

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

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE DIFERENTES DOSES DE ACTH SUÍNO  
RECOMBINANTE ACTHEL<sup>®</sup> PARA TESTE DE ESTIMULAÇÃO ADRENAL  
EM GATOS**

**PORTO ALEGRE**

**2021**

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

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE DIFERENTES DOSES DE ACTH SUÍNO  
RECOMBINANTE ACTHEL® PARA TESTE DE ESTIMULAÇÃO ADRENAL  
EM GATOS**

**Autora: Daniela Jardim Lopes**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias - UFRGS como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias.**

**Orientador: Prof. Dr. Álan Gomes Pöpl**

**PORTO ALEGRE**

**2021**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço meus pais, por sempre me incentivarem a realizar meus sonhos, me apoiarem financeiramente e emocionalmente, e por sempre acreditarem em mim. Vocês são o meu exemplo.

Meu parceiro Luan, agradeço por toda paciência, ajuda e compressão nesses dois anos de dedicação intensa ao mestrado.

Agradeço as minhas amigas que estiveram presentes em todos os momentos, compartilhando momentos de alegria e de frustrações.

Ao Hospital Veterinário da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, agradeço toda a oportunidade de aprendizado tanto nesses dois anos de mestrado como nos dois anos anteriores de residência, que foram fundamentais para minha formação pessoal. Por quatro anos esse lugar foi a minha segunda casa.

Agradeço as estagiárias do Serviço de Endocrinologia e Metabologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, que sempre estiveram dispostas a ajudar e acompanhar o meu ritmo levemente acelerado de trabalho... Às minhas amigas e colegas do “Power Endócrino” por ajudarem com as dúvidas com os pacientes, e por compartilharem as mais diversas experiências de vida e de trabalho.

Agradeço também as estagiárias que me ajudaram nas horas sem fim segurando pacientes para aprender a fazer ecocardiograma... vocês foram fundamentais nessa jornada. E todos os residentes, técnicos e professores do hospital que confiaram em mim para encaminhar pacientes, discutir casos, trocar experiências.

Agradeço ao programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela oportunidade em realizar o meu mestrado. Ao CNPq pela bolsa de estudos. E ao laboratório BET pela parceria para execução dessa pesquisa.

Agradeço a proprietária Débora Ramos do Recanto do Fofolete por confiar seus gatinhos para nosso estudo.

Finalmente, agradeço meu orientador Prof. Dr. Alan Gomes Pöpl pela oportunidade de realizar esse mestrado, pela amizade, por compartilhar todo seu conhecimento sobre endocrinologia de cães e gatos, por me orientar com meus pacientes e, principalmente por toda ajuda na elaboração dessa dissertação.

## RESUMO

O teste de estimulação com o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) é utilizado para avaliação da reserva adrenal na Medicina e Medicina Veterinária. Em gatos, tem sido usado principalmente para avaliar a produção adrenocortical de cortisol, progesterona e andrógenos, além de gerar estímulo adicional para secreção de aldosterona na avaliação da reserva mineralocorticoide da adrenal. É um teste dinâmico de função adrenal, que pode ser utilizado como um teste de diagnóstico do hipercortisolismo e como teste padrão-ouro no diagnóstico de hipoadrenocorticismo. Apesar da falta de consenso e de valores de referência, o teste também pode ser útil na avaliação da resposta terapêutica de gatos com síndrome de Cushing tratados com trilostano. Ainda, é discutida sua aplicabilidade para avaliar graus leves de insuficiência adrenocortical na síndrome denominada insuficiência de corticosteroide relacionada a doença crítica. Na espécie felina, a equivalência de uma dose de 5 µg/kg em relação a dose de 125 µg/gato já foi documentada, utilizando diferentes formas de ACTH sintético como o tetracosactide (Synacthen®) e a cosintropina (Cortrosyn®). O objetivo desse trabalho foi de avaliar se as doses de 1 ou 5 µg/kg apresentam equivalência com a dose tradicional de 125 µg/gato em gatos saudáveis utilizando uma apresentação de ACTH porcino sintético recombinante (ACTHEL®) administrado pela via intravenosa. Sete gatos castrados e saudáveis voluntários foram incluídos no estudo. Cada gato recebeu a dose de 1 µg/kg, 5 µg/kg e 125 µg/gato de ACTHEL® por via endovenosa, com 7 dias de intervalo entre os testes. Amostras de sangue foram coletadas antes e uma hora após a administração do ACTHEL®, para mensuração de aldosterona, androstenediona, cortisol e progesterona. Nenhuma dose testada promoveu aumento documentável na concentração sérica de androstenediona. Houve diferença significativa ( $p = 0,03$ ) entre as amostras basais e pós-ACTH com a administração de 1 µg/kg apenas com relação à progesterona. A dose de 5 µg/kg promoveu aumento significativo da secreção adrenal de aldosterona ( $p = 0,01$ ) e progesterona ( $p = 0,01$ ). Com relação a dose de 125 µg/gato, esta promoveu elevação significativa ( $p = 0,01$ ) da concentração de aldosterona, cortisol e progesterona. A comparação dos  $\Delta$ -hormonais sugere que a dose de 125 µg/gato é mais efetiva em provocar a resposta máxima de aldosterona, cortisol e progesterona, devendo ser a dose preconizada para aumentar a sensibilidade do teste de estimulação por ACTH.

**Palavras-chave:** Aldosterona; Androstenediona; Cortisol; Progesterona

## ABSTRACT

*The adrenocorticotrophic hormone (ACTH) stimulation test is used to assess adrenal reserve in both human and veterinary medicine. In cats, it has been used mainly to evaluate the adrenocortical production of cortisol, progesterone and androgens, and works as an additional stimulus for aldosterone secretion and assessment of the adrenal mineralocorticoid reserve. It is an adrenal function test, which can be used. as a screening test for hypercortisolism and as a gold standard for the diagnosis of hypoadrenocorticism. Despite there is no consensus neither established reference values, it is also applicable to trilostane treatment monitoring of cats with Cushing's syndrome. In addition, its applicability to assess mild degrees of adrenocortical insufficiency in a syndrome called corticosteroid insufficiency related to critical illness is discussed. In the feline species, the equivalence of a dose of 5 µg/kg in relation to the dose of 125 µg/cat has already been documented, through different forms of synthetic ACTH such as tetracosactide (Synacthen®) and cosintropin (Cortrosyn®). The aim of this study was to assess whether doses of 1 or 5 µg/kg are equivalent to the traditional dose of 125 µg/cat in healthy cats using a presentation of recombinant synthetic porcine ACTH (ACTHEL®) administered intravenously. Seven healthy and neutered volunteer cats were included in the study. Each cat received a dose of 1 µg/kg, 5 µg/kg and 125 µg/cat of ACTHEL® intravenously, with a 7-day interval between tests. Blood samples were collected before and one hour after the administration of ACTHEL®, for the measurement of aldosterone, androstenedione, cortisol and progesterone. No dose tested promoted a documentable increase in serum androstenedione concentration. There was a significant difference ( $p = 0.03$ ) between baseline and post-ACTH samples with the administration of 1 µg/kg only regarding to progesterone. The dose of 5 µg/kg promoted a significant increase in adrenal secretion of aldosterone ( $p = 0.01$ ) and progesterone ( $p = 0.01$ ). Regarding the dose of 125 µg/cat, it has promoted a significant increase ( $p = 0.01$ ) in aldosterone, cortisol, and progesterone levels. The comparison of  $\Delta$ -hormones suggests that the dose of 125 µg/cat is more effective in provoking the maximum response of aldosterone, cortisol and progesterone, and the recommended dose should be used to increase the sensitivity of the ACTH stimulation test.*

**Keywords:** Aldosterone; Androstenedione; Cortisol; Progesterone

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Resultados hormonais de aldosterona. A) Comparação entre os valores basais de aldosterona nos diferentes dias de teste de estimulação. B) Comparação entre os valores de  $\Delta$ -aldosterona frente a cada dose de ACTHEL<sup>®</sup> estudada. C-E) Comparação entre os valores basais e pós-ACTH de aldosterona após estímulo com as doses de 1  $\mu\text{g/kg}$ , 5  $\mu\text{g/kg}$  ou 125  $\mu\text{g/gato}$  de ACTHEL<sup>®</sup> .....47

**Figura 2.** Resultados hormonais de androstenediona. A) Comparação entre os valores basais de androstenediona nos diferentes dias de teste de estimulação. B) Comparação entre os valores de  $\Delta$ -androstenediona frente a cada dose de ACTHEL<sup>®</sup> estudada. C-E) Comparação entre os valores basais e pós-ACTH de androstenediona após estímulo com as doses de 1  $\mu\text{g/kg}$ , 5  $\mu\text{g/kg}$  ou 125  $\mu\text{g/gato}$  de ACTHEL<sup>®</sup> -----48

**Figura 3.** Resultados hormonais de cortisol. A) Comparação entre os valores basais de cortisol nos diferentes dias de teste de estimulação. B) Comparação entre os valores de  $\Delta$ -cortisol frente a cada dose de ACTHEL<sup>®</sup> estudada. C-E) Comparação entre os valores basais e pós-ACTH de cortisol após estímulo com as doses de 1  $\mu\text{g/kg}$ , 5  $\mu\text{g/kg}$  ou 125  $\mu\text{g/gato}$  de ACTHEL<sup>®</sup> .....49

**Figura 4.** Resultados hormonais de progesterona. A) Comparação entre os valores basais de progesterona nos diferentes dias de teste de estimulação. B) Comparação entre os valores de  $\Delta$ - progesterona frente a cada dose de ACTHEL<sup>®</sup> estudada. C-E) Comparação entre os valores basais e pós-ACTH de progesterona após estímulo com as doses de 1  $\mu\text{g/kg}$ , 5  $\mu\text{g/kg}$  ou 125  $\mu\text{g/gato}$  de ACTHEL<sup>®</sup> .....50

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH - Hormônio adrenocorticotrófico

ALT - Alanina aminotransferase

ARP - Atividade de renina plasmática

CAP - Concentração de aldosterona plasmática

CBG - Globulina de ligação aos corticosteroides

CIRCI - Síndrome de insuficiência de corticosteroide relacionada à doença crítica

CRH - Hormônio liberador de corticotropina

CYP17 – 17- $\alpha$ -hidroxilase

CV – Coeficiente de variação

DU - Débito urinário

EPA - Eixo pituitário-adrenal

FA - Fosfatase alcalina

FeLV - Vírus da leucemia felina

FIV - Vírus da imunodeficiência felina

HAD – Hiper cortisolismo adrenal-dependente

HAP - Hiper aldosteronismo primário

HPD – Hiper cortisolismo pituitário dependente

HC - Hiper cortisolismo

HPD – Hiper cortisolismo pituitário-dependente

IM – Intramuscular

IV- Intravenosa

LDL - Lipoproteínas de baixa densidade

RAR - Relação aldosterona: renina

RUAC - Razão urinária de aldosterona para creatinina

TSBDD - teste de supressão por baixa dose de dexametasona

*“Onde quer que você esteja, esteja por inteiro.”*

*Eckhart Tolle*



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>8</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>10</b>
<b>2.1 Fisiologia do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.....</b>	<b>10</b>
<b>2.2 Zonas da Adrenal e Esteroidogênese .....</b>	<b>11</b>
<b>2.3 Hiper cortisolismo.....</b>	<b>13</b>
<b>2.4 Neoplasias produtoras de outros hormônios causando hiper cortisolismo ....</b>	<b>17</b>
<b>2.5 Hiper aldosteronismo .....</b>	<b>18</b>
<b>2.6 Hipoadrenocorticismo .....</b>	<b>20</b>
<b>2.7 Insuficiência Corticosteroide Associada à Doença Crítica .....</b>	<b>21</b>
<b>3 ARTIGO .....</b>	<b>24</b>
<b>Resumo.....</b>	<b>25</b>
<b>1. Introdução .....</b>	<b>26</b>
<b>2. Material e Métodos .....</b>	<b>28</b>
2.1 Animais.....	29
2.2 Procedimentos experimentais .....	30
2.3 Ensaios Hormonais .....	31
2.4 Análise estatística .....	32
<b>3. Resultados.....</b>	<b>32</b>
<b>4. Discussão.....</b>	<b>34</b>
<b>5. Conclusão.....</b>	<b>39</b>
<b>Referências Bibliográficas.....</b>	<b>40</b>
<b>Tabela 1.....</b>	<b>47</b>
<b>4 CONCLUSÕES GERAIS .....</b>	<b>52</b>
<b>5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>53</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O teste de estimulação por hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) é um teste de função adrenal, que pode ser utilizado como triagem para o hipercortisolismo e como teste padrão-ouro no diagnóstico de hipoadrenocorticismo. As preparações de ACTH comumente utilizadas incluem extratos naturais da glândula pituitária (ACTH gel; com 39 aminoácidos), polipeptídios sintéticos (tetracosactide; cosintropina) que contêm 1-24 sequências de aminoácidos do ACTH natural (LANDON *et al.*, 1964; FELDMAN; TYRRELL, 1977; FELDMAN *et al.*, 1982) e, recentemente, foi lançada uma apresentação de ACTH porcino sintético recombinante (ACTHEL<sup>®</sup>), mais acessível em termos de distribuição e custo, e validada para uso em cães (FURTADO *et al.*, 2017). Os ACTHs porcino e humano são bastante similares estruturalmente, sendo a única diferença o aminoácido leucina na posição 31 na molécula porcina ao invés do aminoácido serina na molécula humana (RINIKER *et al.*, 1971). Em contrapartida, a molécula de ACTH da espécie felina apresenta um aminoácido valina ao invés de alanina na posição 32 e um aminoácido treonina ao invés de alanina na posição 34 (KEMPPAINEN, 2014). Os ACTHs sintéticos são mais recomendados do que o gel de ACTH para teste do eixo pituitário-adrenocortical, por causa da sua pureza e o potencial reduzido de causar reações adversas, bem como devido ao fato de poder ser administrado por via intravenosa (IV) ou intramuscular (IM) (LANDON *et al.*, 1964; FELDMAN; TYRRELL, 1977; FELDMAN *et al.*, 1982).

