

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**LACTATO SÉRICO E ATIVIDADE DA ENZIMA LACTATO DESIDROGENASE
EM CÃES COM SÍNDROME DE CUSHING: REVISÃO SOBRE POSSÍVEIS
APLICAÇÕES CLÍNICAS**

Autor: Vitória Strzeleski Wodzik

PORTO ALEGRE

2019/1

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**LACTATO SÉRICO E ATIVIDADE DA ENZIMA LACTATO DESIDROGENASE
EM CÃES COM SÍNDROME DE CUSHING: REVISÃO SOBRE POSSÍVEIS
APLICAÇÕES CLÍNICAS**

Autor: Vitória Strzeleski Wodzik

Trabalho apresentado à Faculdade de Veterinária como requisito parcial para a obtenção da graduação em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Alan Gomes Pöpl

PORTO ALEGRE

2019/1

AGRADECIMENTOS

Ao fim dessa etapa agradeço primeiramente, imensamente, indispensavelmente aos meus pais Iraci e Silvano, sem os quais nada disso seria possível, serei eternamente grata por todo apoio incondicional, compreensão, dedicação e incentivo. Obrigada por serem meu exemplo de determinação, obrigada por tornarem meu sonho o sonho de vocês também, e por tornarem possível a concretização dele.

Agradeço também aos meus filhos Otávio Augusto e Geromel, por me ensinarem todos os dias o que é amor incondicional. Ao Geromel, meu companheirinho que passou mais da metade da confecção desse trabalho em meu colo, e ao Otávio, meu melhor amigo, meu eterno companheiro que esteve comigo em absolutamente todos os momentos da minha graduação. Agradeço também aos meus anjinhos Fredy e Alfred, para sempre amarei vocês.

Agradeço à minhas amigas que fiz na graduação e que comigo dividiram todos os momentos, bons e não tão bons assim, vividos nessa faculdade. Com vocês tudo ficou um pouco mais fácil.

Aos bons professores que tive ao longo da graduação, inclusive ao meu orientador professor Alan Pöppel, que não me ensinaram apenas técnica, mas também me mostraram o tipo de profissional que almejo ser.

RESUMO

A síndrome de Cushing (SC), caracterizada por hipercortisolismo, é uma das mais importantes endocrinopatias em cães e sua prevalência tem aumentado com o aumento da expectativa de vida de pequenos animais. A SC é definida como um conjunto de sinais clínicos decorrentes de uma exposição excessiva à efeitos de glicocorticoides. Uma das causas de hiperlactatemia tipo B2 em cães é a administração de glicocorticoides exógenos. O aumento da produção de lactato está associado ao cortisol devido a alteração do metabolismo dos carboidratos e à potencialização das ações das catecolaminas via estimulação adrenérgica causada pelo glicocorticoide. Além disso existem relatos na medicina humana de que o hipercortisolismo espontâneo observado na SC também causa hiperlactatemia e o aumento da atividade da enzima lactato desidrogenase (LDH), que converte o piruvato a lactato. Assim sendo, é provável que o hipercortisolismo endógeno tenha a mesma ação que os glicocorticoides exógenos em cães com Cushing, podendo estes apresentarem aumento na concentração sérica de lactato e da atividade sérica da LDH. Entretanto, não há estudos correlacionando lactatemia e atividade desta enzima em cães com hipercortisolismo espontâneo. O uso da mensuração sérica de lactato na rotina clínica de pequenos animais tem aumentado após a difusão de lactímetros portáteis nas rotinas clínicas e tem sido empregada como ferramenta diagnóstica, prognóstica e como biomarcador da gravidade de diversas doenças. Pacientes com SC também poderiam se beneficiar da mensuração de lactato como mais um parâmetro de controle da progressão da doença, eficácia do tratamento, e eventualmente prognóstico. O objetivo desta revisão foi de apresentar as bases fisiológicas para essas alterações para um futuro projeto de pesquisa.

Palavras-chave: Hipercortisolismo. Canino. Lactatemia. Hiperlactatemia. Glicocorticoide.

ABSTRACT

Cushing's syndrome (SC), characterized by hypercortisolism, is one of the main endocrinopathies in dogs and its prevalence has increased with the life expectancy of small animals. Cushing's syndrome is defined as a set of clinical signs resulting from excessive exposure to the effects of glucocorticoids. One of the causes of type B2 hyperlactatemia in dogs is the administration of exogenous glucocorticoids. Increased lactate production is associated with cortisol due to altered carbohydrate metabolism and potentiation of catecholamine actions through adrenergic stimulation caused by glucocorticoid. In addition, there are reports in human medicine that spontaneous hypercortisolism due to hyperadrenocorticism also causes hyperlactatemia and an increase in the activity of the enzyme lactate dehydrogenase, which converts pyruvate to lactate. Therefore, endogenous hypercortisolism is likely to have the same action as exogenous glucocorticoids in dogs with Cushing, which may present an increase in serum lactate concentration and serum LDH activity. However, there are no studies correlating lactatemia and activity of this enzyme in dogs with spontaneous hypercortisolism. The use of serum lactate measurement in clinical routine of small animals has increased after the diffusion of portable lactometers in the clinical routines. Lactimetry has been used as a diagnostic, prognostic and biomarker tool for the severity of various diseases. Patients with Cushing's Syndrome could also benefit from lactate measurement as a further parameter of disease progression control, treatment efficacy, and eventually prognosis. The objective of this review was to present the physiological bases for these alterations for a future research project.

Keywords: Hypercortisolism. Canine. Lactatemia. Hyperlactatemia. Glucocorticoid.

LISTA DE ABREVIATURAS

- 17-OHS - 17-hidroxicorticoesteroides
- Acetil-CoA - Acetil coenzima A
- ACTH - Hormônio Adrenocorticotrófico
- ADH - Hormônio antidiurético
- ALT - Alanina aminotransferase
- AMPc - Adenosina Monofosfato cíclico
- ATP - Adenosina trifosfato
- CRH - Hormônio Liberador de Corticotrofina
- DM – Diabetes melito
- FA – Fosfatase Alcalina
- FC – Frequência Cardíaca
- FR- Frequência Respiratória
- HAC – Hiperadrenocorticismo
- HAD - Hiper cortisolismo Adrenal dependente
- HPD - Hiper cortisolismo Pituitário dependente
- LDH - Lactato Desidrogenase
- LHS- Lipase hormônio sensível
- LLP- Lipase lipoproteica
- MCT- Transportadores de monocarboxilato
- Mmol/L – Milimol por litro
- NADH - Dinucleótido de nicotinamida e adenina (reduzido)
- NAD⁺ - Dinucleótido de nicotinamida e adenina (oxidado)
- PFK – Fosfofrutoquinase
- PDH- Complexo piruvato desidrogenase
- PNMT - Feniletanolamina N-metiltransferase
- SBDD – Teste de supressão com baixa dose de dexametasona
- SC – Síndrome de Cushing
- RCCU – Razão cortisol:creatinina urinária

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
2.1	Cortisol	9
2.1.1	O eixo hipotálamo-hipófise-córtex-adrenal.....	9
2.1.2	Síntese do cortisol.....	10
2.1.3	Ação do cortisol.....	11
2.2	Síndrome de Cushing	13
2.3	Lactato	18
2.3.1	Síntese, metabolismo e excreção do lactato	18
2.3.2	Hiperlactatemia.....	22
2.4	Hiperlactatemia Induzida por Glicocorticoides	24
2.4.1	Alteração do metabolismo dos carboidratos.....	26
2.4.2	Potencialização das catecolaminas.....	27
3	CONCLUSÃO	29
	REFERÊNCIAS	30

1 INTRODUÇÃO

O aumento da expectativa de vida de pequenos animais devido aos avanços terapêuticos e diagnósticos na medicina veterinária acarretou um aumento na incidência de endocrinopatias diagnosticadas na rotina clínica (HERRTAGE; RAMSEY, 2012). Uma das principais endocrinopatias diagnosticadas em cães atualmente é a síndrome de Cushing (SC), também denominada como hipercortisolismo, ou hiperadrenocorticismo (HAC). A SC é definida como o conjunto de sinais clínicos resultantes de maior exposição crônica aos efeitos de glicocorticoides. Na SC de ocorrência natural (espontânea), o excesso de cortisol secretado estabelece um hipercortisolismo em decorrência da ativação de receptores para glicocorticoides em todo organismo, provocando a constelação de sintomas e alterações clínicas e laboratoriais que caracterizam a síndrome (RIJNBERK; KOOISTRA, 2010).

Segundo Herrtage e Ramsey (2012) a SC pode ser espontânea ou iatrogênica. Nos casos de ocorrência natural a doença pode ser pituitária-dependente (HPD), também chamada de ACTH-dependente devido a ser o resultado de uma secreção inapropriada de ACTH (hormônio adrenocorticotrófico) pela hipófise, o que representa a maioria dos casos (cerca de 80%). O restante dos casos pode estar relacionado a uma alteração primária na glândula adrenal (hipercortisolismo adrenal-dependente -HAD), também reconhecida como ACTH-independente. A SC em cães tem um curso lento, insidioso e progressivo que pode durar de meses a anos, os sinais clínicos precoces muitas vezes podem passar despercebidos pelos tutores que podem atribuí-los à senescência do animal (HERRTAGE, 2011). Independente da origem da patologia os sinais clínicos de todas as formas do HAC são similares e refletem os efeitos imunossupressores, gliconeogênicos, catabólicos e lipolíticos do excesso de cortisol (HERRTAGE; RAMSEY, 2012). Segundo Gillespie, Rosenstein Hughes (2017) o uso de glicocorticoides exógenos causa um aumento nos níveis séricos de lactato, causando uma hiperlactatemia tipo B2.

