**, v.46, p.187–194, 2017.

PÖPPL, A. G.; COELHO, I.C. ; SILVEIRA, C.A.; MORESCO, M.B.; CARVALHO, G.L.C. Frequency of endocrinopathies and characteristics of affected dogs and cats in southern Brazil (2004-2014). **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 44, p. 1379-9, 2016.

REUSCH, C.E. AND FELDMAN, E.C.: Canine Hyperadrenocorticism Due to Adrenocortical Neoplasia: Pretreatment Evaluation of 41 Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.5, n.1, p: 3-10, 1991.

BENIGNI, L. Adrenal glands. In **BSAVA Manual of Canine and Feline Ultrasonography**. Inglaterra: British Small Animal Veterinary Association, p. 147 – 154, 2011.

BENITAH, N.; FELDMAN, E.C.; KASS, P.H.; NELSON, R.W. Evaluation of serum 17-hydroxyprogesterone concentration after administration of ACTH in dogs with hyperadrenocorticism. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 227, p.1095–1101, 2005.

BEHREND, E.N. Canine Hyperadrenocorticism. In FELDMAN, E.C.; NELSON, R.W.; REUSCH, C.E et al. **Canine and Feline Endocrinology**. 4. ed. St. Louis Saunders, p.377-444, 2015.

BEHREND, E.N.; KOOISTRA, H.S.; NELSON, R.; REUSCH, C.E.; SCOTT-MONCRIEFF, J.C. Diagnosis of spontaneous canine hyperadrenocorticism: 2012 ACVIM consensus statement (Small animal). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, p.1292-1304, 2013.

BEHREND, E.N.; KEMPPAINEN, R.J. Diagnosis of canine hyperadrenocorticism. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 31, p.985-1001, 2001.

BERRY, C.R.; HAWKINS, E.C., HURLEY, K.J.; MONCE, K. Frequency of pulmonary mineralization and hypoxemia in 21 dogs with pituitary dependent hyperadrenocorticism. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.14, p.151-156, 2000.

BELANGER, J.M.; BELLUMORI, T.P.; BANNASCH, D.L.; FAMULA, T.R.;BERBAUER, A.M. Correlation of neuter status and expression of heritable disorders. **Canine Genetics and Epidemiology**, v.4, (6), 2017.

CARTER, T.R.; OLIVER, J.W.; STEPIEN, R.L, et al. Elevations in sex hormones in dogs with sudden acquired retinal degeneration syndrome (SARDS), **Journal of American Animal Hospital Association**, v. 45, p. 207- 214, 2009.

CABRERA-BLATER, M.F.; DELPRADO, A. GALLELLI, M.F, et al. Blindness in dogs with pituitary dependent hyperadrenocorticism: relationship with glucose, cortisol and triglyceride concentration and with ophthalmic blood flow, **Research in veterinary science**, v.92, p.387-392, 2012.

CASTILLO, V.; GALLELLI, M.F. Corticotroph adenoma in the dog: pathogenesis and new therapeutic possibilities. **Research in veterinary science**, v.88, p.26- 32, 2010.

CASTILLO, V.; GIACOMINI, D.; PAEZ-PEREDA, M. et al. Retinoic acid as a novel medical therapy for chushing's disease in dogs. **Endocrinology**, v. 147, p. 4438-4444, 2006.

CHERVIER, C.; CADERÉ, J.L.; RODRIGUEZ-PINEIRO, M.I. et al. Causes of anaemia other than acute blood loss and their clinical significance in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v.53, p.223 – 227, 2012.

CHRISTOPOULOS, S.; BOURDEAU, I.; LACROIX, A. Clinical and Subclinical ACTH-Independent Macronodular Adrenal Hyperplasia and Aberrant Hormone Receptors. **Hormone Research**, v.64, p.119–131, 2005.

CUNNINGHAM, D.P.; MOSTAFA, A.A.; GORDAN-EVANS, W.J.; BOUDRIEAU, R.J.; GRIFFON, D.J. Factors Contributing to the Variability of a Predictive Score for Cranial Cruciate Ligament Deficiency in Labrador Retrievers. **BMC Veterinary Research** 13, 235. *PMC*. 2017.

ELIAS, L.L.K.; FERNANDES-ROSA, F.L; ANTUNES-RODRIGUES, J; CASTRO, M. Fisiologia da Glândula Adrenal. In AIRES, M.M. **Fisiologia**, 4 ed.. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

FELDMAN, E.C.; NELSON, R.W. **Canine and Feline Endocrinology and Reproduction**. 3rd ed. St. Louis, Missouri: WB Saunders; 2004.