O teste de estimulação com ACTH é frequentemente realizado para avaliar a reserva adrenocortical na prática veterinária. Em gatos, tem sido usado principalmente para avaliar a produção adrenocortical de cortisol, progestinas e andrógenos (PETERSON *et al.*, 1989; ROSSMEISL *et al.*, 2000; BOAG *et al.*, 2004; FELDMAN; NELSON, 2004; DECLUE *et al.*, 2005; MILLARD *et al.*, 2009; COHN *et al.*, 2010). Embora os reguladores primários da secreção de aldosterona sejam o sistema renina-angiotensina e a concentração extracelular de potássio, o ACTH atua como um estimulante adicional (GOLDEN *et al.*, 1988; ZIMMER *et al.*, 2000; GOY-THOLLOT *et al.*, 2007). A administração de ACTH exógeno em gatos provoca a secreção de aldosterona e pode ser usada para avaliação da reserva mineralocorticoide adrenal (ZIMMER *et al.*, 2000).

Tradicionalmente, uma dose padrão de cosintropina (125 µg/gato, IV) é usada para o teste de estimulação de ACTH. Um estudo de Peterson & Kemppainen (1993)

documentou que doses menores de cosintropina estimularam a secreção máxima de cortisol em gatos similar à dose de 125 µg/gato.

Evidências emergentes em várias espécies sugerem que o uso de teste de estimulação com baixa dose de ACTH pode ser importante no diagnóstico de graus leves de insuficiência adrenocortical em uma síndrome chamada insuficiência de corticosteroide relacionada a doença crítica - CIRCI (anteriormente conhecida como insuficiência adrenal relativa), e descrita em humanos e pacientes veterinários (ANNANE *et al.*, 2002; MARIK; ZALOGA, 2003; BURKIT *et al.*, 2007; MARTIN *et al.*, 2008). A insuficiência de corticosteroide relacionada à doença crítica é caracterizada pela produção inadequada de cortisol em relação a um aumento da demanda durante a doença crítica e é geralmente definida por uma resposta inadequada à administração de ACTH exógeno (BEISHUIZEN; THIJS, 2001).

Além das utilizações já mencionadas, o teste de estimulação por ACTH também apresenta aplicabilidade no monitoramento do tratamento do hipercortisolismo endógeno com drogas inibidoras da síntese de cortisol como o trilostano, o que acaba representando sua maior utilidade na rotina clínica. As apresentações comerciais de ACTH sintético disponíveis para teste no Brasil são importadas e demasiadamente onerosas, dificultando sua realização de forma mais frequente. Em cães, ao longo dos anos vêm se demonstrando que doses mínimas de ACTH (p.ex. 1 µg/kg) são igualmente eficazes para testes de estimulação destinados ao monitoramento terapêutico, ou diagnóstico de hipercortisolismo (5 µg/kg) (ALDRIDGE *et al.*, 2016). Com relação a espécie felina, a equivalência de uma dose de 5 µg/kg em relação a dose de 125 µg/gato já foi documentada, utilizando diferentes formas de ACTH sintético como o tetracosactide (Synacthen®) e a cosintropina (Cortrosyn®) (DECLUE *et al.*, 2011). Com isso, o custo do teste reduziu significativamente para os tutores, favorecendo sua realização com maior frequência. Apesar disso, ambos Synacthen® e Cortrosyn® são de difícil obtenção e apresentam custos proibitivos para maior parte dos tutores.

A apresentação de ACTH porcino sintético recombinante (ACTHEL®), é mais acessível em termos de distribuição e custo e já foi validada para uso em cães (FURTADO *et al.*, 2017). Dessa forma, a avaliação da eficácia de doses menores do ACTHEL® para realização do teste de estimulação por ACTH em felinos faz-se necessária, e poderá favorecer a realização mais periódica do teste nesses pacientes frente às diferentes aplicações do teste na espécie.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Fisiologia do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal

O hormônio liberador de corticotropina (CRH) secretado pelo hipotálamo através do sistema portal hipofisário exerce controle sobre a secreção de ACTH pela hipófise anterior (*pars distalis*). O ACTH, por sua vez, estimula a secreção adrenocortical de cortisol. O cortisol exerce retroalimentação negativa sobre a secreção dos hormônios hipotalâmicos e hipofisários. Os neurônios secretores de CRH estão localizados na porção anterior dos núcleos paraventriculares hipotalâmicos. O CRH é um polipeptídeo contendo 41 resíduos de aminoácidos, com meia-vida plasmática longa (aproximadamente 60 minutos) (BEHEND, 2015).

O ACTH é um hormônio peptídico de 39 aminoácidos com meia-vida plasmática de aproximadamente 10 minutos. Sua função primária é estimular a secreção de glicocorticoides pelo córtex adrenal. A estimulação da secreção de mineralocorticoide adrenocortical ou de hormônio sexual é menos importante (BEHEND, 2015). Em cães, o CRH controla a liberação de ACTH (KEMPPAINEN; SARTIN, 1987; KEMPPAINEN *et al.*, 1992). A secreção de ACTH é episódica e pulsátil em cães saudáveis e com hipercortisolismo pituitário-dependente (HPD) (KEMPPAINEN; SARTIN, 1984; KOOISTRA *et al.*, 1997). O ritmo circadiano não foi demonstrado de forma convincente, embora um estudo tenha relatado concentrações plasmáticas de ACTH mais altas no final da tarde do que pela manhã (CASTILLO *et al.*, 2009). Muitos tipos de estresse (por exemplo, dor, trauma, hipóxia, hipoglicemia aguda, exposição ao frio, cirurgia e mediadores inflamatórios) também estimulam a secreção de ACTH (STEWART, 2011).

Os efeitos da retroalimentação negativa do cortisol na glândula pituitária para reduzir a secreção de ACTH ocorrem em três domínios de tempo - rápida, intermediária e tardia. A retroalimentação rápida ocorre em minutos em resposta a uma concentração crescente de cortisol. A retroalimentação intermediária ocorre dentro de 30 minutos a três horas de exposição celular aos glicocorticoides e está presente até que a retroalimentação tardia comece, aproximadamente nove horas após a exposição aos glicocorticoides (PHILLIPS; TASHJIAN, 1982; DAYANITHI; ANTONI, 1989; ANTONI; DAYANITHI, 1990). A retroalimentação tardia parece ser mediada principalmente pela supressão da síntese de ambos CRH hipotalâmico e ACTH hipofisário. Além da retroalimentação negativa pela secreção de esteroides adrenais, o ACTH também exerce

um efeito de retroalimentação negativa sobre sua própria secreção (alça curta) (BEHEND, 2015).

Além de ser um fator secretor, o ACTH é também um hormônio trófico para as zonas fasciculada e reticulada. Sua ação no córtex adrenal leva à rápida síntese e secreção de cortisol e andrógenos, aumentando a concentração de cortisol plasmático em poucos minutos. A estimulação adrenocortical crônica por concentrações elevadas de ACTH promove hiperplasia e hipertrofia; inversamente, a deficiência de ACTH resulta em atrofia adrenocortical e diminuição da esteroidogênese. Mediadores inflamatórios (por exemplo, interleucina-1, interleucina-6 e fator de necrose tumoral- $\alpha$ ) aumentam a secreção de ACTH diretamente ou aumentando o efeito do CRH (STEWART, 2011).

## **2.2 Zonas da Adrenal e Esteroidogênese**

A glândula adrenal é composta por dois compartimentos anatômicos e funcionalmente distintos: o córtex e a medula. O córtex da adrenal é o principal local de síntese dos hormônios esteroides glicocorticoides e mineralocorticoides em vertebrados (VINSON, 2009). Esses hormônios são indispensáveis para o desenvolvimento e fisiologia dos mamíferos. Outros esteroides produzidos pelo córtex adrenal incluem os estrogênios, progestágenos e andrógenos (MIDZAK; PAPADOPOULOS, 2014).

A medula adrenal é inervada com células cromafins e desempenha um papel fundamental na síntese de catecolaminas e na resposta ao sistema nervoso simpático (KVETNANSKY *et al.*, 2009), enquanto o córtex contém as células esteroidogênicas, responsáveis pela contribuição da adrenal para o sistema endócrino (MILLER, 2013). O córtex adrenal é ainda histologicamente dividido em três camadas concêntricas: a zona glomerulosa, a zona fasciculada e a zona reticular (BEHEND, 2015).

A zona glomerulosa é deficiente na atividade de 17- $\alpha$ -hidroxilase (CYP17), tornando-a incapaz de produzir cortisol e hormônios sexuais. Em contraste, apenas as células nessa zona contêm a enzima necessária para sintetizar a aldosterona (BEHEND, 2015). Essa funciona como parte do eixo endócrino renina-angiotensina-aldosterona e contribui para o equilíbrio eletrolítico do organismo (SPÄT; HUNYADY, 2004). Em resposta ao peptídeo angiotensina-II, ou ao aumento das concentrações plasmáticas de potássio, as células da zona glomerulosa secretam aldosterona. A aldosterona, um mineralocorticoide, por sua vez, promove a retenção de sódio e água, bem como a excreção de potássio pelo rim (ROSSIER *et al.*, 2015).

A camada intermediária, a zona fasciculada, funciona como uma unidade com a camada mais interna, a zona reticular. A zona fasciculada, entretanto, secreta principalmente glicocorticoides, e a zona reticular secreta principalmente hormônios sexuais. Devido à presença de 17- $\alpha$ -hidroxilase, ambas as zonas podem sintetizar 17- $\alpha$ -hidroxi-pregnenolona e 17- $\alpha$ -hidroxi-progesterona, precursores do cortisol e hormônios sexuais (BEHEND, 2015).

O córtex adrenal é rico em receptores que internalizam as lipoproteínas de baixa densidade (LDL). O colesterol livre liberado do LDL serve como composto inicial na esteroidogênese, embora o colesterol também seja sintetizado a partir do acetato dentro da glândula. As enzimas do citocromo P-450 são responsáveis pela maioria das conversões enzimáticas do colesterol para os hormônios esteroides. A diferença na produção de hormônios entre as zonas está relacionada a diferenças em duas enzimas do citocromo P-450. A enzima aldosterona sintase do citocromo P-450 mitocondrial, que converte a desoxicorticosterona via corticosterona em aldosterona, só é encontrada na zona glomerulosa. A enzima característica nas outras duas zonas é o citocromo P-450c17 microsomal (17 $\alpha$ -hidroxilase/17,20-liase), que catalisa a 17 $\alpha$ -hidroxilação de pregnenolona e progesterona. As outras enzimas esteroidogênicas ocorrem nas três zonas (MIDZAK e PAPADOPOULOS, 2016).

As células esteroidogênicas não podem armazenar os hormônios que, portanto, são secretados imediatamente após a biossíntese. Cortisol, 11-desoxicortisol, corticosterona, 11-desoxicorticosterona e aldosterona são derivados inteiramente da secreção adrenocortical, enquanto os outros esteroides são derivados de uma combinação de fontes adrenocorticais e gonadais (GALAC *et al.*, 2010).

Após a secreção, os hormônios adrenocorticais são amplamente ligados às proteínas plasmáticas. Aproximadamente 75% do cortisol no plasma está ligado com alta afinidade à globulina de ligação aos corticosteroides (GBC). Em torno de 12% do cortisol total no sangue está ligado com baixa afinidade à albumina e aos eritrócitos. Apenas a fração livre, em cães estimada em 6 a 14% (KEMPPAINEN *et al.*, 1991; MEYER; ROTHUIZEN, 1993; GAYRARD *et al.*, 1996) é biologicamente ativa. No entanto, a quantidade de hormônio potencialmente disponível para os tecidos é determinada pela combinação das frações livres e ligadas, porque essas frações estão em equilíbrio. Andrógenos e aldosterona são predominantemente ligados com baixa afinidade com a albumina (GALAC *et al.*, 2010).