O lactato é um metabólito intermediário formado a partir da glicólise anaeróbica e representa uma importante fonte de energia alternativa em casos de hipóxia ou hipoperfusão tecidual, mitigando uma possível acidose. A mensuração do lactato sérico é amplamente utilizada como ferramenta diagnóstica e prognóstica, correlacionada com a severidade da doença e o risco de mortalidade. Na medicina intensiva em humanos, o lactato sérico é usado como biomarcador e parâmetro terapêutico. Estudos recentes revisados vêm evidenciando sua utilidade clínica na medicina veterinária (GILLESPIE; ROSENSTEIN; HUGHES, 2017).

Este trabalho tem como objetivo realizar uma revisão bibliográfica sobre o tema para avaliação da base fisiológica para avaliação da lactatemia também na rotina de pacientes com Cushing como parte inicial de um futuro projeto de pesquisa.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A seguir será apresentada uma breve revisão bibliográfica sobre assuntos pertinentes ao trabalho, o cortisol, o hiperadrenocorticismo e o metabolismo do lactato.

2.1 O Cortisol

O cortisol é um hormônio esteroide sintetizado na zona fasciculada do córtex da glândula adrenal. Glicocorticoide é o nome atribuído a outros hormônios com ações semelhantes devido à sua capacidade de ligar e ativar o receptor glicocorticoide, o qual, quando ativado, promove efeitos metabólicos hiperglicemiantes. Os corticoides são conhecidos como esteroides C21 devido à hidroxilação na posição C-21 (EILER, 2006).

2.1.1 O eixo hipotálamo-hipófise-córtex adrenal

A síntese e liberação de glicocorticoide pela glândula adrenal é quase que inteiramente regulada pelo hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), secretado pela adeno-hipófise, que é controlada pelo hormônio liberador de corticotrofina (CRH) secretado pelo hipotálamo (HERRTAGE; RAMSEY, 2012). A liberação do CRH estimula a adeno-hipófise a liberar o ACTH, o qual age em duas zonas do córtex da adrenal: zona fasciculada e zona reticular. Uma vez estimulado, o córtex da adrenal responde morfológicamente através de uma hipertrofia das células das duas zonas, e funcionalmente com um aumento da produção de glicocorticoides.

Existe um sistema de retroalimentação negativa do eixo, onde os glicocorticoides inibem a liberação do hormônio liberador de corticotrofina pelo hipotálamo, o que resulta em uma redução da secreção de ACTH pela hipófise. Evidências indicam que a potência da retroalimentação exercida por diferentes moléculas com ação glicocorticoide é diretamente proporcional a sua potência. Por exemplo, o cortisol, principal e mais potente glicocorticoide produzido no córtex adrenal é o principal responsável pela retroalimentação negativa do eixo. (GRECO; STABENFELDT, 2014).

Conforme Greco e Stabenfeldt (2014) a concentração do hormônio não é uniforme ao longo do dia. Em humanos, por exemplo, os padrões de sono e atividade se sobrepõe ao sistema de retroalimentação, ocorre um ciclo circadiano previsível, em que as concentrações de glicocorticoides são menores no final da tarde e maiores no início da manhã. No entanto em cães, esse ritmo circadiano não é observado. Diferentes estressores ambientais (medo,

ansiedade), fisiológicos (hipotermia, desidratação) ou patológicos (infecções, sepse) também afetam o controle do eixo, desencadeando uma resposta imediata do organismo, um aumento na secreção de cortisol.

2.1.2 Síntese do cortisol

Segundo Greco e Stabenfeldt (2014) o córtex adrenal produz dois principais tipos de hormônios esteroides (corticosteroides): os mineralocorticoides e os glicocorticoides. Os mineralocorticoides são produzidos pela zona glomerular do córtex e têm um importante papel na regulação do equilíbrio hidroeletrolítico. Já os glicocorticoides são produzidos majoritariamente na zona fascicular e em menor parte pela zona reticular, sendo o cortisol o principal glicocorticoide produzido.

O principal precursor para a síntese dos hormônios esteroides é o colesterol, que é derivado do alimento e da síntese endógena via acetato e armazenado em forma de éster, em gotículas nas células do córtex. A captação do colesterol a partir das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) após interação com receptores de LDL presentes na glândula aumenta quando a adrenal é estimulada pelo ACTH. A primeira etapa da esteroidogênese ocorre na mitocôndria e é caracterizada pela clivagem de uma cadeia lateral de carbono da molécula esteroide, produzindo um esteroide C-21, chamado de pregnenolona. Todos os hormônios esteroides são produzidos a partir da pregnenolona, a hidroxilação na posição C-21 é o que diferencia os corticoides adrenais da família dos esteroides da progesterona (GRECO; STABENFELDT, 2014). Apesar disso, a progesterona pode ser secretada a partir do córtex adrenal em pequenas concentrações, e servir como precursor na esteroidogênese. A diferença entre os hormônios adrenocorticais produzidos em cada zona se dá por dois sistemas enzimáticos esteroidogênicos diferentes. As zonas reticular e fasciculada tem presente o citocromo P450 17α (17-hidroxilase), que promove a hidroxilação em C-17 da pregnenolona, produzindo C-17 pregnenolona e 17 α -hidroxi-progesterona, esta última a precursora do cortisol (OLIVEIRA, 2004).

As células esteroidogênicas não armazenam os hormônios, estes são secretados imediatamente após sintetizados (RIJINBERK; KOOISTRA, 2010). A maior parte do cortisol é transportado no plasma ligado a proteínas, 75% do cortisol é transportado ligado à transcortina, uma globulina ligante de corticoides, 15% é ligado à albumina e 10% no estado não ligado ou livre (GRECO; STABENFELDT, 2014).

2.1.3 Ação do cortisol

Segundo Herrtage e Ramsey (2012) o cortisol é o hormônio com mais efeitos distintos no organismo, ele desempenha uma função fundamental de resposta do organismo a condições de estresse, infecção e inflamação. Em períodos de estresse, as concentrações de cortisol e ACTH se mantêm elevadas porque o estresse inibe o mecanismo de feedback negativo. Da mesma forma, quadros inflamatórios ativam o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal devido as citocinas produzidas, principalmente a interleucina 1, que estimulam a liberação de CRH pelo hipotálamo. Em resposta a essas condições de estresse, a ação do cortisol é proteger o organismo de uma possível hipoglicemia através da produção de glicose a partir de outras fontes que não carboidratos (gliconeogênese), além de promover uma retroalimentação negativa sobre o sistema imune, prevenindo que os processos inflamatórios sejam demasiado severos contra o organismo.

O cortisol estimula a gliconeogênese hepática através da síntese de RNAm que sintetiza enzimas importantes para o processo, como piruvato carboxiquinase, frutose 1,6-difosfatase e frutose-6-fosfatase (RIJINBERK; KOOISTRA, 2010), resultando em um aumento na síntese de glicogênio e em uma maior produção hepática de glicose (GRECO; STABENFELDT, 2014), já que conforme Crump e Martin (2003) os glicocorticoides também estimulam a glicogenólise no fígado através da ativação da enzima glicogênio fosforilase. O cortisol contribui também para a manutenção da glicemia por aumentar a disponibilidade de glucagon e epinefrina permitindo assim suas ações gliconeogênicas e glicogenolíticas. Além disso, de acordo com Eiler (2006) o cortisol apresenta um efeito anti-insulínico, inibindo a absorção de glicose, e seu metabolismo nos tecidos periféricos, principalmente no tecido muscular e adiposo (GRECO; STABENFELDT, 2014). Em contrapartida, a captação de glicose pelo sistema nervoso é favorecida já que este não depende da insulina para captação de glicose.

A ação proeminente do cortisol consiste em regular o metabolismo de carboidratos e estimular a deposição de glicogênio, promovendo uma maior disponibilidade de glicose para o coração, sistema nervoso e músculos esqueléticos, entretanto os glicocorticoides interferem também no metabolismo de proteínas, lipídios e minerais (EILER, 2006). No entanto, a maior parte dos efeitos do cortisol só se tornam evidentes frente a sua deficiência, ou excesso. No tecido adiposo o cortisol tem um efeito lipolítico e provoca uma redistribuição dos depósitos de gordura corporal. O catabolismo da gordura é estimulado para fornecer ácidos graxos para a gliconeogênese no fígado. No tecido adiposo periférico o cortisol reduz a atividade da lipase lipoproteica (LLP) e estimula a atividade da lipase hormônio sensível (LHS), aumentando assim

a hidrólise dos triglicerídeos. Em contrapartida no tecido adiposo visceral o cortisol estimula a gliconeogênese, favorecendo assim o acúmulo de gordura abdominal (MICELI *et al.*, 2012).

O catabolismo proteico também é acentuado a fim de disponibilizar aminoácidos para a gliconeogênese (HERRTAGE; RAMSEY, 2012). Essa mobilização e incorporação de aminoácidos em glicogênio aumenta a excreção de nitrogênio pela urina e leva a um equilíbrio negativo de nitrogênio. Simultaneamente os glicocorticoides inibem a síntese proteica através da inibição da captação de aminoácidos nas células, aumentando seus níveis circulantes, e aumentam a proteólise em todos os tecidos exceto no fígado, onde a captação de aminoácidos é aumentada para a síntese proteica de enzimas gliconeogênicas (CRUMP; MARTIN, 2003). De acordo com Greco e Stabenfeldt (2014) os tecidos cardíaco e cerebral são poupados dos efeitos catabólicos dos glicocorticoides.

O cortisol aumenta a taxa de filtração glomerular no rim e inibe a atividade da vasopressina no túbulo distal, aumentando o volume de água excretado pela urina, causando assim poliúria e polidipsia (GRECO; STABENFELDT, 2014). A vasopressina é um dos fatores hipotalâmicos capazes de induzir a secreção do ACTH, logo a retroalimentação negativa do cortisol sobre a vasopressina é outra demonstração da complexidade do sistema. Além disso, ainda que de maneira menos eficiente que os mineralocorticoides (principalmente a aldosterona) o cortisol induz a retenção de sódio e a excreção de potássio. O cortisol também reduz a absorção de cálcio no intestino e aumenta sua excreção renal (EILER, 2006), porém quando em excesso, estimula resorção óssea e mineralizações distróficas.