FLESERIU, M.; CASTINETTI, F. Updates on the role of adrenal steroidogenesis inhibitors in Cushing's syndrome: a focus on novel therapies. **Pituitary**. v.19, p. 643–653, 2016.

FRACASSI, F.; CORRADINI, S., FLORIANO, D.; BOARI, A.; ASTE, G.; PIETRA, M.; BERGAMINI, P.F; DONDI, F. Prognostic factors for Survival in dogs with pituitary-dependent hypercortisolism treated with trilostane, **Veterinary Record**, v.176, p.49, 2015.

FORRESTER, S.D.; TROY, G.C.; DALTON, M.N.; HUFFMAN, J.W.; HOLTZMAN, G. Retrospective evaluation of urinary tract infection in 42 dogs with hyperadrenocorticism or diabetes mellitus or both, **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.13, p.557, 1999.

GALAC, S.; KOOISTRA, H.S.; VOORHOUT G; VAN DEN INGH, T.S.; MOL, J.A.; VAN DEN BERG, G. Hyperadrenocorticism in dog due to ectopic secretion of adrenocorticotrophic hormone. **Domestic Animal Endocrinology**, v.28, p.338-348, 2005.

GALAC, S.; KARS, V.J.; VOORHOUT, G.; MOL, J.A.; KOOISTRA, H.S. ACTH-independent hyperadrenocorticism due to food-dependent hypercortisolemia in a dog: A case report. **The Veterinary Journal**, v.177, p.141–143, 2008.

GALLELLI, M.F.; CABRERA, M.F.B.; CASTILLO, V. A comparative study by age and gender of the pituitary adenoma and ACTH and alpha-MSH secretion in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism, **Research in Veterinary Science**, v.88, p.33, 2010.

GILOR, C., GRAVES, T.K. Interpretation of laboratory test for canine Cushing's syndrome. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 26, n. 2, p. 98 – 108, 2011.

GWYNNE, J.T.; STRAUSS, J.F. The role of lipoproteins in steroidogenesis and cholesterol metabolism in steroidogenic glands. **Endocrine Reviews**, v.3, p.299-329, 1982.

HANSON, J.M.; VAN 'T HOOFD, M.M.; VOORHOUT, G.; TESKE, E.; KOOISTRA, H.S. AND MEIJ, B.P. Efficacy of transsphenoidal hypophysectomy in treatment of dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.19, p.687 - 694, 2005.

JUNQUEIRA, L.C.U.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

KAPLAN, A.J.; PETERSON, M.E.; KEMPPAINEN, R.J. Effects of disease on the results of diagnostic tests for use in detecting hyperadrenocorticism in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.207, p.445-451, 1995

KENNEDY, S.R.; LOEB, L.A.; HERR, A.J. Somatic mutations in aging, cancer and neurodegeneration. **Mechanisms of Ageing and Development**, v.133, p.118 – 126, 2012.

KEALY, K.J.; McALLISTER, H.; GRAHAM, J.P. **Radiografia e Ultrassonografia de Cão e Gato**. Elsevier: Iowa. p.165-172. 2012.

KOOL, M. M. J.; GALAC, S.; SPANDAUW, C. G., et al. Activating mutations of GNAS in K9 cortisol-secreting adrenocortical tumors. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.27, p.1486 – 1492, 2013.

KINTZER, P.P.; PETERSON, M.E. Mitotane (o, p'-DDD) treatment of dogs with cortisol-secreting adrenocortical neoplasia: 32 cases (1980-1992), **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.205, p.54, 1994.

LANG, J.M.; SCHERTEL, E.; KENNEDY, S. et al. Elective and emergency surgical management of adrenal gland tumors: 60 cases (1999–2006). **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.47, p.428–435, 2011.

LIEN, Y.H.; HSIANG, T.Y.; HUANG, H.P. Associations among systemic blood pressure, microalbuminuria and albuminuria in dogs affected with pituitary and adrenal-dependent hyperadrenocorticism. **Acta Veterinaria Scandinavica**, p.52-61, 2010.

LING, G.V.; STABENFELDT, G.H.; COMER, K.M.; GRIBBLE, D.H.; SCHECHTER, R.D.: Canine hyperadrenocorticism: pretreatment clinical and laboratory evaluation of 117 cases, **Journal of the American Veterinary Medical Association** 174:1211, 1979.

MACHADO, U.B. Introdução a Fisiologia endócrina. In AIRES, M.M. **Fisiologia** ,3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.917- 1031, 2008.

MIDZAK, A.; PAPADOPOULOS, V. Adrenal mitochondria and steroidogenesis: from individual proteins to functional protein assemblies. **Front Endocrinol** (Lausanne); v.7, p.106, 2016.