### 2.3 Hiperadrenocortisolismo

Embora o termo "hiperadrenocortisolismo" se refira à superprodução de hormônios adrenocorticais, na medicina veterinária é normalmente usado para descrever o hiperadrenocortisolismo (síndrome de Cushing) (BOLAND; BARRS, 2017). O hiperadrenocortisolismo espontâneo (HC) é uma consequência do aumento anormal da atividade funcional do córtex adrenal. Ao contrário do HC canino, o HC em gatos é um distúrbio endócrino relativamente incomum, com pouco mais de 180 casos relatados na literatura veterinária. Aproximadamente 80% dos casos felinos são HPD enquanto cerca de 20% dos casos são de hiperadrenocortisolismo adrenal-dependente (HAD). Os carcinomas representam uma minoria de casos em geral, uma vez que pelo menos 90% dos casos de HPD e 50-60% dos casos de HAD são causados por adenomas (ELLIOTT *et al.*, 2000; MEIJ *et al.*, 2001; SKELLY *et al.*, 2003; MEIJ *et al.*, 2004; NEIGER *et al.*, 2004; MEIJ *et al.*, 2005; MAYER *et al.*, 2006; FRACASSI *et al.*, 2007; KLEY *et al.*, 2007; SELTON *et al.*, 2009; CALSYN *et al.*, 2010; BENCHEKROUN *et al.*, 2012; CROSS *et al.*, 2012; SHARMAN *et al.*, 2013; SWIFT *et al.*, 2013; BROWN *et al.*, 2012; KIMITSUKI *et al.*, 2014; VALENTIN *et al.*, 2014; DANIEL *et al.*, 2015; FELDMAN, 2015).

O HPD resulta da secreção autônoma de ACTH por neoplasias que surgem de células corticotróficas da *pars distalis* (mais comumente) ou *pars intermediaria*. Essas estimulam a produção excessiva de cortisol do córtex adrenal e causam hiperplasia adrenocortical bilateral. HAD é geralmente secundário à produção autônoma de cortisol por neoplasias do córtex adrenal (BOLAND; BARRS, 2017).

Os sinais clínicos comumente relatados e achados do exame físico são polidipsia e poliúria, hepatomegalia e aumento de volume abdominal, polifagia, alopecia, atrofia e fragilidade da pele (lacerações), pelagem mal cuidada, perda de massa muscular, fraqueza/postura plantígrada, perda de peso, letargia, e ocasionalmente, ganho de peso (IMMINK *et al.*, 1992; WHATSON; HERRTAGE, 1998; ROCCABIANCA *et al.*, 2006; FRACASSI *et al.*, 2007; BENCHEKROUN *et al.*, 2012; BROWN *et al.*, 2012; COMBES *et al.*, 2012; CROSS *et al.*, 2012; MELLETT *et al.*, 2013; KIMITSUKI *et al.*, 2014; VALENTIN *et al.*, 2014; FELDMAN, 2015).

Os sinais clínicos se sobrepõem a outras doenças (por exemplo, diabetes mellitus), e os primeiros sinais podem ser sutis (FELDMAN, 2015). A polidipsia e a poliúria podem resultar de comorbidades, tais como diabetes mellitus, doença renal crônica (DRC) ou

hipertireoidismo. A polifagia foi relatada em gatos não diabéticos com HC (IMMINK *et al.*, 1992; WHATSON; HERRTAGE, 1998; VALENTIN *et al.*, 2014).

O HC causa atrofia e redução da elasticidade da pele, resultando em veias subcutâneas proeminentes e pele frágil e fina. Lacerações na pele após um pequeno trauma, manuseio de rotina ou até mesmo higiene são complicações comuns. A alopecia é tipicamente bilateralmente simétrica, pode envolver as regiões torácica, ventral abdominal, flanco e membros, e pode ser irregular ou generalizada. A falha no crescimento do pelo após tricotomia é comum (WHATSON; HERRTAGE, 1998; BROWN *et al.*, 2012; FELDMAN, 2015). Os vasos sanguíneos se tornam mais friáveis e reduz a resposta fibrosa à lesão, o que pode produzir hematomas excessivos, retardo na cicatrização de feridas e fragilidade dos ligamentos e tendões (MEIJ *et al.*, 2001; FELDMAN, 2015).

A perda de peso por diabetes mellitus concomitante é comum. A perda de massa muscular, devido ao aumento do catabolismo proteico, é generalizada ou envolve a musculatura lombar e contribui para a perda de peso. Embora comum, a perda de peso pode não ser aparente para os proprietários por causa da distensão abdominal resultante de hepatomegalia, deposição de gordura abdominal e perda da musculatura abdominal. Dependendo do equilíbrio desses fatores, gatos com HC ocasionalmente ganham peso ao invés de perder (WHATSON; HERRTAGE, 1998).

Os achados hematológicos em gatos com HC podem ser normais ou podem revelar componentes de um leucograma de "estresse por glicocorticoides" (neutrofilia madura leve a moderada, linfopenia, eosinopenia e / ou monocitose) (IMMINK *et al.*, 1992; WHATSON; HERRTAGE, 1998; FRACASSI *et al.*, 2007; MELLETT *et al.*, 2013; KIMITSUKI *et al.*, 2014; CROSS *et al.*, 2012; FELDMAN, 2015). Em contraste com cães com HC, elevações na alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (FA) são muito menos frequentes em gatos. Uma vez que os gatos não possuem a isoenzima de FA induzida por glicocorticoides, aumentos na atividade de FA ocorrem secundariamente ao diabetes mellitus ou outras doenças concomitantes. A hipercolesterolemia é comum, mas não tão frequente quanto no HC canino (IMMINK *et al.*, 1992; NEIGER *et al.*, 2004; MELLETT *et al.*, 2013; SHARMAN *et al.*, 2013; VALENTIN *et al.*, 2014, FELDMAN, 2015).

A urinálise tipicamente revela glicosúria em gatos com diabetes mellitus concomitante. Ao contrário dos cães, a maioria dos gatos com HC têm densidade urinária (DU) maior que 1,020. A glicosúria também pode causar um ligeiro aumento na DU.



Proteinúria (não quantificada) foi relatada em alguns gatos (SHARMAN *et al.*, 2013; KIMITSUKI *et al.*, 2014; FRACASSI *et al.*, 2007; CROSS *et al.*, 2012; SHARMAN *et al.*, 2013; BROWN *et al.*, 2014; VALENTIN *et al.*, 2014; FELDMAN, 2015).

O teste de supressão por baixa dose de dexametasona (TSBDD) é indiscutivelmente o melhor teste de triagem inicial para HC devido à sua alta sensibilidade, apesar da baixa especificidade. Em animais saudáveis, a secreção hipotalâmica do hormônio liberador de corticotropina é suprimida por pelo menos 24 horas, suprimindo assim a secreção hipofisária de ACTH e a secreção adrenal de cortisol. No entanto, 10-20% dos gatos saudáveis não conseguem demonstrar supressão ao usar o mesmo protocolo que para cães (0,01 mg/kg, IV e mensuração de cortisol sérico em 0, 4 e 8h) (PETERSON; GRAVES, 1988; KLEY *et al.*, 2007; MELLETT *et al.*, 2013; VALENTIN *et al.*, 2014). Assim, para aumentar a especificidade do teste, o protocolo TSBDD em gatos envolve a administração de uma dose 10 vezes maior de dexametasona (0,1 mg/kg, IV) (ZIMMER *et al.*, 2000; NEIGER *et al.*, 2004; MELLETT *et al.*, 2013). Gatos com HC são resistentes à supressão hipofisária da administração de dexametasona e geralmente têm concentração de cortisol de 8 horas acima do intervalo de referência.

A consequência indireta do aumento da especificidade do TSBDD em gatos com a dose de 0,1 mg/kg é a redução na sensibilidade (FELDMAN, 2015), e ocasionalmente, gatos com HC apresentam resultados de teste normais no TSBDD. Neste caso, em gatos com sinais clínicos altamente compatíveis com HC, o diagnóstico deve ser realizado por meio de testes alternativos como o teste de estimulação por ACTH (KLEY *et al.*, 2007).

O teste de estimulação com ACTH é normalmente realizado pela administração de 5 µg/kg ou 125 µg/gato de tetracosactida ou cosintropina (apresentações de ACTH sintético) IV, com mensuração de cortisol sérico em 0 e 60 minutos (ZERBE *et al.*, 1987; SPARKES *et al.*, 1990; PETERSON; KEMPPAINEN, 1992; PETERSON; KEMPPAINEN, 1993; SCHOEMAN *et al.*, 2000; DECLUE *et al.*, 2011). Gatos saudáveis não apresentam aumento da concentração sérica de cortisol acima do intervalo de referência. No entanto, apenas um terço dos gatos com HC apresenta resultados de teste positivos (WATSON; HERRTAGE, 1998; SCHOEMAN *et al.*, 2000; FRACASSI *et al.*, 2007; MELLETT *et al.*, 2013; VALENTIN *et al.*, 2014; FELDMAN, 2015). Assim, com sua baixa sensibilidade, e especificidade apenas moderada (devido a resultados positivos em alguns gatos com doença não adrenal), o teste de estimulação com ACTH

não é adequado como teste de primeira linha para o diagnóstico inicial (VALENTIN *et al.*, 2014).

O tratamento médico do HC é realizado atualmente com trilostano, um medicamento inibidor da esteroidogênese administrado por via oral duas vezes por dia. O trilostano é um esteroide sintético que inibe competitivamente a 3- $\beta$ -hidroxiesteroide desidrogenase. Esta enzima permite a conversão de pregnenolona e 17- $\alpha$ -hidroxi-pregnenolona em progesterona e 17- $\alpha$ -hidroxi-progesterona (BOLAND; BARRS, 2017).

Na espécie canina, o monitoramento da terapêutica com este fármaco é realizado com testes de estimulação com ACTH, duas horas após a administração do trilostano (ALDRIDGE *et al.*, 2016). Contudo, devido à escassez de casos de hipercortisolismo na espécie felina e o advento da terapia com trilostano em gatos ser relativamente recente, não há consenso sobre o melhor horário para a realização do teste em felinos com HC em tratamento com trilostano, sugerindo-se aplicar as mesmas recomendações feitas para espécie canina (BOLAND; BARRS, 2017). Aldridge e colaboradores (2016) compararam duas doses de cosintropina (1  $\mu$ g/kg e 5  $\mu$ g/kg, via intravenosa) em cães suspeitos de HC e em cães com HC confirmado tratados com mitotano e trilostano. Nos cães tratados, as duas doses foram farmacologicamente equivalentes, já nos cães suspeitos de HC, não houve essa equivalência. Concluiu-se que para cães suspeitos de HC continua sendo recomendada a dose de 5  $\mu$ g/kg via intravenosa para o teste de estimulação por ACTH. Para cães em tratamento, a dose de 1  $\mu$ g/kg pode ser utilizada.

Embora considerados incomuns, casos de HC iatrogênico são documentados em gatos e podem ser sub reconhecidos. A maioria dos relatos envolve gatos tratados com corticosteroides em longo prazo ou em altas doses, incluindo prednisolona, acetato de metilprednisolona, triancinolona e dexametasona. Os sinais clínicos e os achados patológicos clínicos são iguais aos do HC espontâneo (SCHAER; GINN, 1999; FERASIN, 2001; LIEN *et al.*, 2016). Nestes casos, o teste de estimulação com ACTH é considerado o teste de eleição para demonstrar a falta de resposta adrenocortical ao estímulo. Seria de se esperar que os níveis de ACTH endógeno fossem baixos nesses casos (SCHAER; GINN, 1999). A redução gradual dos corticosteroides é recomendada, com a resolução das anormalidades ocorrendo normalmente em algumas semanas a meses (SCHAER; GINN, 1999; FERASIN, 2001).

## 2.4 Neoplasias produtoras de outros hormônios causando hipercortisolismo

O HC também pode ocorrer secundariamente a neoplasias hipofisárias, ou principalmente neoplasias adrenais que secretam outros hormônios com atividade semelhante aos glicocorticoides; por exemplo, hormônio estimulador de alfa-melanócitos ( $\alpha$ -MSH) pela hipófise, ou progesterona, estradiol, testosterona, androstenediona e  $17\alpha$ -hidroxi-progesterona por tumores adrenocorticais (BOLAND; BARRS, 2017).