Os glicocorticoides são também agentes imunossupressores que atuam de modos não específico sobre os linfócitos induzindo linfocitólise. O cortisol induz um aumento do número de neutrófilos, células vermelhas e plaquetas circulantes. Além desses efeitos, promovem sequestro medular de eosinófilos. Os glicocorticoides têm efeitos anti-inflamatórios devido ao bloqueio da liberação das enzimas pró inflamatórias, bloqueio do metabolismo do ácido araquidônico, inibição da formação de leucotrienos, prostaglandinas, prostaciclina e tromboxano, e inibição da migração de leucócitos para o local da inflamação. Além de apresentar efeito supressor sobre as respostas de hipersensibilidade tardia, alterar a capacidade dos macrófagos de absorver e processar antígenos e impedir a liberação de histamina (EILER, 2006).

2.2 Síndrome de Cushing

Conforme Rijnberk e Kooistra (2010) o cortisol secretado em excesso é essencialmente um hipercortisolismo. Atualmente, o conceito é de que o quadro clínico de hipercortisolismo é causado por uma exposição excessiva aos efeitos dos glicocorticoides, uma vez que em muitos casos na verdade as concentrações de cortisol estão dentro do intervalo de referência. A exposição prolongada a altas concentrações de cortisol livre leva a sintomas e sinais conhecidos como Síndrome de Cushing, ou hiperadrenocorticismo. A tendência atual também é que o termo hiperadrenocorticismo caia em desuso, uma vez que caracterizaria um excesso de função de toda adrenal, e na verdade o que ocorre é uma hiperfunção da zona fasciculada basicamente. O hipercortisolismo pode ser espontâneo ou iatrogênico (causado por uma administração excessiva de glicocorticoides exógenos). A forma espontânea da doença pode ter uma origem na hipófise, sendo classificada como hipercortisolismo pituitário dependente (HPD) ou pode ser oriunda de uma disfunção no córtex da glândula adrenal, definida como hipercortisolismo adrenal-dependente (HAD).

Em cães, o HPD é a forma mais comum, representando de 80-85% dos casos de SC espontânea. Aproximadamente 85% dos cães com HPD apresentam um tumor hipofisário produtor de ACTH, adenomas situados na *pars distalis* são os mais comuns, e uma menor proporção é encontrada na *pars intermedia*. Um número menor de cães é diagnosticado com carcinoma hipofisário. De acordo com Chastain (2008) em geral a taxa de crescimento dos tumores hipofisários é lenta. A grande maioria dos cães com HPD apresentam tumores pituitários de até 10 mm de diâmetro, chamados de microadenomas hipofisários. E aproximadamente 20% dos tumores hipofisários são macroadenomas, que excedem 10 mm de diâmetro (macroadenomas), e têm o potencial de comprimir ou invadir estruturas adjacentes ao expandir dorsalmente no hipotálamo e tálamo e podem causar sinais neurológicos associados. Cerca de metade dos pacientes com macroadenomas hipofisários apresentam algum sinal neurológico (CHASTAIN, 2008; NELSON, 2009). É importante salientar, que de acordo com o tamanho do cão, mesmo um tumor com menos de 10 mm de diâmetro pode eventualmente se expandir para fora dos limites da cela túrcica e causar compressão de neurohipófise e/ou estruturas encefálicas. A secreção excessiva de ACTH causa hiperplasia adrenocortical bilateral e um aumento da secreção de cortisol pelo córtex. Devido a uma falha no mecanismo de retroalimentação negativa do cortisol no ACTH a secreção de ACTH continua independente dos níveis de cortisol secretados pelo córtex adrenal.

De acordo com Nelson (2009) o HAD, forma menos comum da SC espontânea, representa de 15-20% dos casos e são resultado de tumores adrenocorticais. Os tumores adrenais são quase em sua totalidade unilaterais, apesar de existirem relatos de tumores adrenais bilaterais, estes são de ocorrência rara, e muitas vezes são o resultado de uma estimulação excessiva pela hipófise, representando uma evolução final da hiperplasia bilateral em casos de HPD. Os tumores adrenocorticais podem ser secretores, ou não secretores, adenomas ou carcinomas. A diferenciação histológica entre os adenomas e carcinomas é um pouco difícil, mas os adenomas geralmente são pequenos e bem delimitados e podem se apresentar parcialmente calcificados. Já os carcinomas adrenocorticais tendem a ser grandes, hemorrágicos, necróticos e localmente invasivos, principalmente os localizados na adrenal direita, os quais podem invadir a veia cava caudal e a veia frenicoabdominal e originarem metástases no fígado, pulmão, rins ou linfonodos regionais. Em cães as frequências de ocorrências de adenomas e carcinomas são praticamente iguais, e a frequência de calcificação de ambos ocorre em cerca de 50% dos casos. Tumores adrenocorticais causadores de hipercortisolismo são autônomos e funcionais, e secretam cortisol, e eventualmente outros hormônios esteroides e seus precursores independente do controle hipofisário. O cortisol secretado por esses tumores suprime a secreção de ACTH na hipófise causando uma atrofia da glândula adrenal contralateral ao tumor. Essa atrofia gera uma assimetria no tamanho das glândulas que pode ser identificada através de uma ultrassonografia abdominal (NELSON, 2009).

A SC acomete tipicamente cães com mais de 6 anos, com idade média de 10 anos, mas já foram relatados casos em cães com um ano de idade. Apesar de não existir uma predisposição sexual relatada, tumores adrenocorticais se desenvolvem mais comumente em fêmeas (NELSON, 2009). De acordo com Herrtage e Ramsey (2012) todas as raças são susceptíveis ao desenvolvimento da SC, entretanto raças pequenas como Poodle, Dachshund e pequenos Terriers parecem ter uma predisposição maior para o hipercortisolismo pituitário dependente, enquanto tumores adrenocorticais são mais comuns em raças grandes. Cerca de 50% dos cães com HAD pesam mais que 20 kg e 75% dos pacientes diagnosticados com HPD pesam menos do que 20 kg. Além disso, a castração tem sido documentada como um importante fator de risco para o desenvolvimento da doença (BOCK, 2018).

Os cães acometidos pela Síndrome de Cushing desenvolvem uma combinação de sinais clínicos associados ao aumento dos efeitos dos glicocorticoides e a uma exposição crônica a estes. A doença tem um início insidioso e uma progressão lenta, que pode durar de meses a anos, fazendo com que muitas vezes os sinais não sejam percebidos pelos tutores, que associam

os sintomas ao envelhecimento do animal. Os sinais clínicos podem ser intermitentes ou contínuos e progressivos (HERRTAGE; RAMSEY, 2012). Os sinais mais comuns são poliúria e polidipsia, observadas em até 90% dos pacientes com SC. A polidipsia é definida por uma ingestão de água que excede 100mL/kg/dia e a poliúria é uma produção de urina superior a 50mL/kg/dia (CHASTAIN, 2008). Segundo Herrtage e Ramsey (2012) a poliúria pode ser decorrente do aumento da taxa de filtração glomerular e da inibição da liberação e do hormônio antidiurético (ADH) causadas pelo cortisol. A polidipsia é decorrente da poliúria. Polifagia também é um dos sinais mais comuns em cães com HAC, supõe-se que seja um efeito direto dos glicocorticoides no centro da fome no sistema nervoso central.

Uma manifestação clássica da doença é o abdômen pendular. Resultado do efeito do cortisol na redistribuição de gordura para o abdômen, da hepatomegalia (devido ao acúmulo de gorduras e carboidratos no fígado) e do enfraquecimento dos músculos abdominais (HERRTAGE; RAMSEY, 2012). A fraqueza muscular é um sinal presente decorrente do catabolismo proteico estimulado pelos glicocorticoides, a intolerância ao exercício e dificuldade de subir escadas ou pular também são sinais do hipercortisolismo resultantes do maior catabolismo proteico muscular (RIJINBERK; KOOISTRA, 2010).

O hipercortisolismo causa alterações cutâneas características, como pele fina, frágil e inelástica, devido a atrofia dos tecidos conectivos dérmicos, especialmente na região ventral do abdome. A descamação excessiva da superfície cutânea também é observada, assim como maior predisposição a infecções dérmicas oportunistas e comedões, causados por hiperqueratose folicular. Em decorrência das alterações no metabolismo ósseo causadas pelos glicocorticoides pode ocorrer uma deposição de cálcio na pele, causando calcinose cutânea, que afeta até cerca de 25% dos cães com HAC (CHASTAIN, 2008). Contudo, na prática esta alteração acaba sendo muito menos observada. Dependendo da duração da exposição ao excesso de efeitos dos glicocorticoides podem ser observadas a queda de pelos, a falha na repilação, afinamento da pelagem e até a alopecia bilateral simétrica, em razão do efeito inibidor do cortisol na fase anágena do ciclo piloso. O catabolismo proteico provoca uma atrofia do colágeno cutâneo, que somada a imunossupressão causada pelo glicocorticoide aumenta a suscetibilidade e lesões e infecções cutâneas (RIJINBERK; KOOISTRA, 2010).

De acordo com Chastain (2008) cerca de 30% das cadelas inteirqs com SC apresentam anestro persistente e testículos atrofiados no caso dos machos. Isso ocorre devido ao efeito de retroalimentação negativa do cortisol no eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, que suprime também a secreção dos hormônios gonadotróficos (HERRTAGE; RAMSEY, 2012).