MUNTENER, T.; SCHUEPBACH-REGULA, G.; FRANK, L.; RUFENACHT, S.; WELLW, M.M.: Canine no inflammatory alopecia: a comprehensive evaluation of common and distinguishing histological characteristics. **Veterinary Dermatology**, v.23, p.206 -221, 2012.

MILLER, W.L.; AUCHUS, R.J. The molecular biology, biochemistry and physiology of human steroidogenesis and its disorders. **Endocrine Reviews**, v.32, p.81-151, 2011.

MUNTENER, T.; SCHUEPBACH-REGULA, G.; FRANK, L.; RUFENACHT, S.; WELLW, M.M.: Canine no inflammatory alopecia: a comprehensive evaluation of common and distinguishing histological characteristics. **Veterinary Dermatology**, v.23, p.206 -221, 2012

NUNES, L.L.K.; ROSA, F.F.; RODRIGUES, J.A.; CASTRO, M. Glândula Adrenal. In AIRES, M.M. **Fisiologia** ,4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.1080- 1095, 2013. 51

O'NEILL, D.G.; SCUDDER, C.; FAIRE, J.M.; CHURCH, D.B.; McGREEVY, P.D.; THOMSON, P.C.; BRODBELT, D.C. Epidemiology of hyperadrenocorticism among 210.824 dogs attending primary-care veterinary practices in the UK 2009 to 2014. **Journal of Small Animal Practice**, v. 57, p. 365–373, 2016.

PETERSON, M.E. Diagnosis of hyperadrenocorticism in dogs. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.22. P.2-11, 2007.

PACE, S.L.; CREEVY, K.E.; KRIMER, P.M.; BRAINARD, B.M. Assessment of coagulation and potential biochemical markers for hypercoagulability in canine hyperadrenocorticism. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.27, p.1113, 2013.

PLASSAIS, J.; RIMBAULT, M.; WILLIAMS, F.J.; DAVIS, B.W.; SCHOENEBECK, J.J.; OSTRANDER, E.A. Analysis of large versus small dogs reveals three genes on the canine X chromosome associated with body weight, muscling and back fat thickness. **PLoS Genet**, 13(3): e1006661, 2017.

SACKETT, D. L.; STRAUS, S.; RICHARDSON, S.; ROSENBERG, W.; HAYNES, R. B. Evidence-based medicine: how to practice and teach. EBM. 2. ed. ed. Londres: Churchill Livingstone; 2000.

SEGEV, G.; KASS, P. H.; FRANCEY, T.; COWGILL, L. D. A Novel clinical scoring system for outcome prediction in dogs with acute kidney injury managed by hemodialysis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 22, 301-308, 2008.

SEGEV, G.; AROCH, I.; SAVORAY, M.; KASS, P.H.; BRUCHIM, Y. A novel severity scoring system for dogs with heatstroke. **J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)**, 25(2):240–247, 2015.

SCHWARZ, T.; STORK, C.K.; MELLOR, D. and SULLIV, M.: Osteopenia and other radiographic signs in canine hyperadrenocorticism, **Journal of Small Animal Practice** 41:491, 2000.

SMETS, P.M.Y.; LEFEBVRE, H.P.; MEIJ, B.P.; CROUBELS, S.; MEYER, E.; VAN DE MAELE, I.; DAMINET, S. Long-term follow-up of renal function in dogs after treatment for ACTH dependent hyperadrenocorticism. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.26, p.565, 2012.

SONNENSCHTEIN, C.; SOTO, A. Environmental causes of cancer: endocrine disruptors as carcinogens. **Nature Reviews Endocrinology**, v.6, p.363-370, 2010.

SOULSBY, S.N.; HOLLAND, M.; HUDSON, J.A.; BEHREND, E.M.: Ultrasonography evaluation of adrenal gland size compared to body weight in normal dogs. **Veterinary Radiology and Ultrasonography**, v.56, p.317-326, 2015.

SONNENSCHTEIN, C.; SOTO, A. Environmental causes of cancer: endocrine disruptors as carcinogens. **Nat Rev Endocrinol**, v.6, p.363-370, 2010.

TESHIMA, T.; HARA, Y.; TAKEKOSHI, S., et al. Expression of genes related to corticotropin production and glucocorticoid feedback in corticotroph adenomas of dogs with Cushing's disease. **Domestic Animal Endocrinology**, v.36, p.3 – 12, 2009.

KOOL, M.M.J.; GALAC, S.; SPANDAUW, C. G., et al. Activating mutations of GNAS in K9 cortisol-secreting adrenocortical tumors. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.27, p.1486 – 1492, 2013.