Tumores adrenocorticais podem secretar outros hormônios, ou seus intermediários, com atividade glicocorticoide (por exemplo, progesterona), tanto isoladamente ou em combinação com outros esteroides sexuais e/ou aldosterona (ROSSMEISL *et al.*, 2000; BOAG *et al.*, 2004; FELDMAN; NELSON, 2004; DECLUE, 2005; BRISCOE *et al.*, 2009; MILLARD, 2009; MELER *et al.*, 2011; DANIEL *et al.*, 2015; FELDMAN, 2015; GUERIOS *et al.*, 2015; SUMNER *et al.*, 2019). Embora incomum em geral, os tumores produtores de esteroides sexuais parecem ser relativamente mais comuns em gatos do que em cães (BOLAND; BARRS, 2017).

A progesterona é um hormônio precursor de andrógenos, estrógenos, aldosterona e cortisol. Um tumor secretor de aldosterona também pode secretar níveis aumentados de intermediários de aldosterona, como a progesterona (DECLUE, 2005; BRISCOE *et al.*, 2009; GUERIOS *et al.*, 2015; LESHINSKY *et al.*, 2016). A progesterona compete com o cortisol pela proteína de ligação ao cortisol e com andrógenos e estrogênios pela proteína de ligação ao hormônio sexual. A progesterona elevada pode, portanto, resultar em níveis elevados de cortisol e hormônios sexuais livres (BOLAND; BARRS, 2017). Os progestágenos também são agonistas fracos dos receptores glicocorticoides e têm efeitos supressivos de longa duração no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Sua atividade antagonista da insulina intrínseca pode contribuir para o diabetes mellitus concomitante (BOLAND; BARRS, 2017). Outros hormônios produzidos pela glândula adrenal também podem ter atividade glicocorticoide intrínseca e afinidade para receptores de glicocorticoides e proteínas de ligação ao cortisol (BOLAND; BARRS, 2017).

Dependendo dos hormônios secretados pelo tumor, os gatos afetados podem desenvolver sinais clínicos semelhantes ao HC, e alguns podem ter sinais clínicos simultâneos de hiperaldosteronismo, como polimiopatia hipocalêmica e hipertensão (ROSSMEISL *et al.*, 2000; DECLUE *et al.*, 2005; BRISCOE *et al.*, 2009; FELDMAN, 2015; LESHINSKY *et al.*, 2016). Nessas situações, o emprego do termo

hiperadrenocorticismo pode ser mais adequada, no entanto, em alguns gatos, os sinais clínicos podem ser atribuídos predominantemente a um hormônio, apesar da documentação da hipersecreção de diversos hormônios (LESHINSKY *et al.*, 2016).

Nos casos de gatos com quadros de HC associado a produção exagerada de hormônios sexuais pelas adrenais, normalmente a mensuração basal destes hormônios é suficiente para demonstrar a hipersecreção, sendo menos importante a documentação de resposta exagerada após estímulo por ACTH. Tradicionalmente, a dose padrão de ACTH sintético (cosintropina ou tetracosactide) recomendada é de 5 µg/kg ou de 125 µg/gato, administrado preferencialmente por via intravenosa (BOLAND; BARRS, 2017), e coletas de sangue realizadas imediatamente antes da aplicação do ACTH, e após uma hora para mensuração hormonal pós-estimulação (ZERBE *et al.*, 1987; SPARKES *et al.*, 1990; PETERSON; KEMPPAINEM, 1992; PETERSON; KEMPPAINEM, 1993; SCHOEMAN *et al.*, 2000; DECLUE *et al.*, 2011).

Superprodução de esteroides sexuais sem efeitos glicocorticoides também foi relatada, resultando em sinais clínicos de estro ou desenvolvimento de características sexuais secundárias masculinas (físicas e comportamentais) em animais castrados; por exemplo, borrifar urina, agressão, espessamento da pele e espinhos no pênis (BOAG *et al.*, 2004; MILLARD *et al.*, 2009; MELER *et al.*, 2011; MITCHELL *et al.*, 2016; SUMNER *et al.*, 2019; RECHE JUNIOR *et al.*, 2021).

Estes pacientes geralmente apresentam níveis baixos de cortisol sérico nos testes de estimulação com ACTH, apesar dos sinais clínicos sugestivos de HC (ROSSMEISL *et al.*, 2000; DECLUE *et al.*, 2005; MILLARD *et al.*, 2009; LESHINSKY *et al.*, 2016). Os mecanismos propostos incluem a supressão de enzimas dentro do tumor necessárias para converter progesterona ou estradiol em cortisol, excesso de cortisol livre sérico (devido ao deslocamento da proteína de ligação ao cortisol) resultando na supressão do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, ou supressão da expressão de receptores ACTH nas células neoplásicas (BRISCOE *et al.*, 2009).

## **2.5 Hiperaldosteronismo**

O hiperaldosteronismo primário (HAP), também conhecido como síndrome de Conn, é outro distúrbio adrenocortical descrito em gatos, e caracterizado por secreção excessiva e autônoma de mineralocorticoides, principalmente aldosterona, por hiperplasia

nodular bilateral ou neoplasia da zona glomerulosa de uma ou ambas as adrenais (GALAC *et al.*, 2010). O aumento da concentração plasmática de aldosterona pode levar à hipertensão arterial sistêmica e/ou hipocalemia, resultando em sinais oculares e polimiopatia hipocalêmica, respectivamente (FERNANDEZ *et al.*, 2016).

Embora seja uma doença incomum, ainda é considerada a doença adrenocortical mais prevalente em gatos (DJAJADININGRAT-LAANEN *et al.*, 2011). Acredita-se que seja uma doença subdiagnosticada, como acontece em pacientes humanos. As possíveis explicações são que a hipocalemia e/ou hipertensão arterial sistêmica às vezes estão associadas à doença renal crônica e nenhum outro diagnóstico diferencial é considerado. No entanto, a doença renal crônica progressiva pode ser uma consequência do HAP (JAVADI *et al.*, 2005). Além disso, a aferição da pressão arterial nem sempre é realizada rotineiramente em gatos saudáveis ou doentes, e a hipertensão arterial sistêmica e a hipocalemia podem ser tratadas clinicamente com sucesso, sem investigar a doença subjacente (DJAJADININGRAT-LAANEN *et al.*, 2011; FERNANDEZ *et al.*, 2016).

Em pacientes humanos e felinos, a proporção da concentração de aldosterona plasmática (CAP) para a atividade de renina plasmática (ARP) (relação aldosterona: renina [RAR]) é usada para rastrear a regulação anormal da produção de aldosterona (JAVADI *et al.*, 2004; JAVADI *et al.*, 2005). Em gatos com neoplasias da zona glomerulosa unilateral ou bilaterais, a CAP pode ser muito alta e a ARP geralmente é completamente suprimida. Em gatos com hiperplasia nodular bilateral idiopática da zona glomerulosa, a CAP pode estar apenas ligeiramente elevada ou próxima do limite superior do intervalo de referência. Como a hipocalemia é o fator predominante na redução da CAP, a concentração plasmática de potássio deve ser considerada na avaliação. Na presença de hipocalemia, mesmo um nível de aldosterona levemente elevada pode ser considerado inadequadamente alto. A ARP também deve ser levada em consideração. A combinação de uma CAP normal alta ou elevada e uma ARP baixa indica síntese persistente de aldosterona na presença de pouca ou nenhuma estimulação pelo sistema renina-angiotensina (DJAJADININGRAT-LAANEN *et al.*, 2011).

O ACTH estimula a produção de aldosterona e pode ser utilizado para avaliar a produção de mineralocorticoide adrenal (ZIMMER *et al.*, 2000). ACTH exógeno provoca aumento na secreção de aldosterona, e uma dose intravenosa recomendada de 125 µg de ACTH por gato tem sido usada, seguida pela coleta de amostra de sangue 60 a 75 minutos após a administração do hormônio (DECLUE *et al.*, 2011).

O mineralocorticoide fludrocortisona promove a retenção de sódio e água e, portanto, induz a expansão do volume sanguíneo. O teste de supressão com fludrocortisona, em gatos com regulação normal da aldosterona, deve levar à supressão da liberação de renina e aldosterona. Em contraste, os gatos que são refratários à supressão da aldosterona demonstram, provavelmente, HAP. Medir a razão urinária de aldosterona para creatinina (RUAC) antes e após 4 dias de administração de fludrocortisona é um método eficaz para confirmação do HAP em gatos, e de excluir essa possibilidade em gatos com ARR dentro do intervalo de referência (DJAJADININGRAT-LAANEN *et al.*, 2013).

## 2.6 Hipoadrenocorticismo

O hipoadrenocorticismo primário (síndrome de Addison) resulta da destruição de mais de 90% do córtex adrenal. Os sinais clínicos são devido à deficiência de cortisol e aldosterona na maioria dos pacientes, embora alguns pacientes apresentem apenas sinais de deficiência de cortisol (hipoadrenocorticismo “atípico”) (LATHAN, 2020). É uma condição rara em gatos, com menos de 60 casos relatados na literatura (PETERSON *et al.*, 1989; TASKER *et al.*, 1999; REDDEN, 2005; HOCK, 2011; KASABALIS *et al.*, 2012; SICKEN; NEIGER, 2013; WOOLCOCK; WARD, 2015; GIUDICE *et al.*, 2016; TARDO *et al.*, 2021). A maioria dos casos é idiopática, mas suspeita-se que se deva à destruição imunomediada do córtex adrenal (STONEHEWER; TASKER, 2001; GRECO, 2007; SCOTT-MONCRIEFF, 2010; LATHAN, 2020). Infiltração neoplásica nas glândulas adrenais especialmente por linfoma (FELDMAN; NELSON, 2004; GUNN-MOORE, 2005; LATHAN, 2020) e trauma abdominal também foram relatados como causadores de hipoadrenocorticismo em gatos (LATHAN, 2020).

O hipoadrenocorticismo secundário pode ser devido a um distúrbio congênito ou pode resultar de lesões destrutivas da hipófise ou hipotálamo, incluindo neoplasia, inflamação (RUNDISKY *et al.*, 2015). Ocasionalmente, o hipoadrenocorticismo secundário pode ser iatrogênico, causado pela descontinuação abrupta de medicamentos glicocorticoides, ou após a administração de progestágenos (STONEHEWER; TASKER, 2001). Foi demonstrado que as doses terapêuticas de acetato de megestrol suprimem a resposta do cortisol plasmático ao ACTH, resultando em atrofia do córtex adrenal em gatos (GUNN-MOORE, 2005).

Os sinais clínicos observados com hipoadrenocorticismo são frequentemente muito vagos no gato. Os achados mais comuns são letargia, prostração, fraqueza, tremores, disorexia, perda de peso, desidratação, hipotermia, colapso, pulso fraco e bradicardia. Outros achados menos comuns em gatos incluem vômitos, dor abdominal, poliúria e polidipsia (PETERSON *et al.*, 1989; GUNN-MOORE, 2005; GRECO, 2007; SICKEN; NEIGER, 2013).

Como os sinais clínicos são similares a outras doenças, a síndrome de Addison muitas vezes passa despercebida na apresentação inicial. Os diagnósticos diferenciais comuns incluem insuficiência renal, gastroenterite, cetoacidose diabética, pancreatite e choque séptico. Por esse motivo, testes diagnósticos são necessários para confirmar a presença de hipoadrenocorticismo e para excluir outros distúrbios que causam sinais semelhantes. Um diagnóstico definitivo de hipoadrenocorticismo requer a demonstração de reserva adrenal inadequada por meio do teste de estimulação com ACTH, que é considerado o padrão-ouro para este diagnóstico. Uma vez que o teste avalia somente concentrações de cortisol, não é possível diferenciar a origem da insuficiência adrenal (primária ou secundária). A avaliação da concentração de ACTH endógeno pode ajudar a fazer esta distinção, pois animais com hipoadrenocorticismo primário têm níveis elevados de ACTH endógeno, enquanto animais com hipoadrenocorticismo secundário têm concentração de ACTH endógeno muito baixa (GUNN-MOORE, 2005; SCOTT-MONCRIEFF, 2010, TARDO *et al.*, 2021).

## **2.7 Insuficiência Corticosteroide Associada à Doença Crítica**

A estimulação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), resultando em um nível plasmático elevado de cortisol, é uma das reações hormonais mais importantes a agressões graves, como trauma, sepse ou cirurgias de grande porte. O cortisol tem papel vital na manutenção do tônus vascular normal, na permeabilidade vascular e na distribuição da água corporal total, além de potencializar a ação vasoconstritora das catecolaminas (BEISHUIZEN; THUIS, 2001).