A intolerância ao calor pode ser observada em alguns cães com SC, podendo levar a um desconforto respiratório e ofegação contínua ou intermitente em repouso. Além disso, a insuficiência cardíaca congestiva e o prejuízo aos movimentos diafragmáticos, causado pela hepatomegalia e obesidade, também são causas comuns do desconforto respiratório, a respiração ofegante é o sinal respiratório mais perceptível (CHASTAIN, 2008). Excesso de glicocorticoides, exógenos ou endógenos, causam um aumento da pressão sanguínea, os valores mais altos são observados em cães com hipercortisolismo severo, segundo Herrtage e Ramsey (2012) a hipertensão sistêmica é observada em mais da metade dos cães com HAC não tratado, e de acordo com Soares *et al.* (2016) não melhora frente ao tratamento com trilostano. Os glicocorticoides estão relacionados com a hipertensão devido a suas atividades mineralocorticoide intrínseca: secreção excessiva de renina, ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona, aumento da atividade inotrópica e exacerbação da sensibilidade vascular a vasopressores endógenos (catecolaminas) (HERRTAGE; RAMSEY, 2012; BENEDITO; ROSSI; CAMARGO, 2017).

De acordo com Rijnberk e Kooistra (2010) infecções no trato urinário são comuns em cães com hipercortisolismo, embora os sintomas sejam raros ela pode ser detectada pela cultura bacteriana da urina. Apesar disso, tem se demonstrado menor frequência deste achado atualmente frente a detecção cada vez mais precoce da doença (PÖPPL *et al.*, 2019).

Segundo Herrtage e Ramsey (2012) o achado hematológico mais compatível com hiperadrenocorticismos é o leucograma de estresse, com linfopenia, eosinopenia, neutrofilia e monocitose discreta a moderada. Embora, em geral a contagem de hemácias é normal, ocasionalmente pode se observar uma eritrocitose discreta e um aumento das plaquetas, acredita-se que esses achados sejam decorrentes da estimulação dos glicocorticoides na medula óssea.

Dentre os achados bioquímicos constata-se um aumento da atividade de fosfatase alcalina (FA) em mais de 90% dos cães com HAC. O aumento da atividade dessa enzima ocorre porque, em cães, os glicocorticoides induzem a síntese de uma isoenzima hepática específica de fosfatase alcalina. O aumento de FA é comumente de 5 a 40 vezes superior ao normal. A Síndrome de Cushing também pode provocar um discreto aumento da atividade de alanina aminotransferase (ALT), acredita-se que o aumento seja secundário à lesão hepática causada pelo acúmulo de glicogênio nos hepatócitos. A glicemia em geral também se encontra no limite superior do intervalo de referência, aproximadamente 5-15% dos cães com hipercortisolismo podem desenvolver diabetes melito, a hiperglicemia ocorre pelo antagonismo a ação da insulina causada pelos efeitos gliconeogênicos dos glicocorticoides. Segundo Pöppel *et al.* (2016) a

prevalência de cães com DM secundária à Síndrome de Cushing no sul do Brasil é de 16,6%, três vezes maior que a prevalência de 5% estimada em outros países.

A concentração sanguínea de ureia em geral é normal ou diminuída, devido ao aumento da perda urinária, associada a poliúria estimulada pelo glicocorticoide. A concentração sérica de creatinina também tende a se encontrar no limite inferior do intervalo de referência, mesmo em cães mais velhos. Os glicocorticoides estimulam a lipólise, e normalmente a resistência insulínica gerada promove dislipidemias com aumento nas concentrações de colesterol e triglicerídeos em cães com HAC (HERRTAGE; RAMSEY, 2012). Segundo estudo realizado por Martins (2018) a hiperlipidemia é observada em cerca de 60% dos cães com Síndrome de Cushing e conforme Ramsey e Ristic (2007) 90% dos cães com HAC apresentam hipercolesterolemia. Acredita-se que esse fato se deva à estimulação da lipólise pelo glicocorticoide e ao efeito da resistência insulínica, com menor atividade da LLP e maior ativação da LHS (MARTINS, 2018).

Na urinálise, o achado mais frequente é a baixa densidade urinária (densidade < 1,015). Proteinúria também é observada em até 45% dos cães com HAC não tratado e está associada a hipertensão sistêmica. A infecção do trato urinário é comum na doença, que pode estar associada ao efeito imunossupressor somado à retenção de urina que é frequente em animais com poliúria grave e fraqueza muscular (HERRTAGE; RAMSEY, 2012).

Segundo Nelson (2009) na radiografia abdominal as alterações mais consistentes são: aumento do contraste abdominal, secundário ao aumento da deposição de gordura no abdômen; hepatomegalia; e aumento da bexiga, secundária a poliúria. A visualização de uma massa de tecido mole ou de uma área de calcificação na glândula adrenal é um achado pouco comum, mas importante por ser sugestivo de tumor adrenal. O exame ultrassonográfico é usado para avaliar o tamanho e a forma das adrenais e para procurar outras anormalidades no abdômen. Uma hiperplasia bilateral é evidência de HPD, já uma glândula adrenal unilateralmente aumentada com a adrenal contralateral atrofiada indica um HAD.

De acordo com Behrend et al (2013) os testes para estabelecer o diagnóstico de HAC incluem: teste de supressão com baixa dose de dexametasona (TSBDD); teste de estimulação com ACTH; razão cortisol:creatinina urinária (RCCU). Nenhum desses testes é totalmente preciso e todos podem dar resultados falsos negativos e falsos positivos, se um cão com sinais clínicos compatíveis com a doença apresentar resultado negativo em um teste deve-se realizar outro tipo de teste. O TSBDD e o teste de estimulação por ACTH são os mais comumente utilizados (HERRTAGE; RAMSEY, 2012), sendo o primeiro considerado mais sensível, porém

menos específico, ao passo que o segundo é menos sensível (especialmente nos casos de HAD), porém bastante específico.

2.3 Lactato

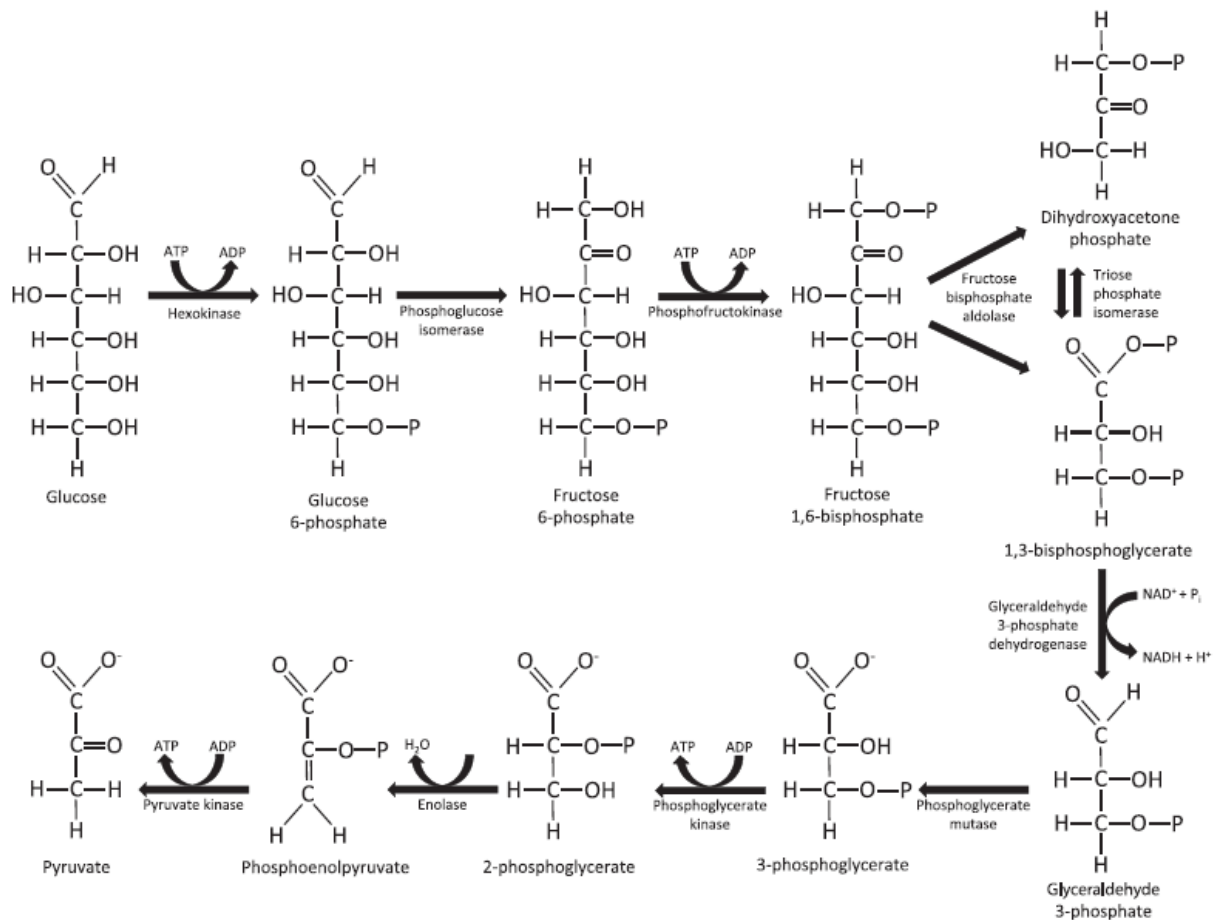
O lactato é um metabólito fisiológico produto do metabolismo dos carboidratos e da glicólise anaeróbica, e pode ser formado também por meio da glicólise aeróbica (GADDINI et al., 2018). Em situações de anaerobiose sua produção é uma resposta protetiva a situações de hipóxia, ele atua como uma fonte alternativa de energia celular, além de mitigar a acidose metabólica causada pela hidrólise do ATP (adenosina trifosfato). Além disso na medicina o lactato é usado como ferramenta diagnóstica e prognóstica, visto que seu aumento frequentemente está associado com a severidade das doenças (GILLESPIE; ROSENSTEIN; HUGHES, 2017).

Lactato e ácido láctico não são sinônimos, o ácido láctico é um ácido forte que em pH fisiológico é ionizado em lactato e H^+ (BOTTEON, 2012).