VAN WIJK, P. A.; RIJNBERK, A.; CROUGHS, R. J. M., et al. Molecular screening for somatic mutations in corticotrophic adenomas of dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. **Journal of Endocrinological Investigation**, v.20, p.1 – 7, 2014.

WANG, Y.; BRÛLÉ, E.; SILANDER, T.; BAK, B.; JOUSTRA, S.D., et al. The short mRNA isoform of the immunoglobulin superfamily, member 1 gene encodes an intracellular glycoprotein. **PLOS ONE** 12(7): e0180731, 2017.

PLASSAIS, J.; RIMBAULT, M., WILLIAMS FJ, DAVIS BW, SCHOENEBECK JJ, OSTRANDER EA. Analysis of large versus small dogs reveals three genes on the canine X chromosome associated with body weight, muscling and back fat thickness. **PLoS Genet** 13(3): e1006661, 2017.

MAKIELSKI, K.M.; BROOKS, M.B.; WANG, C.; CULLEN, J.N.; O'CONNOR, A.M.; LEVINE, D.N. Development and implementation of a novel immune thrombocytopenia bleeding score for dogs. **J Vet Intern Med**, 32(3), p.1041-1050, 2018.

MIDZAK, A.; PAPADOPOULOS, V. Adrenal Mitochondria and Steroidogenesis: From Individual Proteins to Functional Protein Assemblies. **Front. Endocrinol.** v.7, p.106, 2016.
KENNEDY, S. R.; LOEB, L. A.; HERR, A.J. Somatic mutations in aging, cancer and neurodegeneration. **Mechanisms of Ageing and Development**, v.133, p118 – 126, 2012.

NUTTALL, T.; BENSIGNOR, E. A pilot study to develop an objective clinical score for canine otitis externa. **Vet Dermatol.** 25(6):530-7, e91-2. 2014.

SNYDER, J.M.; MEISNER, A.; MACK, D.; et al. Validity of a Neurological Scoring System for Canine X-Linked Myotubular Myopathy. **Human Gene Therapy Clinical Development.** 26(2):131-137, 2015.

SWINNEY, G.R.; FOSTER, S.F.; CHURCH, D.B.; MALIK, R. Myotonia associated with hyperadrenocorticism in two dogs. **Australian Veterinary Journal**, v.76, p.722–724, 1998.

STOCCO, D.M.; CLARCK, B.J.: Regulation of the acute production of steroids in steroidogenic cells. **Endocrine Reviews**, v.17, p. 221-44, 1996

TESHIMA, T.; HARA, Y.; TAKEKOSHI, S., et al. Expression of genes related to corticotropin production and glucocorticoid feedback in corticotroph adenomas of dogs with Cushing's disease. **Domestic Animal Endocrinology**, v.36, p.3 – 12, 2009.

THEON, A.P.; FELDMAN, E.C.: Megavoltage irradiation of pituitary macrotumors in dogs with neurologic signs, **Journal of the American Veterinary Medicine Association** 213:225, 1998

VAN, W.; RIJNBERK, A.; CROUGHS, R.J.M., et al. Molecular screening for somatic mutations in corticotropic adenomas of dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. **Journal of Endocrinological Investigation**, v.20, p.1 – 7, 2014.

WANGY.; BRÛLÉ, E; SILANDER, T.; BAK, B.; JOUSTRA, S.D., et al. The short mRNA isoform of the immunoglobulin superfamily, member 1 gene encodes an intracellular glycoprotein. **PLOS ONE**, v.12 (7), 2017.

WIEDMEYER, C.E.; SOLTER, P.F.; HOFFMANN., W.E. Kinetics of mRNA expression of alkaline phosphatase isoenzymes in hepatic tissues from glucocorticoid treated dogs, **American Journal of Veterinary Research**, v.63, p.1089, 2002.

WOOTEN, K.J.; SMITH, P.N. Canine toys and training devices as sources of exposure to phthalates and bisphenol A: Quantitation of chemicals in leachate and in vitro screening for endocrine activity. **Chemosphere**, 2013.

XENOULIS, P.G; STEINER, J. M. Lipid metabolism and hyperlipidemia in dogs. **The Veterinary Journal**, v.183, p. 12-21, 2010.

ZEUGSWETTER, F.; BYDZOVSKY, N.; KAMPNER, D.; SCHWENDENWEIN, I.: Tailored reference limits for urine corticoid: creatinine ratio in dogs to answer distinct clinical questions. **The Veterinary Record**, v.167, p. 997, 2010.