A síndrome de insuficiência de corticosteroide relacionada à doença crítica (CIRCI), anteriormente conhecida como insuficiência adrenal relativa, é definida como uma disfunção endócrina em pacientes criticamente enfermos, resultando em atividade de cortisol inadequada para a gravidade existente da doença. Clinicamente o quadro se

caracteriza principalmente por hipotensão refratária a administração de fluidos e de fármacos vasopressores adequadamente administrados (ANNANE *et al.*, 1998; MARTIN, 2011; CREEDON, 2015). O quadro pode resultar de alterações em um ou mais níveis do eixo HPA, além de vias do metabolismo dos glicocorticoides, ou diminuição da sensibilidade periférica dos receptores teciduais de glicocorticoides (SCHROEDER *et al.*, 2001; MARIK *et al.*, 2008; DE JONG *et al.*, 2015, PEETERS *et al.*, 2015). No entanto, sua fisiopatologia multifatorial é apenas parcialmente compreendida, e não há consenso absoluto quanto aos critérios para o diagnóstico de CIRCI em medicina humana ou veterinária. A campanha *Surviving Sepsis* recomenda considerar um paciente como afetado por CIRCI se o choque resistente a vasopressores responder à suplementação com hidrocortisona (DELLINGER *et al.*, 2013).

Os relatos de CIRCI na literatura veterinária são limitados a relatos de casos raros e avaliação do eixo HPA em pequenos grupos de animais criticamente enfermos. Na maioria das publicações veterinárias, a avaliação do comprometimento do eixo HPA foi baseada nos valores do delta cortisol (a diferença nas concentrações de cortisol antes e após a administração de ACTH) (BURKIT, 2015). No entanto, como CIRCI pode resultar de diferentes aspectos do comprometimento do eixo HPA, os níveis de cortisol basal podem estar acima ou nos intervalos de referência e ser insuficientes para atender às necessidades do paciente (MARIK *et al.*, 2008; CREEDON, 2015).

Em um estudo, cães com trauma grave, sepse ou vôlvo de dilatação gástrica apresentaram valores reduzidos de  $\Delta$ -cortisol em comparação com os controles. Além disso, cães com valores mais reduzidos de  $\Delta$ -cortisol foram mais propensos a receber vasopressores (MARTIN *et al.*, 2008). Em outro estudo, tanto a hipotensão quanto a diminuição da sobrevivência foram associadas a valores mais baixos de delta cortisol em cães sépticos (BURIK *et al.*, 2007). No estudo realizado por Jericó *et al.* (2020), a função do eixo HPA foi avaliada em 10 cães controle e em 16 cães portadores de doenças críticas, por meio de determinações de ACTH endógeno, cortisol basal e cortisol após estímulo com baixa dose de ACTH sintético (1 $\mu$ g/kg, IV). A dose de ACTH testada se mostrou eficaz para avaliação da função adrenal em cães saudáveis e doentes. Apesar de uma parcela de cães críticos estudados, em especial com sepse, ter apresentado evidências de resposta corticosteroide inadequada frente ao estresse, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos para os resultados de ACTH endógeno, cortisol após estimulação ou  $\Delta$ -cortisol (JERICÓ *et al.*, 2020). Na espécie felina, faltam estudos



avaliando a CIRCI, avaliação do eixo HPA através do teste de estimulação por ACTH, bem como resposta a terapia.

### 3 ARTIGO

O material e os métodos, resultados e discussão do presente estudo serão apresentados na forma de artigo científico editado para submissão para a revista *Domestic Animal Endocrinology*.

**Avaliação da eficácia e segurança de diferentes doses de hormônio  
adrenocorticotrófico suíno recombinante para teste de estimulação adrenal em  
gatos**

Lopes DJ<sup>a</sup>, De Jesus L<sup>a</sup>, Rivas BB<sup>a</sup>, De Oliveira MC<sup>b</sup>, Poppl AG<sup>c\*</sup>

<sup>a</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brasil.

<sup>b</sup> Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brasil

<sup>c</sup> Departamento de Medicina Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brasil.

\*Autor para correspondência. Tel: +5551 99668-4995

Endereço de e-mail: gomespoppl@hotmail.com

**Resumo**

O teste de estimulação com o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) é utilizado para avaliação da reserva adrenal na Medicina e Medicina Veterinária. Em gatos, a equivalência de uma dose de 5 µg/kg em relação a dose de 125 µg/gato já foi documentada, utilizando diferentes formas de ACTH sintético como o tetracosactide (Synacthen<sup>®</sup>) e a cosintropina (Cortrosyn<sup>®</sup>). O objetivo desse trabalho foi de avaliar se as doses de 1 µg/kg ou 5 µg/kg apresentam equivalência com a dose tradicional de 125 µg/gato em gatos saudáveis utilizando uma apresentação de ACTH porcino sintético recombinante (ACTHEL<sup>®</sup>) administrado pela via intravenosa. Sete gatos saudáveis e castrados, quatro machos e três fêmeas, com idade média de 4 anos e meio, e peso médio de 4,2kg. Cada gato recebeu a dose de 1 µg/kg, 5 µg/kg e 125 µg/gato de ACTHEL<sup>®</sup> via

endovenosa, com 7 dias de intervalo entre os testes. Amostras de sangue foram coletadas antes e uma hora após a administração do ACTHEL<sup>®</sup> para dosagem de aldosterona, androstenediona, cortisol e progesterona. Nenhuma dose testada promoveu aumento documentável na concentração sérica de androstenediona. Houve diferença significativa ( $p = 0,03$ ) entre as amostras basais e pós-ACTH com a administração de 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  apenas com relação à progesterona. A dose de 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  promoveu aumento significativo da secreção adrenal de aldosterona ( $p = 0,01$ ) e progesterona ( $p = 0,01$ ). Com relação a dose de 125  $\mu\text{g}/\text{gato}$ , esta promoveu elevação significativa ( $p = 0,01$ ) da concentração de aldosterona, cortisol e progesterona. A comparação dos  $\Delta$ -hormonais, sugere que a dose de 125  $\mu\text{g}/\text{gato}$  é mais efetiva em provocar a resposta máxima de aldosterona, cortisol e progesterona, devendo ser a dose preconizada para aumentar a sensibilidade do teste de estimulação por ACTH como teste diagnóstico. No entanto, as doses de 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  e de 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  podem ser interessantes na investigação de síndrome de insuficiência adrenal relativa do paciente crítico.

**Palavras-chave:** Aldosterona; Androstenediona; Cortisol; Progesterona

## 1. Introdução

O teste de estimulação com ACTH é comumente aplicado para avaliar a reserva adrenocortical na prática clínica. Em gatos, é usado principalmente para avaliar a produção adrenocortical de cortisol, progesterona e andrógenos [1-7]. Embora os reguladores primários da secreção de aldosterona sejam o sistema renina-angiotensina e a concentração extracelular de potássio, o ACTH atua como um estimulante adicional [8-10], assim, a administração de ACTH exógeno em gatos provoca aumento na secreção de aldosterona, e é útil na avaliação da função mineralocorticoide adrenal [9].

As preparações de ACTH comumente utilizadas incluem extratos naturais da glândula pituitária (ACTH gel; com 39 aminoácidos), polipeptídios sintéticos (tetracosactide ou cositropina) que contém 1-24 sequências de aminoácidos do ACTH natural [11-13] e, recentemente, foi lançada uma apresentação de ACTH porcino sintético recombinante (ACTHEL<sup>®</sup>) previamente validada para uso em cães [14]. Os ACTHs sintéticos são mais recomendados do que o gel de ACTH para teste do eixo pituitário-adrenocortical, devido a sua pureza e potencial reduzido de reações adversas, bem como devido ao fato de poder ser administrado por via intravenosa (IV) e intramuscular (IM) [11-13].

O teste de estimulação com ACTH é normalmente realizado pela administração de 5 µg/kg ou 125 µg/gato de tetracosactida ou cosintropina IV, com mensuração de cortisol sérico em 0 e 60 minutos [15-20]. O teste é recomendado como alternativa ao diagnóstico de pacientes com suspeita de hipercortisolismo (HC) que apresentaram resultados negativos no teste de supressão com baixa dose de dexametasona, apesar de sua menor sensibilidade para este fim [21]; no diagnóstico do hipoadrenocorticismo [22,23], além de eventualmente encontrar aplicações na caracterização da síndrome de insuficiência de corticosteroide relacionada à doença crítica (CIRCI) [24]. Além disso o teste de estimulação por ACTH também apresenta aplicabilidade no monitoramento do tratamento do hipercortisolismo endógeno com fármacos inibidores da síntese de cortisol, como o trilostano [25].

Em cães, ao longo dos anos se demonstrou que doses mínimas de cosintropina (1 µg/kg) são igualmente eficazes para testes de estimulação destinados à monitoramento terapêutico, ou diagnóstico de HC (5 µg/kg) [26]. Com relação a espécie felina, a equivalência de uma dose de 5 µg/kg em relação a dose de 125 µg/gato já foi documentada, utilizando diferentes formas de ACTH sintético como o tetracosactide

(Synacthen<sup>®</sup>) e a cosintropina (Cortrosyn<sup>®</sup>) [20]. Com isso, o custo do teste reduziu significativamente para os tutores, favorecendo sua realização com maior frequência. Apesar disso, ambos Synacthen<sup>®</sup> e Cortrosyn<sup>®</sup> são de difícil obtenção, e, muitas vezes, apresentam custos demasiadamente onerosos para alguns tutores.

A apresentação de ACTH porcino sintético recombinante (ACTHEL<sup>®</sup>, 25UI), é mais acessível em termos de distribuição e custo e já é utilizada em cães [14]. O produto é fornecido liofilizado em um frasco ampola, e acompanhado de uma solução estéril para ressuspensão do mesmo. Cada frasco ampola contém 25UI de corticotropina suína sintética e 50 mg de manitol. Cada ampola solvente contém cloreto de sódio (10,078 mg), ácido clorídrico (q.s.p. pH 3) e água para injeção (q.s.p. 2mL). Após ressuspensão, o produto deve ser mantido refrigerado e utilizado em até sete dias, ou em até 30 dias se congelado a -20°C de acordo com as orientações do fabricante. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi de avaliar a eficácia e segurança de diferentes doses do ACTHEL<sup>®</sup> (1 µg/kg, 5 µg/kg e 125 µg/gato) para realização do teste de estimulação por ACTH em gatos.

## **2. Material e Métodos**

A pesquisa foi desenvolvida no Hospital de Clínicas Veterinárias na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (HCV-UFRGS) no mês de dezembro de 2020 e aprovada pela Comissão de Pesquisa da Faculdade de Veterinária e pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, projeto nº 39741. Um consentimento escrito foi assinado pelos proprietários dos gatos para participação no estudo.

## *2.1 Animais*

A população estudada foi composta por sete gatos, com idade média de quatro anos de idade (variando entre dois anos e um mês a oito anos e seis meses) e peso médio de 4,2 quilos (3,2 a 5,5kg). Dos sete gatos, quatro eram machos e três eram fêmeas, todos castrados e sem raça definida. Os gatos foram definidos como clinicamente saudáveis por meio do histórico, exame físico e avaliação laboratorial composta de hemograma, perfil bioquímico sérico [ureia, creatinina, albumina, alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), Gama GT, bilirrubina total, cálcio total, cálcio ionizado, fósforo, sódio e cloreto, hemogasometria venosa e urinálise. Todos os pacientes foram testados negativos para os vírus da imunodeficiência felina (FIV) e da leucemia felina (FeLV) pelo teste de ELISA.

Os pacientes foram selecionados por conveniência, não havendo limitação de idade, sexo ou peso para participação, e somente a condição de serem castrados, dóceis e saudáveis eram obrigatórias. Foram definidos como dóceis aqueles gatos que era permissivos a manipulação e coleta de sangue com um mínimo de contenção, e que não mostravam reatividade como agressividade e postura amedrontada perante os procedimentos. Todos os gatos já haviam visitado o local do estudo em diferentes momentos para avaliação e exames de check-up antes da realização dos testes. No primeiro dia da pesquisa, dez gatos foram levados ao hospital, e desses os setes gatos participantes foram selecionados e já iniciaram a participação na pesquisa no primeiro dia. Foram adotados como critérios de exclusão a suspeita de doença clínica, a presença de alterações importantes nos exames hematológicos e bioquímicos, pacientes intactos ou que não fossem dóceis para transporte e manuseio.

## 2.2 Procedimentos experimentais

Os testes de estimulação por ACTH foram realizados em três dias diferentes (dias 1, 8 e 15) com uma semana de intervalo cada, sempre entre 9h e 11h da manhã, com as doses de 1 µg/kg (equivalente a 3,3 a 5,5 µg/gato), 5 µg/kg (equivalente a 16 a 27,5 µg/gato) e 125 µg/gato (equivalente a 22,7 a 39,1 µg/kg), respectivamente. A realização dos testes aplicando doses em ordem crescente foi adotada com o objetivo de avaliar a segurança de doses progressivamente maiores.