2.3.1 Síntese, metabolismo e excreção do lactato

O lactato é produzido a partir da redução do piruvato pela enzima lactato desidrogenase, sendo o piruvato um produto da glicólise. A glicólise é uma sequência de reações pelas quais uma molécula de glicose é convertida em duas moléculas de piruvato com produção simultânea de duas moléculas de adenosina trifosfato (ATP) e duas moléculas de dinucleótido de nicotinamida e adenina (NADH). Este processo ocorre no citosol das células e pode acontecer com ou sem oxigênio (GILLESPIE; ROSENSTEIN; HUGHES, 2017). As reações da conversão da glicose em piruvato estão representadas na Figura 1. Para essa conversão, são utilizadas duas moléculas de ATP para as reações de fosforilação, e são geradas quatro a partir do ADP (BEITZ, 2006). De acordo com Gillespie, Rosenstein e Hughes (2017) a hidrólise do ATP produzido pela glicólise libera prótons H^+ no citosol, esses prótons entram na mitocôndria gerando um gradiente de prótons necessário para a cadeia transportadora de elétrons e para a fosforilação oxidativa.

Figura 1: Reações da glicólise

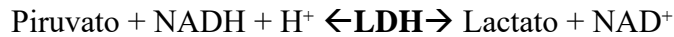


Fonte: Rosenstein, Tennent-Brown e Hughes (2018, p. 87).

O piruvato gerado pela glicose pode seguir diferentes vias para catabolismo contínuo, conforme disponibilidade de O_2 . Em condições aeróbicas o piruvato é transportado para a mitocôndria, onde é submetido a descarboxilação oxidativa pelo complexo piruvato desidrogenase (PDH) produzindo Acetilcoenzima A (Acetil-CoA), o principal combustível do ciclo do ácido cítrico (BEITZ, 2006). Em condições aeróbicas normais, uma pequena quantidade de lactato é produzida por eritrócitos, músculo esquelético, cérebro e medula renal (GADDINI *et al.*, 2018).

Alternativamente, em situações com suprimento insuficiente de oxigênio ocorre a glicólise anaeróbica. Na glicólise anaeróbica o piruvato gerado é convertido em lactato pela enzima lactato desidrogenase (LDH). Na ausência de oxigênio ou em células desprovidas de mitocôndrias, o piruvato e os prótons de H^+ , produzidos na hidrólise do ATP, não podem ser transportados para a mitocôndria. Assim as vias do ciclo do ácido cítrico e a fosforilação oxidativa diminuem sua atividade e os estoques de NAD^+ (dinucleótido de nicotinamida e adenina oxidado) se esgotam; piruvato, H^+ e NADH se acumulam no citoplasma e a via

metabólica do piruvato é desviada para a formação do lactato pela ação da LDH pela seguinte reação:



A formação de lactato reduz as concentrações de piruvato e H^+ , além disso, a conversão de piruvato em lactato também oxida o NADH, repondo os estoques de NAD^+ abastecendo e estimulando a via glicolítica a fim de suprir a demanda energética temporariamente. Assim que as concentrações de oxigênio normalizam o lactato é convertido de volta a piruvato, ou a glicose pela gliconeogênese uma vez que o lactato é um precursor de glicose no chamado ciclo de Cori (GILLESPIE; ROSENSTEIN; HUGHES, 2017). Em condições fisiológicas com aporte adequado de oxigênio cerca de 10% do piruvato é convertido em lactato pela LDH (ROSENSTEIN; TENNENT-BROWN; HUGHES, 2018).

O lactato existe em dois estereoisômeros, L-lactato e D-lactato. A forma L-lactato é a mais encontrada (99%). O lactato produzido pode ser utilizado na própria célula em que foi gerado ou pode ser transportado por proteínas transportadores de monocarboxilato (MCT) entre células e tecidos. Os MCT's estão presentes no músculo estriado, no cérebro, nos rins e no miocárdio, permitindo assim a distribuição da energia proveniente da glicose para todo organismo (GILLESPIE; ROSENSTEIN; HUGHES, 2017).

De acordo com Harvey e Ferrier (2012) a glicólise anaeróbica resultando na redução de piruvato a lactato também ocorre em condições fisiológicas nos olhos no cristalino e na córnea, na medula renal, nos testículos, nos leucócitos e nos eritrócitos, uma vez que esses tecidos são pouco vascularizados e/ou privados de mitocôndrias. O lactato também é formado no músculo esquelético em exercício devido a produção de NADH em excesso, que excede a capacidade da oxidativa da cadeia respiratória, resultando em um aumento na razão NADH/NAD^+ e favorecendo a conversão de piruvato em lactato. Muito desse lactato é difundido para a corrente sanguínea. O sentido da reação mediada pela lactato desidrogenase depende das concentrações de lactato e piruvato e da razão NADH/NAD^+ . No coração e no fígado a razão NADH/NAD^+ é mais baixa, por isso esses tecidos são capazes de oxidar o lactato obtido a partir do sangue e produzir piruvato.

Conforme James *et al.* (1999) o lactato também pode ser produzido em condições aeróbicas em diversas células. O aumento da atividade da bomba $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ leva a uma maior produção de lactato. A bomba $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ é uma proteína integral de membrana cuja atividade de transporte de íons, açúcares e aminoácidos é sustentada pelo ATP fornecido pela

glicólise. Acredita-se que a produção de lactato esteja relacionada com a bomba $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ porque as enzimas da via glicolítica podem estar associadas aos transportadores de membrana por proximidade. Então, o aumento da atividade da $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ leva a um aumento na produção de lactato mesmo em células com capacidade oxidativa intacta, como eritrócitos, nos neurônios, nas células da glia, no músculo liso e no músculo esquelético. A atividade da $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ no músculo esquelético é estimulada pela epinefrina, James et. al. (1999) propõem que o aumento do lactato sanguíneo nem sempre é decorrente de glicólise anaeróbica em situações de hipóxia, mas que pode ser reflexo de um aumento da glicólise aeróbica no músculo esquelético, através da estimulação da bomba $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ pela epinefrina.

A epinefrina, via estimulação β adrenérgica, aumenta a produção de adenosina monofosfato cíclico (AMPC), esse aumento da AMPC estimula além da atividade da bomba $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$, a glicogenólise e a glicólise para produzir ATP. A bomba $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ estimula o aumento da glicólise aeróbica, que é sustentada majoritariamente pela glicose-6-fosfato, derivada do glicogênio (JAMES *et al.*, 1999). De acordo com Levy *et al.* (2008) conforme o ATP é consumido moléculas de ADP são produzidas via estimulação da enzima fosfofrutoquinase 1 (PFK-1), que converte frutose-6-fosfato e ATP em frutose-1,6-bifosfato e ADP. O ADP produzido reativa a via glicolítica e assim gera mais piruvato e conseqüentemente mais lactato. O tecido muscular, que representa mais de 40% das células do organismo, é o tecido mais envolvido nesse mecanismo visto que mais de 99% dos receptores adrenérgicos do músculo são receptores β_2 adrenérgicos.

A maioria dos tecidos pode produzir e consumir lactato, os principais produtores de lactato são o músculo esquelético (40%) e a pele. Entretanto o lactato também pode ser produzido por outros tecidos, como intestino, cérebro, medula renal, eritrócitos, leucócitos e plaquetas. Os eritrócitos, por serem desprovidos de mitocôndrias, são responsáveis por 80% da produção de lactato proveniente das células sanguíneas. Estados patológicos, como sepse, apresentam um aumento da produção de lactato por células fagocíticas, como neutrófilos e macrófagos e por órgãos ricos em fagócitos, como fígado, baço, intestino e pulmão.

O lactato pode ser reconvertido em piruvato ou ser excretado pelo rim (FALL; SZERLIP, 2005). Segundo Rosenstein, Tennent-brown e Hughes (2018) o consumo de lactato ocorre principalmente no fígado, que metaboliza 50-70% do lactato, e no córtex renal (30-35%). No fígado, o lactato pode ser convertido de volta em piruvato pela LDH ou reconvertido em glicose pela gliconeogênese hepática. O lactato é reabsorvido ativamente no túbulo contorcido proximal, a excreção renal ocorre quando a concentração de lactato ultrapassa o limiar renal (5-6 mmol/L) (GILLESPIE; ROSENSTEIN; HUGHES, 2017).

A glicólise sofre influências hormonais, os efeitos hormonais podem aumentar a atividade enzimática de determinada enzima de 10 a 20 vezes. É sabido que a insulina determina um aumento nas quantidades das enzimas glicoquinase, fosfofrutoquinase (PFK) e piruvatoquinase, que atuam na sequência de reações da glicólise, a alta atividade dessas enzimas favorece a conversão de glicose em piruvato. O glucagon por sua vez tem efeito contrário diminuindo a quantidade dessas enzimas e suas atividades, assim diminuindo a atividade da via glicolítica (HARVEY; FERRIER, 2012).

2.3.2 Hiperlactatemia

Hiperlactatemia indica uma concentração sérica, plasmática ou sanguínea maior que a do intervalo de referência. Difere de acidose láctica, que é um estado de hiperlactatemia com concorrente acidose metabólica (ROSENSTEIN; TENNENT-BROWN; HUGHES, 2018).

De acordo Hughes et al. (1999) o intervalo de referência para a concentração de lactato plasmático em cães de seis meses a 12 anos é de 0,3-2,5 mmol/L. Entretanto Rabelo (2008) considera normais valores até 3,2 mmol/L. Cães com idade inferior a 1 mês podem ter concentrações maiores, entre 0,8-6,59mmol/L (GADDINI *et al.*, 2018).