Cada frasco do ACTH porcino sintético liofilizado foi reconstituído em 2 mL da solução solvente de acordo com as instruções do fabricante. Os testes foram realizados no mesmo dia após a reconstituição, ou no máximo após uma semana, sendo as alíquotas mantidas congeladas a -20°C por até uma semana em seringas de 1 mL até o uso.

Em todos os dias de experimento, preconizou-se o manejo “*Cat Friendly*” recomendado pela Associação Americana de Clínicos de Felinos (AAFP – *American Association of Feline Practitioners*) [27]. Os gatos eram provenientes de um mesmo abrigo, e eram transportados no mesmo veículo, em caixas de transporte individuais, com a utilização de feromônio felino Feliway Classic® spray borrifado no veículo 15 minutos antes do transporte dos gatos, conforme recomendação do fabricante, para redução do estresse [28]. Ao chegarem no HCV-UFRGS, os pacientes eram aclimatados no gatil, e acondicionados em boxes individuais, e então eram iniciados os procedimentos experimentais. O Feliway Classic® spray foi borrifado no gatil 15 minutos antes do manejo gatos. Cada gato era manipulado individualmente em mesas de inox para coleta de sangue e aplicação do ACTH, respeitando a mesma ordem dos pacientes e os horários específicos.

Para realização dos testes, foi seguido o seguinte protocolo: 1) contensão física leve para coleta de 3 mL sangue da veia jugular utilizando seringa com agulha hipodérmica



25 x 7 mm para determinação basal dos hormônios aldosterona, androstenediona, cortisol e progesterona, 2) administração por via intravenosa do ACTH sintético ACTHEL<sup>®</sup> na veia cefálica com seringa de 1 mL e agulha 13x 4 mm, 3) manutenção dos pacientes em boxes individuais com portas de acrílico e providos de água a vontade e liteira, e 4) nova contenção física leve, após 60 minutos da aplicação do ACTH, para coleta de 3 mL sangue da veia safena medial utilizando seringa e *scalp* 21G para determinação dos hormônios aldosterona, androstenediona, cortisol e progesterona pós-ACTH. As amostras de sangue foram acondicionadas em tubos sem anticoagulante e após retração de coágulo a temperatura ambiente foram imediatamente centrifugadas por 3 minutos a 3.000 rpm e congeladas em criotubos à -20°C até análise.

### *2.3 Ensaios Hormonais*

Todas as determinações hormonais foram realizadas em laboratório privado. O envio das amostras para o laboratório foi realizado semanalmente, tendo sido realizados três lotes de análises. A determinações de aldosterona, cortisol e progesterona foram realizados por radioimunoensaio competitivo com os kits ImmuChem<sup>™</sup> Aldosterone DA, ImmuChem<sup>™</sup> Cortisol CT, e ImmuChem<sup>™</sup> Progesterone CT (MP Biomedicals, EUA), respectivamente. Todos os ensaios competitivos utilizaram iodo-<sup>125</sup> como marcador. As amostras foram lidas em um Contador Gamma (C-12, Diagnostic Products Corporation, United States of America). As mensurações de androstenediona, por sua vez, foram realizadas por quimiluminescência com o kit IMMULITE Androstenedione (Immulate 1000, Siemens, Reino Unido). Os coeficientes de variação intraensaio e interensaios obtidos nas determinações estão expressos na Tabela 1.

#### *2.4 Análise estatística*

Os dados foram avaliados quanto a distribuição normal pelo teste Shapiro-Wilk. As concentrações basais e pós-ACTH de cada hormônio avaliado foram comparadas pelo teste de Wilcoxon para amostras pareadas. Os resultados das amostras basais em cada dia de teste, e os delta-hormonais frente a cada dose testada foram comparados por meio do teste de Friedman seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn. Foram considerados significativos os resultados com valor de  $p < 0,05$ . Para estas análises, foram utilizados os softwares Excel (Windows Microsoft, Redmond, WA) e GraphPad Prism, versão 6.0 (GraphPad Software Inc, La Jolla, CA).

### **3. Resultados**

O fármaco mostrou-se seguro para o uso nessa espécie, não tendo sido reportado nenhum efeito colateral nos pacientes avaliados. Os pacientes mantiveram-se calmos e tranquilos durante as coletas e tempo de espera, além de não ter sido reportado nenhuma reação adversa após realização dos testes. Os valores mínimos e máximos, bem como os intervalos de referência dos hormônios mensurados estão descritos na Tabela 2.

A concentração basal de aldosterona estava significativamente maior no primeiro dia de tratamento (dose de 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de ACTHEL<sup>®</sup>) em relação aos valores basais documentados nos dias de testes subsequentes ( $p = 0,02$ ). Não houve diferença significativa entre aldosterona pós-ACTH e aldosterona basal com a dose de 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de ACTHEL<sup>®</sup>, apesar de seis pacientes terem apresentado resultados pós-ACTH maiores que os basais. Ambas as doses de 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  e 125  $\mu\text{g}/\text{gato}$  promoveram elevação significativa da aldosterona pós-ACTH ( $p = 0,01$ ). Entretanto, a dose de 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  foi suficiente para estimular um aumento claro da produção de aldosterona somente em dois gatos, ocorrendo uma elevação mais discreta nos demais. Em contrapartida, a dose de 125

$\mu\text{g/gato}$  promoveu um aumento claro na concentração de aldosterona em 100% dos gatos, sendo significativa a diferença de  $\Delta$ -Aldosterona entre as doses de  $5 \mu\text{g/kg}$  e  $125 \mu\text{g/gato}$  de ACTHEL<sup>®</sup> ( $p = 0,004$ ). A Figura 1 apresenta os valores basais de aldosterona em cada dia de teste (Fig.1A), comparação dos resultados de  $\Delta$ -Aldosterona frente a cada dose testada (Fig.1B), bem como as respostas individuais de cada paciente às doses de  $1 \mu\text{g/kg}$  (Fig.1C),  $5 \mu\text{g/kg}$  (Fig.1D) e  $125 \mu\text{g/gato}$  (Fig.1E).

A concentração basal de androstenediona estava no limite mínimo de detecção do ensaio ( $<0,3 \text{ ng/mL}$ ), e dentro do intervalo de referência para a espécie em animais castrados, em todos os três momentos de testes. Nenhuma dose testada de ACTHEL<sup>®</sup> estimulou significativamente o aumento da concentração desse hormônio. Apenas um paciente apresentou aumento na concentração de androstenediona pós-ACTH frente ao estímulo com a dose de  $1 \mu\text{g/kg}$ . A Figura 2 apresenta os valores basais de androstenediona em cada dia de teste (Fig.2A), comparação dos resultados de  $\Delta$ -Androstenediona frente a cada dose testada (Fig.2B), bem como as respostas individuais de cada paciente às doses de  $1 \mu\text{g/kg}$  (Fig.2C),  $5 \mu\text{g/kg}$  (Fig.2D) e  $125 \mu\text{g/kg}$  (Fig.2E).

Não houve flutuação significativa na concentração basal de cortisol ao longo dos momentos de estudo ( $p = 0,22$ ) como demonstrado na Figura 3A. Os resultados de cortisol pós-ACTH frente as doses de  $1 \mu\text{g/kg}$  ( $p = 0,37$ ) e  $5 \mu\text{g/kg}$  ( $p = 0,07$ ) de ACTHEL<sup>®</sup> não apresentaram diferença significativa dos valores basais, sendo significativa somente a resposta a dose de  $125 \mu\text{g/gato}$  ( $p = 0,01$ ). Entretanto, os resultados de  $\Delta$ -Cortisol não diferiram entre as doses de  $1 \mu\text{g/kg}$  e  $5 \mu\text{g/kg}$ , ou entre  $5 \mu\text{g/kg}$  e  $125 \mu\text{g/gato}$  conforme demonstrado na Figura 3B. Três dos sete pacientes avaliados apresentaram respostas marcadas a administração de  $1 \mu\text{g/kg}$  e de  $5 \mu\text{g/kg}$  apesar dos demais pacientes não, como evidenciado nas Figuras 3C e 3D. A dose de  $125 \mu\text{g/gato}$  provocou resposta secretora de cortisol em 100% dos pacientes (Fig.3E)

As contrações basais de progesterona (Figura 4A) não apresentaram flutuação significativa nos diferentes dias de testes ( $p = 0,11$ ). Todas as doses de ACTHEL<sup>®</sup> testadas demonstraram-se capazes de induzir resposta na secreção de progesterona pós-ACTH 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ( $p = 0,03$ ), 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ( $p = 0,01$ ) e 125  $\mu\text{g}/\text{gato}$  ( $p = 0,01$ ) conforme demonstrado nas Figuras 4C-D. Apesar disso, houve diferença significativa sobre os valores de  $\Delta$ -Progesterona quando comparada a dose de 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  com 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de ACTHEL<sup>®</sup> ( $p = 0,04$ ) conforme demonstrado na Figura 4B.

#### 4. Discussão

Esse foi o primeiro estudo que avaliou diferentes doses do ACTHEL<sup>®</sup> para realização do teste de estimulação por ACTH em felinos domésticos, avaliando diferentes hormônios adrenocorticais. A ausência de efeitos colaterais nos pacientes avaliados, bem como ausência de efeitos adversos da aplicação intravenosa de diferentes doses desta apresentação de ACTH sintético em gatos, está de acordo com estudos anteriores que consideraram este teste um procedimento seguro em gatos [17, 18, 20, 25].

As doses alternativas testadas de ACTHEL<sup>®</sup> nesse estudo foram comparadas a dose 125  $\mu\text{g}/\text{gato}$  de ACTH, mais comumente usadas para teste de estimulação adrenal em gatos [1-7,9] e considerada a dose que causa secreção adrenocortical máxima de cortisol [18,19]. As coletas para mensuração hormonal foram realizadas em 0 e 60 minutos, conforme preconizado na literatura [15-20]. Doses menores de ACTHEL<sup>®</sup> no presente estudo não resultaram em uma resposta adrenocortical equivalente a dose tradicional de 125  $\mu\text{g}/\text{gato}$  para todos os hormônios mensurados, exceto para progesterona que respondeu a todas as doses testadas, diferentemente do resultado encontrado por DeClue e colaboradores (2011) que reportaram essa equivalência utilizando a dose de 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$  de cosintropina para estímulo da produção de cortisol e aldosterona [20].

A dose de 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de ACTHEL<sup>®</sup> não foi suficiente para estimular de forma significativa o aumento na concentração de cortisol, apesar de já ter sido demonstrada a efetividade desta dose em relação a dose de 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de tetracosactide para avaliação da reserva adrenal em cães com HC em tratamento com trilostano e em cães com suspeita da doença [29]. Outro estudo [18] avaliou as doses de cosintropina 1,25  $\mu\text{g}/\text{gato}$ , 12,5  $\mu\text{g}/\text{gato}$  e 125 $\mu\text{g}/\text{gato}$  em 6 gatos saudáveis, e todas promoveram aumento significativo da concentração de cortisol. Entretanto, a dose de 125  $\mu\text{g}/\text{gato}$  resultou em uma resposta adrenocortical significativamente mais prolongada [18]. A falta de resposta significativa de cortisol às doses de 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  e 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de ACTHEL<sup>®</sup> no presente estudo pode refletir uma menor afinidade dos receptores de ACTH da espécie felina à corticotropina recombinante suína em relação aos análogos sintéticos cosintropina e tetracosactide. Esta diferença pode estar relacionada a estrutura do ACTH felino em relação ao ACTH suíno [30, 31].

No estudo de DeClue e colaboradores (2011) [20], embora o pico de concentrações séricas de cortisol após estimulação com cosintropina na dose de 1 ou 2,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  terem sido significativamente maiores do que os valores basais, foram significativamente menores do que as obtidas após a administração de 125  $\mu\text{g}/\text{gato}$ , e a dose de 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  foi considerada equivalente a dose de 125  $\mu\text{g}/\text{gato}$ . No presente estudo, as variações não significativas de cortisol pós-ACTH com as doses de 1 e de 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de ACTHEL<sup>®</sup> podem ser atribuídas a diferente sensibilidade dos pacientes ao estímulo com baixas doses de ACTH. No entanto, estas diferenças podem refletir meramente flutuações circadianas na cortisolemia.

Uma dose mais baixa de ACTH pode ser preferida em vez da dose padrão para fornecer uma resposta mais sensível para detectar CIRCI e reduções na reserva adrenocortical [30,31,32,33]. No entanto, atualmente em medicina, o uso do teste de

estimulação com ACTH para identificar pacientes com CIRCI que requerem tratamento com corticosteroides não é recomendado [36-38], sendo considerada a possibilidade de CIRCI quando a fluidoterapia e a hipotensão resistente ao uso de vasopressor respondem à administração de hidrocortisona [36,38,39]. Na medicina veterinária, os relatos do uso do teste de estimulação com ACTH para detecção de CIRCI em gatos são esparsos, sendo que o emprego desse teste, bem como as doses recomendadas ainda não são consensuais.

De acordo com Peterson & Kempanien (1993) [18], a dose de 125 µg/gato, ao menos quando administrada por via intravenosa excede a dose necessária para estimulação adrenocortical máxima em gatos clinicamente saudáveis quando a amostra pós-ACTH é coletada em 60 minutos, e que doses menores estimulam o córtex adrenal, porém o pico da concentração plasmática de cortisol tende a ocorrer mais cedo (em 30 minutos) e as concentrações voltam aos valores basais mais rapidamente. Apesar de não termos avaliado o pico e a duração da resposta ao teste ao estímulo por ACTH em nosso estudo, a resposta inferior da dose de 5 µg/kg de ACTHEL<sup>®</sup> em relação à dose de 125 µg/gato pode ter tido relação com tempo para o pico de secreção [18], apesar de alguns pacientes terem demonstrado resposta satisfatória a esta dose menor após 60 minutos do estímulo (Fig.3D).

A dose testada de 5 µg/kg de ACTHEL<sup>®</sup> apresentou resposta inferior a dose de 125 µg/gato nesse estudo, diferente do estudo de DeClue e colegas (2011) [20]. Se a dose mais alta for considerada de acordo com o peso dos gatos, nossos pacientes receberam doses entre 22,72 µg/kg e 39,06 µg/kg de ACTHEL<sup>®</sup>, sendo necessário mais estudos para determinar uma dosagem mínima inferior a dose de 125 µg/gato capaz de causar estímulo adrenocortical máximo a produção de cortisol.

Com relação à estimulação à secreção de aldosterona, a dose de 5µg/kg de ACTHEL<sup>®</sup> foi a dose mínima testada que apresentou resposta significativa, embora a dose de 125

$\mu\text{g/gato}$  tenha causado aumento mais pronunciado nas concentrações de aldosterona em todos os gatos como demonstrado na comparação entre os  $\Delta$ -aldosterona frente as doses de  $5\mu\text{g/kg}$  e  $125\mu\text{g/gato}$ . Picos de secreção de aldosterona já foram descritos entre 30 e 60 minutos após a administração de cosintropina na dose de  $125\mu\text{g/gato}$  [9]. Um estudo demonstrou que a administração IV de cosintropina resultou na secreção de aldosterona com pico e a duração da resposta dose-dependentes [20]. A resposta máxima da aldosterona quando a cosintropina foi administrada na dose de  $125\mu\text{g/gato}$  ocorreu aos 60 minutos. A administração de cosintropina nas doses de 2,5 e  $5\mu\text{g/kg}$ , apesar de terem se mostrado equivalentes à da dose de  $125\mu\text{g/gato}$ , resultou em um pico de resposta de aldosterona aos 45 minutos [20]. Apesar de nossos resultados não terem avaliado curvas de tempo para pico de secreção de cada hormônio frente as doses estudadas, a recomendação do uso de uma dose de ACTHEL<sup>®</sup> de  $125\mu\text{g/gato}$  parece mais adequada para documentar resposta máxima com coleta aos 60 minutos.

Apesar de todas as doses de ACTHEL<sup>®</sup> testadas terem estimulado um incremento significativo na concentração de progesterona, a análise individual dos pacientes a cada dose (Fig.4C-D), mostra que nem todos os pacientes responderam as doses mais baixas. Em termos diagnósticos, o uso de dose menores do ACTHEL<sup>®</sup> pode impactar a capacidade de documentação de hiperprogesteronemia em pacientes com sinais clínicos compatíveis (i.e., sinais clínicos de hipercortisolismo e ou diabetes mellitus associados a resposta negativa em teste de supressão por dexametasona apesar da presença de tumor adrenal) nos quais a progesteronemia basal não tenha sido suficiente para documentar o distúrbio [2,5,41]. Em estudos anteriores, a dose tradicional de  $125\mu\text{g/gato}$  ou diferentes doses mais altas do que  $1\mu\text{g/kg}$  foram utilizadas para estimular a produção de progesterona em gatos com suspeita de hiperprogesteronismo [2,5,6,41,42,44]. Além disso, é importante enfatizar que, como a progesterona é um precursor hormonal no córtex

adrenal, a documentação da sua elevação basal, ou pós-ACTH, apresenta baixa especificidade para o diagnóstico de doenças relacionadas ao córtex adrenal. Não é compreendido como os hormônios sexuais causariam sinais clínicos de HC, e a progesterona é o hormônio mais mencionado como causador desses sinais. Devido a sua meia-vida curta, no entanto, pouco se sabe sobre os efeitos das concentrações séricas elevadas [45].

Nenhuma dose de ACTHEL<sup>®</sup> utilizada nesse estudo foi suficiente para induzir a secreção de androstenediona, e apenas um gato apresentou elevação após a administração de 1 µg/kg, o que provavelmente reflete uma flutuação fisiológica do hormônio, uma vez que doses maiores não surtiram efeito, mesmo no mesmo paciente. Tumores adrenais produtores de andrógenos como a androstenediona [47] e mais comumente testosterona [46,47] já foram relatados causando alterações comportamentais e sinais de HC em gatos [2,25]. DeClue e colegas (2005) não encontraram aumento na secreção de testosterona e androstenediona com a administração 150 µg/gato ACTH em um gato com hiperaldosteronismo e hiperprogesteronismo causado por um carcinoma adrenocortical [5]. Em nosso estudo não foram avaliados outros andrógenos como testosterona e dehidroepiandrosterona, porém nos quadros clínicos associados à elevação de andrógenos, normalmente a mensuração basal deles é suficiente para demonstrar elevação [44]. Contudo, são necessários estudos adicionais para avaliar o impacto de diferentes doses do ACTHEL<sup>®</sup> sobre a secreção de andrógenos adrenais.

Avaliar a resposta hormonal dinâmica é inerentemente difícil. Há uma infinidade de fatores que influenciam o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal que devem ser considerados ao interpretar esses dados. O estudo de Javadi e colegas (2004) demonstrou que o sexo e o estado de castração não afetaram as concentrações séricas de cortisol ou aldosterona em gatos [48], no entanto, o desenho do nosso estudo de incluir somente animais castrados



foi importante para diminuir vieses relacionados à progesterona e androstenediona. A idade é outro fator que altera a responsividade adrenocortical [10]. A influência da idade na responsividade adrenocortical em gatos não foi avaliada; portanto, nossos resultados devem ser interpretados com cautela ao aplicar essas informações a gatos mais velhos. Além disso, a via de administração do ACTH influencia a resposta adrenocortical. Em gatos, a administração IV de cosintropina a 125 µg/gato resulta em um pico de cortisol sérico significativamente maior do que a administração IM [17]. Estudos são necessários para avaliação do padrão de secreção hormonal com a administração ACTHEL<sup>®</sup> via IM.

Muitos estudos que avaliam estresse agudo em gatos mensuram cortisol sérico ou plasmático [47-50]. Para contornar a interferência do estresse, foi utilizado um ambiente exclusivo para os gatos, feromônio felino Feliway Classic<sup>®</sup> spray de ambientes [28] musicoterapia “Scooter Bere’s Aria” [51] e a manipulação gentil com os animais de acordo com as boas práticas preconizadas pela AAFP [27]. Na opinião dos autores, estes procedimentos minimizaram o estresse da participação do estudo para os gatos. Além disso, não houve um padrão de aumento da secreção de cortisol após a manipulação dos pacientes no primeiro dia do estudo, e alguns gatos apresentaram redução dos níveis de cortisol nos diferentes dias de testes (Fig.3A), apoiando a ideia de que os procedimentos não causaram estresse a ponto de ocasionar uma elevação na secreção de cortisol ou nos demais esteroides avaliados que interferisse nos nossos resultados.

## 5. Conclusão

Em conclusão, ACTHEL<sup>®</sup> é uma medicação segura para teste de estimulação por ACTH em gatos. A dose de 125 µg/gato foi considerada melhor para induzir a secreção máxima de cortisol e de aldosterona, embora a dose de 5 µg/kg tenha sido suficiente para causar um aumento equivalente em uma proporção menor de pacientes. A dose de 1 µg/kg

foi suficiente apenas para estimular a secreção de progesterona, enquanto nenhuma dose avaliada foi suficiente para estimular a secreção de androstenediona. Como esses hormônios costumam ser mensurados concomitantemente na prática clínica, a dose 125 µg/gato de ACTHEL<sup>®</sup> foi considerada a mais apropriada para avaliar a resposta adrenal máxima de aldosterona, cortisol e progesterona.

### **Referências Bibliográficas**

- [1] Peterson ME, Greco DS, Orth DN. Primary hypoadrenocorticism in ten cats. *J Vet Intern Med* 1989; 3:55–58.
- [2] Rossmeisl JH Jr, Scott-Moncrieff JC, Siems J, Snyder, PW, Anothayanontha, L, Oliver, JW. Hyperadrenocorticism and hyperprogesteronemia in a cat with an adrenocortical adenocarcinoma. *J Am Anim Hosp Assoc* 2000;36: 512–517.
- [3] Boag AK, Neiger R, Church DB. Trilostane treatment of bilateral adrenal enlargement and excessive sex steroid hormone production in a cat. *J Small Anim Pract* 2004; 45: 263–266.
- [4] Feldman EC, Nelson RW. Hyperadrenocorticism in cats (Cushing’s syndrome). in: Feldman EC, Nelson RW, eds. *Canine and feline endocrinology and reproduction*. St Louis, Mo: Saunders, 2004:358–393.
- [5] DeClue AE, Breshears LA, Pardo ID, Kerl ME, Perlis J, Cohn LA. Hyperaldosteronism and Hyperprogesteronism in a Cat with an Adrenal Cortical Carcinoma. *J Vet Intern Med* 2005; 19:355–358.
- [6] Millard, RP, Pickens EH., Wells, KL. Excessive production of sex hormones in a cat with an adrenocortical tumor. *J Am Vet Med Assoc* 2009; 234: 505-508.
- [7] Cohn LA, Declue AE, Cohen RL, Reinero, CR. Effects of fluticasone propionate dosage in an experimental model of feline asthma. *J Feline Med Surg* 2010; 12:91–96.

- [8] Golden DL, Lothrop CD Jr. A retrospective study of aldosterone secretion in normal and adrenopathic dogs. *J Vet Intern Med* 1988; 2:121–125.
- [9] Zimmer C, Horauf A, Reusch C. Ultrasonographic examination of the adrenal gland and evaluation of the hypophyseal-adrenal axis in 20 cats. *J Small Anim Pract* 2000; 41:156–160.
- [10] Goy-Thollot I, Decosne-Junot C, Bonnet JM. Influence of aging on adrenal responsiveness in a population of eleven healthy beagles. *Res Vet Sci* 2007; 82:195–201.
- [11] Landon J, James VHT, Cryer RJ, Wynn V, Frankland, AW. Adrenocorticotrophic Effects of a Synthetic Polypeptide- $\beta$ -Corticotropin-in Man. *J Clin Endocrinol Metab* 1964;24:1206-1213.
- [12] Feldman EC, Tyrrell JB. Hypoadrenocorticism. *Vet Clin North Am.* 1977; 3:555-581.
- [13] Feldman, EC, Stabenfeldt, GH, Farver, TB, Addiego, LA. Comparison of aqueous porcine ACTH with synthetic ACTH in adrenal stimulation tests of the female dog. *Am J Vet Res.* 1982; 43:522-524.
- [14] Furtado PV, Guisso DCR, Soila R, Rotta PL, Fukumori R, Oliveira CA. Evaluation of Corticotropin (Acthelea) Effect in the ACTH Stimulation Test in Dogs with Hyperadrenocorticism. *J of Vet Inter Med.* jun. 2017.
- [15] Zerbe CA, Refsal KR, Peterson ME, Armstrong PJ, Nachreiner RF, Schall WD. Effect of nonadrenal illness on adrenal function in the cat. *Am J Vet Res* 1987; 48:451-454.
- [16] Sparkes AH, Adams DT, Douthwaite JA, Gruffydd-Jones TJ. Assessment of adrenal function in cats: response to intravenous synthetic ACTH. *J Small Anim Pract.* 1990; 31:2-5.