De acordo com Franco *et al.* (2016) a mensuração de lactato sérico tem se mostrado uma importante ferramenta no diagnóstico, monitoramento e prognóstico de diversas síndromes clínicas. O lactato é um marcador acessível e econômico do metabolismo tecidual que fornece informações acerca da perfusão tecidual e da bioenergética tecidual (ROSENSTEIN; TENNENT-BROWN; HUGHES, 2018). Animais doentes com concentrações de lactato dentro do valor de referência tem um melhor prognóstico com maior chance de sobrevivida do que animais com hiperlactatemia. Entretanto a lactimetria nunca deve ser avaliada isoladamente, mas como complemento ao histórico do paciente e a outros exames diagnósticos específicos (GILLESPIE; ROSENSTEIN; HUGHES, 2017).

A hiperlactatemia pode ser dividida em dois grupos: tipo A e tipo B. A hiperlactatemia tipo A tem relação com hipóxia e tende a ser severa (valores acima de 6 mmol/L). Já hiperlactatemia tipo B não é associada a hipóxia e é de leve a moderada (3-6 mmol/L), esse tipo pode ser ainda subdividido em B1, B2 e B3. O tipo A e tipo B podem coexistir em um mesmo paciente.

A hiperlactatemia tipo A pode estar relacionada a uma deficiência na produção ou distribuição de oxigênio, ou a um aumento da demanda. O choque é a causa mais comum de hiperlactatemia na medicina veterinária, e pode ser hipovolêmico, cardiogênico ou obstrutivo,

todos caracterizados por um baixo débito cardíaco e conseqüentemente uma falha na distribuição de oxigênio para todo o organismo e um aumento do metabolismo anaeróbico. Na veterinária a causa mais comum de hipoperfusão sistêmica é o choque hipovolêmico. No início de um choque hipovolêmico são ativados mecanismos compensatórios, a concentração plasmática de lactato só aumenta quando os mecanismos compensatórios se esgotam. Com a presença de hipóxia tecidual inicia-se o metabolismo anaeróbico afim de gerar energia, e assim produzindo lactato. Por isso pode se dizer que hiperlactatemia é um indicador tardio de hipoperfusão. Cães com hipoperfusão leve tem uma concentração plasmática de lactato de 3-4 mmol/L, hipoperfusão moderada é associada a uma concentração de 4-6 mmol/L, e pacientes com hipoperfusão severa tem uma concentração sérica de lactato maior que 7 mmol/L (GILLESPIE; ROSENSTEIN; HUGHES, 2017).

Tradicionalmente a hiperlactatemia em pacientes em choque era interpretada como um marcador secundário à glicólise anaeróbica devido ao aporte insuficiente de oxigênio. Atualmente acredita-se que o aumento de lactato decorrente de hipóxia é menos frequente. Diversos estudos demonstram que o aumento da glicólise aeróbica via estimulação β_2 adrenérgica, devido a epinefrina, é o mecanismo comumente envolvido na formação de lactato em situações de choque (LEVY *et al.*, 2008). A epinefrina, como todas as catecolaminas, estimula receptores β_2 adrenérgicos, que promovem um aumento da glicogenólise e da glicólise, assim produzindo mais piruvato, e conseqüentemente mais lactato (JAMES *et al.*, 1999).

De acordo com Gillespie, Rosenstein e Hughes (2017) a hiperlactatemia tipo A também pode ser causada por uma hipoperfusão local ou regional, como em casos de necrose gástrica, dilatação gástrica, tromboembolismo aórtico, ou por uma área de isquemia intestinal. A hiperlactatemia associada a hipóxia também pode ser causada por uma anemia severa, secundária a hemorragia ou hemólise.

A hiperlactatemia tipo B, que pode ou não estar associada a hipóxia, é dividida em 3 grupos. O grupo B1 está relacionado a doenças sistêmicas. Em seres humanos a hiperlactatemia já foi observada relacionada a diabetes mellitus, neoplasias, hepatopatias, pancreatite, doenças intestinais, insuficiência renal, deficiência de tiamina e SC (CLAUS *et al.*, 2017; HENNEMAN; BUNKER, 1957; JOHNSTON *et al.* 1980)

A hiperlactatemia tipo B2 é relacionada a drogas ou toxinas. As principais substâncias associadas ao aumento da lactimetria são: agentes agonistas β_2 , catecolaminas, glicocorticoides, bicarbonato, etanol, glicose, etileno glicol, halotano, insulina e morfina. A hiperlactatemia tipo 3 é rara em cães, e está relacionada a deficiências congênitas de metabolismo (GILLESPIE; ROSENSTEIN; HUGHES, 2017).

Os mecanismos pelos quais os glicocorticoides podem causar uma hiperlactatemia tipo B2 estão relacionados à alteração do metabolismo dos carboidratos e à potencialização das ações das catecolaminas, causadas pelo cortisol e outras moléculas com efeitos glicocorticoides. (MCMAHON; GERICH; RIZZA, 1988 *apud* GILLESPIE; ROSENSTEIN; HUGHES, 2017).

Segundo Belettini (2008) o estresse pode também ser um fator determinante para a hiperlactatemia sérica, por romper a homeostasia orgânica e causar respostas fisiológicas e comportamentais. Um estudo prospectivo realizado por Franco *et al.* (2016) mensurou, dentre outros parâmetros, o lactato sérico de 80 cães saudáveis e os valores obtidos foram mais altos que os valores descritos por Hughes *et al.* (1999) e mais próximos ao limite de 3,2mmol/L citado por Rabelo (2008). Durante a avaliação clínica e da coleta da amostra sanguínea os cães se encontravam no ambulatório, contidos fisicamente e sem seus tutores, o que pode caracterizar um quadro de estresse, que pode afetar os parâmetros clínicos. Em alguns dos cães foi observado um aumento da frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e temperatura retal, o que justifica a ativação do sistema nervoso autônomo adrenérgico e do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal como mecanismos fisiológicos responsivos ao estresse, esses mecanismos podem mobilizar a glicose e aumentar o consumo de oxigênio, a queda no aporte tecidual de oxigênio leva à glicólise anaeróbica, que produz lactato. Na análise dos parâmetros mensurados foi identificada uma relação significativa dos valores de lactato sérico e a FC. Presume-se que os mecanismos neuroendócrinos do estresse, principalmente a ativação do sistema nervoso adrenérgico, estimulam a liberação de catecolaminas endógenas, que promovem inotropismo e cronotropismo positivo, vasoconstrição periférica, aumento da pressão arterial e aumento do consumo e demanda de oxigênio. Além disso, conforme James *et al.* (1999) as catecolaminas aumentam a produção de lactato por estimularem a glicogenólise e glicólise.

2.4 Hiperlactatemia Induzida por Glicocorticoides

Em um ensaio clínico realizado em humanos, Ottens *et al.* (2015) avaliou o efeito da administração de dexametasona em pacientes durante o transoperatório de cirurgia cardíaca, nas concentrações de lactato e glicose. A mensuração dos parâmetros realizada no período pós-operatório mostrou que os pacientes que receberam dexametasona durante a cirurgia apresentaram níveis mais altos de lactato e glicose sanguínea. De acordo com Ottens *et al.* (2015) a dexametasona induziu a produção do lactato, através da inibição da atividade da insulina, da estimulação da gliconeogênese e da resposta adrenérgica, que estimula a produção

de catecolaminas. O corticoide potencializa a produção de catecolaminas pela medula adrenal através da estimulação da feniletanolamina N-metiltransferase (PNMT). As catecolaminas afetam a perfusão visceral e a atividade da Na-K-ATPase no músculo, ambas alterações contribuem para um aumento da produção do lactato.

Na medicina veterinária também já foram realizados estudos sobre o efeito do cortisol exógeno sobre a lactimetria em cães. Um estudo realizado por Boysen *et al.* (2009) em 12 cães saudáveis avaliou o efeito da administração de doses de prednisona anti-inflamatórias (1 mg/Kg) e imunossupressoras (4 mg/kg) sobre a concentração sérica de lactato. Como os cães eram todos hígdos sem nenhum sinal clínico de hipoperfusão tecidual o estudo buscou evidências de uma hiperlactatemia tipo B. O experimento constatou uma hiperlactatemia significativa nos pacientes submetidos a doses anti-inflamatórias e imunossupressoras de glicocorticoide. O glicocorticoide através de um estímulo a gliconeogênese aumenta a produção e conseqüentemente a utilização da glicose, a maior utilização da glicose (glicólise) aumenta também a produção e concentração de lactato no sangue (FORBATH; HALL; HETENYI, 1969 *apud* BOYSEN *et al.*, 2009). De acordo com Boysen *et al.* (2009) o local de ação específico dos glicocorticoides pode envolver uma inibição hormonal da conversão do piruvato em acetil-CoA, que resulta em uma diminuição da oxidação do piruvato e subseqüente acúmulo de piruvato e lactato

Em humanos existem relatos que o hipercortisolismo espontâneo decorrente da SC causa uma hiperlactatemia. Um ensaio clínico realizado por Johnston *et al.* (1980) monitorou e comparou parâmetros de três grupos (portadores de HAC, obesos e pacientes hígdos para controle). Nos resultados foram observados aumentos significativos na concentração de insulina, piruvato, lactato, alanina, cortisol e tiroglobulina dos pacientes com SC comparados aos controles.

Um aumento da concentração sérica da enzima lactato desidrogenase em pacientes com SC foi relatado por Sato *et al.* (1984). Um estudo comparou um grupo de pessoas portadoras de SC com um grupo controle de obesos que não apresentavam a doença, e foi constatado um aumento da atividade de LDH em metade dos pacientes com SC, inclusive os casos menos severos.

Uma concentração sérica de LDH acima dos valores de referências também foi observada em 16 de 20 pacientes humanos com SC em um estudo realizado por Takaishi *et al.* (1977), além disso todos os pacientes avaliados tiveram valores de 17-hidroxicorticoesteroides urinário (17-OHS) elevados, foi observada uma correlação positiva entre o aumento das concentrações de 17-OHS e da LDH. Em quase todos os casos com LDH elevado os valores

diminuíram ou voltaram ao normal após adrenalectomia. Esses resultados sugerem que a hipercortisolemia pode causar uma elevação de LDH por um mecanismo ainda não determinado. Uma hipótese aventada é de que a glândula adrenal seja a fonte do aumento da lactato desidrogenase (TAKAISHI *et al.*, 1977), mas até a data desta revisão não existe nenhum trabalho comprovando ou descartando essa hipótese.

Henneman e Bunker (1957) compararam seres humanos com SC com pacientes que estavam recebendo 17-hidroxicorticoesteroides e ambos tiveram um aumento significativo da concentração sérica de lactato e de piruvato. Henneman e Bunker (1957) sugerem que o glicocorticoide iniba a oxidação de piruvato em Acetil-CoA, acumulando assim o piruvato e consequentemente o lactato.

Embora o mecanismo ainda não esteja elucidado, já é comprovado que o cortisol estimula um aumento da lactimetria. Acredita-se então que os possíveis mecanismos pelos quais o cortisol pode aumentar a produção de lactato são: 1) Alteração do metabolismo dos carboidratos 2) Estimulação da conversão de aminoácidos em piruvato 3) Inibição da piruvato desidrogenase 4) Potencialização do efeito das catecolaminas via estimulação adrenérgica (ROSENSTEIN; TENNENT-BROWN; HUGHES, 2018).

2.4.1 Alteração do metabolismo dos carboidratos

O cortisol altera o metabolismo dos carboidratos no organismo de modo a disponibilizar mais glicose no sangue. O glicocorticoide tem um efeito anti-insulínico que inibe a captação de glicose, a fim de mantê-la disponível. Além disso ele estimula a gliconeogênese, formação de glicose a partir de fontes que não carboidratos (HERRTAGE; RAMSEY, 2015). Quanto maior a concentração de glicose sanguínea maior o substrato para a produção de lactato (OTTENS *et al.*, 2015). O catabolismo de proteínas é estimulado para fornecer aminoácidos para o processo, esses aminoácidos são convertidos em piruvato. De acordo com Fall e Szerlip (2005) o piruvato, sob condições normais, entra na mitocôndria e é oxidado em Acetil-CoA pela piruvato desidrogenase. Com uma maior concentração de piruvato a capacidade oxidativa da mitocôndria pode se esgotar, acumulando assim mais piruvato. Da mesma forma a inibição da PDH inibindo a oxidação à Acetil-Coa também acumula o piruvato. Com um acúmulo de piruvato no citosol e a via oxidativa inibida, seu metabolismo é desviado para ser convertido em lactato.

2.4.2 Potencialização das catecolaminas

O cortisol também pode estimular a produção de lactato através da potencialização dos efeitos das catecolaminas. Segundo Sieber-Ruckstuh (2017) glicocorticoides estimulam a síntese e o metabolismo de catecolaminas (epinefrina e norepinefrina) e metanefrinas (metanefrina e normetanefrina). Cães com hipercortisolismo espontâneo tem um aumento significativo na proporção epinefrina, norepinefrina e normepinefrina:creatinina urinária quando comparados com cães saudáveis. As catecolaminas (epinefrina e norepinefrina) são sintetizadas a partir da tirosina por células cromafins na medula adrenal e por neurônios adrenérgicos e dopaminérgicos. A tirosina (proveniente da dieta ou sintetizada no fígado a partir da fenilalanina) é absorvida pelas células cromafins na medula adrenal e hidrolisada à 3,4-diidroxifenilalanina (dopa) pela tirosina hidroxilase. A dopa é então descarboxilada à dopamina, a dopamina é convertida a norepinefrina pela dopamina β hidroxilase, e enfim a norepinefrina é convertida em epinefrina pela PNMT. A resposta celular e tecidual às catecolaminas está relacionada ao receptor adrenérgico da célula (α_1 , α_2 , β_1 , β_2 e β_3). A liberação das catecolaminas é a principal resposta do sistema nervoso simpático pela ativação do mecanismo de luta ou fuga (CRUMP; MARTIN, 2003).

Após serem liberadas na corrente sanguínea as catecolaminas são metabolizadas rapidamente, a maior parte é metabolizada na própria glândula adrenal e uma menor proporção no fígado e rim. Por muito tempo acreditou-se que a medula e o córtex adrenal eram dois sistemas endócrinos independentes. Atualmente é reconhecida a relação entre os glicocorticoides produzidos no córtex e as catecolaminas produzidas na medula. O cortisol estimula várias enzimas envolvidas na síntese e metabolismo das catecolaminas, a tirosina hidroxilase, a PNMT, e a dopamina β -hidroxilase (CRITCHLEY, 1976 *apud* SIEBER-RUCKSTUH, 2017).

As catecolaminas estão relacionadas a situações de estresse, como “luta ou fuga”. Por isso seu objetivo é aumentar a disponibilidade de glicose no sangue, assim elas estimulam a degradação de glicogênio no fígado e nos músculos e a gliconeogênese a partir da mobilização de gorduras (EILER, 2006).

As catecolaminas estimulam adenilato ciclase, o que leva a um aumento da concentração 3'-5' AMPc nos tecidos. O aumento de AMP cíclico ativa diversas enzimas envolvidas na mobilização de energia. A lipólise e a glicogenólise são estimuladas, o AMPc também aumenta a gliconeogênese a partir do lactato e do piruvato (ISSEKUTZ; ALLE, 1972). Issekutz e Alle (1972) compararam o efeito da epinefrina sobre o metabolismo dos carboidratos em cães

hígidos e em cães tratados com metilprednisolona. Em cães hígidos a infusão da epinefrina causou um aumento de 50% na glicemia, de 35% na produção da glicose e aumentou quatro vezes a gliconeogênese a partir do lactato. Em cães tratados com metilprednisolona o efeito da epinefrina foi potencializado. A concentração sanguínea de glicose e de lactato foi mais alta que a do grupo não tratado com o glicocorticoide, assim como a taxa de gliconeogênese a partir do lactato também foi maior que nos cães em que foi administrado apenas epinefrina (ISSEKUTZ; ALLE, 1972).

Altas concentrações de epinefrina estimulam receptores adrenérgicos, que através do aumento da produção AMPc estimulam além da glicogenólise, a atividade da Bomba $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPase. A bomba é responsável pela manutenção do potencial de membrana nas células, consome uma molécula de ATP para transportar três íons de sódio para o meio extracelular e 2 íons de potássio para dentro da célula. Existe uma associação com o consumo de ATP pela $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPase e a produção de ATP pela via glicolítica, James *et al.* (1999) sugerem que a produção de ATP pela glicólise é regulada pela utilização do ATP pela $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPase. A fosfofrutoquinase, enzima reguladora da glicólise, é inibida pelo ATP. Visto que a atividade da Bomba $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPase usa o ATP e libera ADP, o ADP liberado estimula a atividade de fosfofrutoquinase e aumenta a taxa de glicólise aeróbica. A atividade da bomba acelera a glicólise aeróbica, que é sustentada principalmente pela glicose-6-fosfato, derivado do glicogênio. Essa rápida produção de ATP abastecida pelo glicogênio causa uma hiperlactatemia. Essa hipótese explica situações em que a hiperlactatemia não está associada a indicadores da má perfusão ou oxigenação e sim a um aumento da glicólise aeróbica secundária a estimulação da Bomba $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPase pela epinefrina (JAMES *et al.*, 1999). De acordo com Levy *et al.* (2008) com o aumento da glicólise aeróbica, a taxa de glicólise excede a capacidade oxidativa da mitocôndria em condições com aporte adequado de oxigênio. Com a capacidade oxidativa da mitocôndria esgotada o piruvato, produto da glicólise, se acumula no citosol, e seu metabolismo é desviado para a formação de lactato.

De uma forma simplificada o cortisol potencializa a ação das catecolaminas via estimulação adrenérgica (OTTENS *et al.*, 2015) as catecolaminas por sua vez aumentam a atividade da Bomba $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPase, que ao utilizar ATP e liberar ADP estimulam a PFK, enzima reguladora da glicólise. A PFK aumenta sua atividade, aumentando a taxa de glicólise. Com mais glicólise, mais piruvato e conseqüentemente lactato são produzidos (JAMES *et al.*, 1999).

3 CONCLUSÃO

Com o aumento da expectativa de vida dos pequenos animais a prevalência de endocrinopatias ligadas ao envelhecimento é cada vez maior, e a SC é a principal doença endócrina que afeta os cães. Se faz necessária a melhor compreensão do metabolismo dos pacientes com Síndrome de Cushing a fim de ajudar a prever melhor os desfechos da doença, monitorar sua progressão e prover qualidade de vida ao paciente.

Acredita-se que os glicocorticoides estimulam um aumento da produção de lactato, através da alteração no metabolismo dos carboidratos (estímulo a gliconeogênese e glicogenólise) que objetiva aumentar a disponibilidade de glicose para o organismo, e de uma potencialização da ação das catecolaminas estimulando a via adrenérgica. As catecolaminas, potencializadas pelo cortisol, também têm efeitos estimulantes na gliconeogênese e glicogenólise, além de estimular a atividade da bomba $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPase que aumenta a glicólise aeróbica via estimulação da fosfofrutoquinase.

Já é comprovado que glicocorticoides exógenos causam uma hiperlactatemia em cães, assim como já existem relatos que pacientes humanos com hipercortisolismo espontâneo devido a SC também tem uma concentração sérica de lactato e da enzima lactato desidrogenase aumentada. Por isso há fortes indícios que cães com HAC também apresentam hiperlactatemia devido ao excesso de glicocorticoide, visto que o cortisol endógeno secretado pela glândula adrenal tem ação semelhante ao cortisol exógeno. Entretanto ainda se faz necessário uma pesquisa experimental para validar o impacto da doença na concentração sérica de lactato em cães, e o eventual papel prognóstico que essa suposta hiperlactatemia pode apresentar em cães com SC.

O uso do lactato como ferramenta diagnóstica e prognóstica tem crescido na medicina veterinária, a mensuração sérica do lactato é comumente associada à gravidade de doenças, principalmente em pacientes críticos. O uso da lactimetria na rotina dos pacientes com HAC poderia beneficiar como mais um parâmetro a ser avaliado na evolução da doença e/ou eficácia do tratamento.

REFERÊNCIAS

- BEHREND, E. N. Diagnosis of Spontaneous Canine Hyperadrenocorticism: 2012 ACVIM Consensus Statement (Small Animal). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Malden, v. 27, n. 6, p. 1292-1304, Nov-Dec 2013.
- BEITZ, D. C. Metabolismo dos carboidratos *In*: REECE, O. W. (ed). **Dukes: fisiologia dos animais domésticos**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. cap. 30, p. 462-476.
- BELETTINI, S. T. *et al.* Avaliação dos níveis séricos de lactato em cães submetidos a anestesia dissociativa. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**. Umuarama, v. 11, n. 2, p. 87-95, dez. 2008.
- BENEDITO, G. S.; ROSSI, E. M.; CAMARGO, M. H. B. Hiperadrenocorticismo em cães: revisão de literatura. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, Maringá, v. 2, n. 1, p.127-138, 2017.
- BOCK, T. N.; POPPL, A. G. Canine hyperadrenocorticism enviromental risk factors: a case-control study. *In*: 2018 ACVIM Forum Research Report Program, Seattle. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n. 6, p. 2231, 2018.
- BOYSEN, S. R. *et al.* Effects of prednisone on blood lactate concentrations in healthy dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Calgary, v. 23, n. 1, p.1123-1125, May 2009.
- CHASTAIN, C. B. Sistemas Endócrino e Metabólico. *In*: HOSKINS, J. D. (ed). **Geriatrics e gerontologia do cão e gato**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2008. cap. 17, p. 318-322.
- CLAUS, P. *et al.* Blood lactate concentration in diabetic dogs. **The Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 58, n. 8, p.817-822, Aug. 2017.
- CRITCHLEY, J. A. *et al.* Proceedings: The release of catecholamines from perfused canine adrenal glands by corticosteroids. **The Journal of physiology**. Oxford, v. 254, n. 1, p. 30-31, Jan. 1976.
- CRUMP M. H.; MARTIN P. A. The adrenal gland. *In*: PINEDA, M. H.; DOOLEY, M. P. (ed). **McDonald's Veterinary Endocrinology and Reproduction**. 5th ed. Ames: Iowa State Press, 2003. cap. 6, p. 166-186.
- EILER, H. Glândulas Endócrinas *In*: REECE, O. W. (ed). **Dukes: fisiologia dos animais domésticos**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. cap. 37, p. 578-611.
- FALL, P. J.; SZERLIP, H. M. Lactic acidosis: from sour milk to septic shock. **Journal of Intensive Care Medicine**, Thousand Oaks, v. 20, n. 5, p.255-271, Sept./Oct. 2005.
- FORBATH, N; HALL, J. D.; HETENYI, G. J. The effect of methyl-prednisolone on the turnover of lactate and the conversion of lactate to glucose in dogs. **Hormone and metabolic research**. Stuttgart, v. 1, n. 4, p. 178-182, July. 1969.

FRANCO, R. P. *et al.* Valores de lactato sérico e sua correlação com parâmetros clínicos de cães saudáveis, mensurados durante atendimento ambulatorial veterinário. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Marília, v. 36, n. 6, p. 509-515, jun. 2016.

GADDINI, L. *et al.* Uso do lactato para auxílio no prognóstico de pacientes críticos. **Enciclopédia Biosfera**, Maringá, v. 15, n. 28, p. 916-930, dez. 2018.

GILLESPIE, Í.; ROSENSTEIN, P. G.; HUGHES, D. Update: clinical use of plasma lactate. **The Veterinary clinics of North America: Small animal practice**. Philadelphia, v. 47, n. 2, p. 325-342. Mar. 2017.

GRECO, D. S.; STABENFELDT, G. H. Endocrinologia. *In*: KLEIN, B. G. **Cunningham**: tratado de fisiologia veterinária. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. cap. 34. p. 381-389.

HARVEY, R.; A.; FERRIER, D. R. **Bioquímica Ilustrada**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

HENNEMAN D. H., BUNKER J.P. The pattern of intermediary carbohydrate metabolism in Cushing's syndrome. **The American Journal of Medicine**. New York, v. 23, n. 1, p. 34-45, July 1957.

HERRTAGE, M. E. Diagnosing canine hyperadrenocorticism. *In*: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 36., 2011, Jeju, Korea. **Proceedings**. Jeju: WSAVA, 2012. p. 349-354.

HERRTAGE, M. E.; RAMSEY, I. K. (ed). Hiperadrenocorticism em cães. *In*: MOONEY, C. T.; PETERSON, M. E. **Manual de endocrinologia em cães e gatos**. Rio de Janeiro: Roca, 2012. cap. 16, p. 201-223.

HUGHES D. *et al.* Effect of sampling site repeated sampling pH, and PCO₂ on plasma lactate concentration in healthy dogs. **American journal of veterinary research**, Schaumburg, v. 60, n. 4, p. 521-524, Apr 1999.

ISSEKUTZ B.; ALLEN M. Effect of catecholamines and methylprednisolone on carbohydrate metabolism of dogs. **Metabolism: Clinical and Experimental**, Philadelphia, v. 21, n. 1, p. 48-59, Jan 1972.

JAMES, J. H. *et al.* Lactate is an unreliable indicator of tissue hypoxia in injury or sepsis. **The Lancet**, London, v. 354, p.505-508, Aug. 1999.

JOHNSTON, D. G. *et al.* Hormonal and metabolic rhythms in Cushing's syndrome. **Metabolism**, Philadelphia, v. 29, n. 11, p.1046-1052, Nov. 1980.

LEVY, B. *et al.* Increased aerobic glycolysis through β_2 stimulation is a common mechanism involved in lactate formation during shock states. **Shock**, Philadelphia, v. 30, n. 4, p.417-421, Oct. 2008.

- MARTINS, F. S. M. **Estudos de casos em série e proposta de um índice diagnóstico para hiperadrenocorticismo canino.** 2018. Tese (Mestrado Ciências Veterinárias) -Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2018.
- MCMAHON, M.; GERICH, J.; RIZZA, R. Effects of glucocorticoids on carbohydrate metabolism. **Diabetes/Metabolism reviews.** New York, v. 4, n. 1, p. 17-30, Feb. 1988.
- MICELI, D. D. *et al.* Low dose of insulin detemir controls glycaemia, insulinemia and prevents diabetes mellitus progression in the dog with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. **Research in Veterinary Science.** London, v. 93, n. 1, p. 114-120, Aug. 2012.
- NELSON, R. W. Disorders of the adrenal gland. *In:* NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Small Animal Internal Medicine.** 4. ed. Missouri: Elsevier, 2009. cap. 53. p. 810-830.
- OLIVEIRA, S. T. 2004 **Transtornos dos hormônios adrenais em cães.** Seminários da disciplina de pós-graduação de Bioquímica do Tecido Animal - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/transtornos_adrenal.pdf> Acesso em: 11 junho 2019.
- OTTENS, T. H. *et al.* Effect of high-dose dexamethasone on perioperative lactate levels and glucose control: a randomized controlled trial. **Critical Care,** London, v. 19, n. 1, p.41-54, Feb. 2015.
- PÖPPL, A. G. *et al.* Frequency of Endocrinopathies and Characteristics of Affected Dogs and Cats in Southern Brazil (2004-2014). **Acta Scientiae Veterinariae.** Porto Alegre, v. 44, n.1, p. 01-09, 2016.
- PÖPPL, A. G. *et al.* Urinary Tract Infection in Canine Hyperadrenocorticism. *In:*ACVIM Forum, 18, 2019, Phoenix, Arizona. **Proceedings.** Phoenix: ACVIM, 2019. p. 557.
- RAMSEY, I., RISTIC, J. Diagnosis of canine hyperadrenocorticism.**In Practice,** London, v. 29, n. 8, p. 446-454, Sept. 2007.
- RABELO, R.C. **Estudio y valor pronóstico de los parámetros relacionados con supervivencia en clínica de urgencias de pequeños animales: estudio multicentrico.** 2008. Tese (Doutorado Medicina y Cirugía Animal) -Facultad de Veterinária, Universidad Complutense de Madrid, Madrid. 2008.
- RIJINBERK, A.; KOOISTRA, H. S. **Clinical endocrinology of dogs and cats:** all illustrated text. Hannover: Schlutersche, 2010. 338 p.
- ROSENSTEIN, P. G.; TENNENT-BROWN, B. S.; HUGHES, D. Clinical use of plasma lactate concentration. Part 1: Physiology, pathophysiology, and measurement. **Journal Of Veterinary Emergency And Critical Care,** Malden, v. 28, n. 2, p.85-105, Mar. 2018.
- SATO, T. *et al.* Changes of platelets, serum lactic dehydrogenase, γ -glutamyltranspeptidase, choline esterase and creatine phosphokinase levels in patients with Cushing's syndrome. **The Tohoku Journal of Experimental Medicine,** Sendai, v. 142, n. 2, p.195-200, June. 1984.

SIEBER-RUCKSTUHL N. Effects of trilostane on urinary catecholamines and their metabolites in dogs with hypercortisolism. **BMC Veterinary Research**. London, v. 13 n. 1, p. 279, Sept. 2017.

SOARES, F. A. C. *et al.* Cardiocirculatory, biochemical and hemostatic evaluation of dogs with hyperadrenocorticism at diagnosis and after treatment. **Korean Journal of Veterinary Research**. Seoul, v. 56, n. 3, p. 161-166, July 2016.

TAKAISHI, M. *et al.* Elevated serum lactic dehydrogenase activity in patients with Cushing's syndrome. **Endocrinologia Japonica**, Tokyo, v. 24, n. 4, p.381-384, Aug. 1977.