- [17] Peterson ME, Kemppainen RJ. Comparison of the immunoreactive plasma corticotropin and cortisol responses to two synthetic corticotropin preparations (tetracosactrin and cosyntropin) in healthy cats. *Am J Vet Res.* 1992; 53: 1752-1755.
- [18] Peterson ME, Kemppainen RJ. Dose-response relation between plasma concentrations of corticotropin and cortisol after administration of incremental doses cosyntropin for corticotropin simulation testing in cats. *Am J Vet Res.* 1993; 54:300-304.
- [19] Schoeman JP, Evans HJ, Childs D, Herrtage ME. Cortisol response to two different doses of intravenous synthetic ACTH (tetracosactrin) in overweight cats. *J Small Anim Pract* 2000; 41: 552–557.
- [20] DeClue AE, Martin LG, Behrend EN, Cohn LA, Dismukes, DI, Lee, HP. Cortisol and aldosterone response to various doses of cosyntropin in healthy cats. *J Am Vet Med Assoc*, 2011; 238:176–182.
- [21] Kley S, Alt M, Zimmer C, Hoerauf, A, Reusch, CE. Evaluation of the low-dose dexamethasone suppression test and ultrasonographic measurements of the adrenal glands in cats with diabetes mellitus. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2007; 149: 493–500.
- [22] Gunn-Moore D. Feline endocrinopathies. *Vet. Clin. North Am Small Anim Pract.* 2005; 35: 171-210.
- [23] Scott-Moncrieff JCR. Hypoadrenocorticism. In: Ettinger SJ, Feldman EC, eds. *Textbook of Veterinary Internal Medicine Diseases of the Dog and Cat.* Amsterdam: Elsevier; 2010:1847-1857.
- [24] Burkitt CJM. Critical illness-related corticosteroid insufficiency. In: Silverstein DC, Hopper K, eds. *Small animal critical care medicine.* Missouri: Elsevier;2015: 376–379.
- [25] Boland LA, Barrs VR. Peculiarities of Feline Hyperadrenocorticism: Update in diagnosis and treatment. *J Fel Med Surg.* 2017; 19:933-947.

- [26] Aldridge C, Behrend EN, Kemppainen RJ, Lee-Fowler TM, Martin LG, Ward CR, Bruyette D, Pannu J, Gaillard P, Lee HP. Comparison of 2 Doses for ACTH Stimulation Testing in Dogs Suspected of or Treated for Hyperadrenocorticism. *J Vet Intern Med.* 2016; 30:1637-1641.
- [27] Rodan I, Sundahl E, Carney H, Gagnon MC, Heath S, Landsberg G, Seksel K, Yin S. AAFP and ISFM Feline-Friendly Handling Guidelines. *J Fel Med Surg.* 2011; 13:364-375.
- [28] Pereira JS, Fragoso S, Beck A, Lavigne S, Varejão AS, Pereira, GG. Improving the feline veterinary consultation: the usefulness of Feliway spray in reducing cats' stress. *J Fel Med Surg.* 2015; 18:959-964.
- [29] Martins RCB, Jericó Marcia M. Use of low dose of synthetic ACTH in the adrenal stimulation test for diagnosis and monitoring of canine hyperadrenocorticism: evaluation of diagnostic efficacy. *Pesq Vet Bras.* 2017; 37:241-247.
- [30] Riniker B, Sieber P, Rittel W. Revised Amino-acids Sequences for Porcine and Human Adrenocorticotrophic Hormone. *Nature New Biology.* 1972; 235: 114-115.
- [31] Kemppainen RJ. Amino acid differences in cat adrenocorticotropin account for the inability of a human-based immunoradiometric assay to detect the molecule in cat plasma. *J Vet Diagn Invest.* 2014; 26:431-433.
- [32] Beishuizen A, Thijs LG. Relative adrenal failure in intensive care: an identifiable problem requiring treatment? *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2001; 15:513–531.
- [33] Zaloga, GP, Marik, P. Hypothalamic-Pituitary Adrenal Insufficiency. *Crit Care Clin* 2001; 17:704-749.
- [34] Marik P E, Zaloga GP. Adrenal insufficiency during septic shock. *Crit Care Med* 2003; 31:141-145.

[35] Tordjman K, Jaffe A, Trostanetsky Y. Low-dose (1 microgram) adrenocorticotrophin (ACTH) stimulation as a screening test for impaired hypothalamo-pituitary-adrenal axis function: sensitivity, specificity and accuracy in comparison with the high-dose (250 microgram) test. *Clin Endocrinol* 2000; 52:633–640.

[36] Marik PE, Pastores SM, Annane D, Meduri GU, Sprung CL, Arlt W, Keh D, Briegel J, Beishuizen A, Dimopoulou I, Tsagarakis S, Singer M, Chrousos GP, Zaloga G, Bokhari F, Vogeser M. Recommendations for the diagnosis and management of corticosteroid insufficiency in critically ill adult patients: consensus statements from an international task force by the American College of Critical Care Medicine. *Crit. Care Med* 2008; 36:1937–1949.

[37] Dellinger, RP, Levy Mitchell M, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, Sevransky JE, Sprung CL, Douglas IS, Jaeschke R, Osborn TM, Nunnally ME, Townsend SR, Reinhart K, Kleinpell RM, Angus DC, Deutschman CS, Machado FR, Rubenfeld GD, Webb S, Beale RJ, Vicent JL, Moreno R. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive Care Med* 2013; 39:165–228.

[38] Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy Mitchell M, Antonelli M, Ferrer R, Kumar A, Sevransky JE, Sprung CL, Nunnally ME, Rochweg B, Rubenfeld GD, Angus DC, Annane D, Beale RJ, Bellinghan GJ, Bernard GR, Chiche JD, Coopersmith C, De Backer DP, French CJ, Fujishima S, Gerlach H, Hidalgo JL, Hollenberg SM, Jones AE, Karnad DR, Kleinpell RM, Koh Y, Lisboa TC, Machado, FR, Marini John J, Marschall JC, Mazuski JE, McIntyre LA, McLean AS, Mehta S, Moreno RP, Myburgh J, Navalesi P, Nishida O, Osborn TM, Perner A, Plunkett CM, Ranieri M, Schorr CA, Seckel MA, Simpson SQ, Singer M, Thompson BT, Townsend SR, Van der Poll T, Vincent JL, Wiersinga WJ, Zimmerman JL, Dellinger RP. Surviving sepsis campaign: international

guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016. *Intensive Care Med* 2017; 43:304–377.

[39] Annane D, Sebille V, Charpentier C, Bollaert PE, François B, Korach JM, Capellier G, Cohen Y, Azoulay E, Troché G, Chaumet-Riffaut P, Bellissant E. Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *JAMA* 2002; 288:862–871.

[40] Pisano SRR, Howard J, Posthaus H, Kovacevic A, Yozova ID. Hydrocortisone therapy in a cat with vasopressor-refractory septic shock and suspected critical illness-related corticosteroid insufficiency. *Clin Case Rep* 2017; 5:1123-1129.

[41] Briscoe K, Barrs VR, Foster DF, Beatty, JA. Hyperaldosteronism and hyperprogesteronism in a cat. *J Feline Med Surg* 2009; 11: 758–762.

[42] Meler EN, Scott-Moncrieff JC, Peter AT, Bennett S, Ramos-Vara J, Salisbury SK, Naughton JF. Cyclic estrous-like behavior in a spayed cat associated with excessive sex-hormone production by an adrenocortical carcinoma. *J Fel Med Surg* 2011; 13:473-478.

[43] Daniel G, Mahony OM, Markocich JE, Appleman E, Monaghan KN, Lawrence YA, Fiocchi Hathaway E, Weaver K, Johnston A, Barton B. Clinical findings, diagnostics and outcome in 33 cats with adrenal neoplasia (2002–2013). *J Feline Med Surg* 2015; 18: 77–84.

[44] Reche Junior A, Ramos D, Ferreira M, Da Silva LAGP, Hirai Y, Horta PV. A case of behavioral changes in a castrated male cat due to a functional adrenocortical adenoma producing testosterone and androstenedione. *JFMS Open Rep* 2021;7.

[45] Behrend EN, Kennis R. Atypical Cushing`s syndrome in dogs: arguments and against. *Veterinary clinics: Small Animal Practice*. 2010;40:285-296.

- [46] Sumner JP, Hulsebosch SE, Dudley RM, Miller ML, Hayes GM. Sex-hormone producing adrenal tumors causing behavioral changes as the sole clinical sign in 3 cats. *Can Vet J* 2019; 60:305–310.
- [47] Genaro G, Moraes W, Silva JCR, Adania CH, Franci CR. Plasma hormones in neotropical and domestic cats undergoing routine manipulations. *Vet Sci Res J* 2007; 82:263-270.
- [48] Javadi S, Djajadiningrat-Laanen SC, Kooistra HS, Van Dongen AM, Voorhout G, Van Sluijs FJ, Van Den Ingh TSGAM, Boer WH, Rijnberk A. Primary hyperaldosteronism, a mediator of progressive renal disease in cats. *Domest Anim Endocrinol* 2005;28:85-104.
- [49] Mazzotti GA, Boere V. The right ear but not the left ear temperature is related to stress-induced cortisolaemia in the domestic cat (*Felis catus*). *Laterality* 2009; 14:196-204.
- [50] Iki T, Ahrens F, Pasche KH, Bartels A, Erhard MH. Relationships between scores of the feline temperament profile and behavioural and adrenocortical responses to a mild stressor in cats. *App. Anim. Behav. Sci.* 2011; 132:71-80.
- [51] Hampton A, Ford A, Cox RE 3rd, Liu CC, Koh R. Effects of music on behavior and physiological stress response of domestic cats in a veterinary clinic. *J Feline Med Surg.* 2020; 22:122-128.



**Tabela 1.**

Coefficientes de variação intra-ensaio e inter-ensaio dos ensaios para mensuração de aldosterona, cortisol, progesterona e androstenediona.

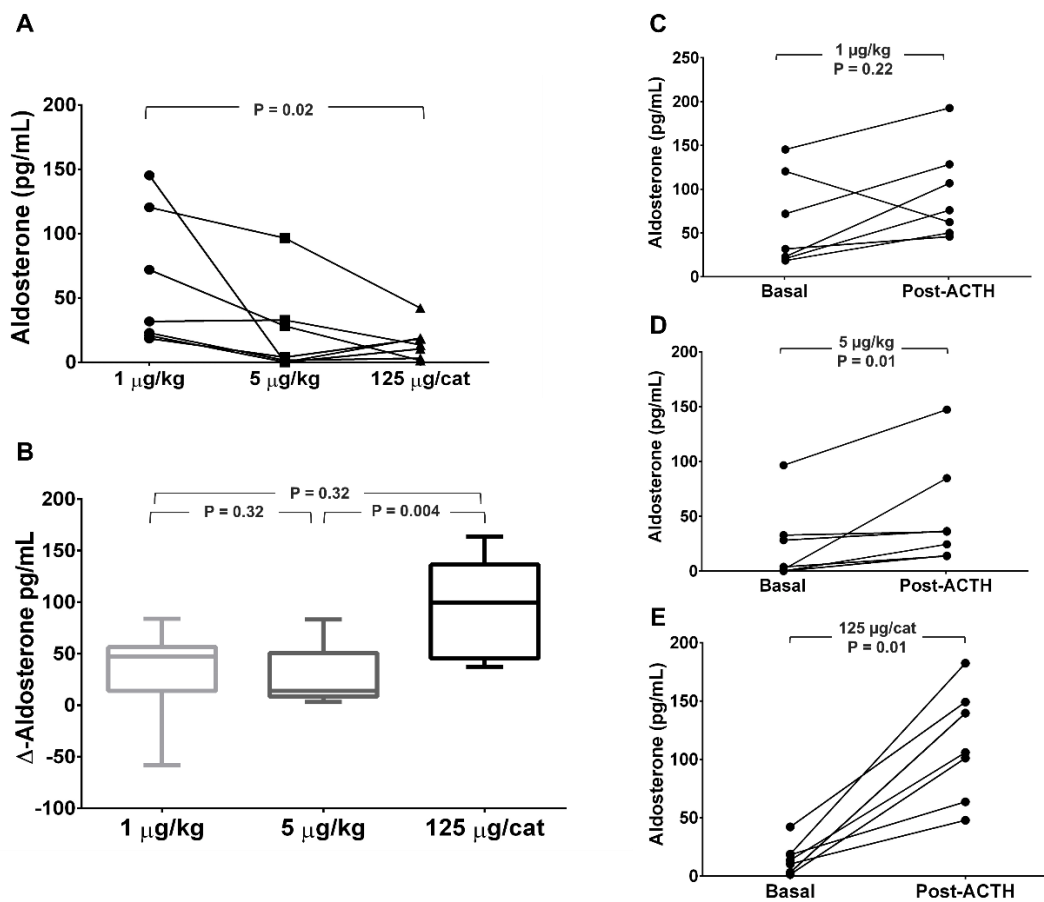
	ImmuChem™ Aldosterone DA	ImmuChem™ Cortisol CT	ImmuChem™ Progesterone CT	IMMULITE Androstenedione
CV Intra-ensaio	6,76 %	6,33 %	6,93 %	6,40 %
CV Inter-ensaio	8,13 %	14,00%	8,70 %	9,50 %

Tabela 2.

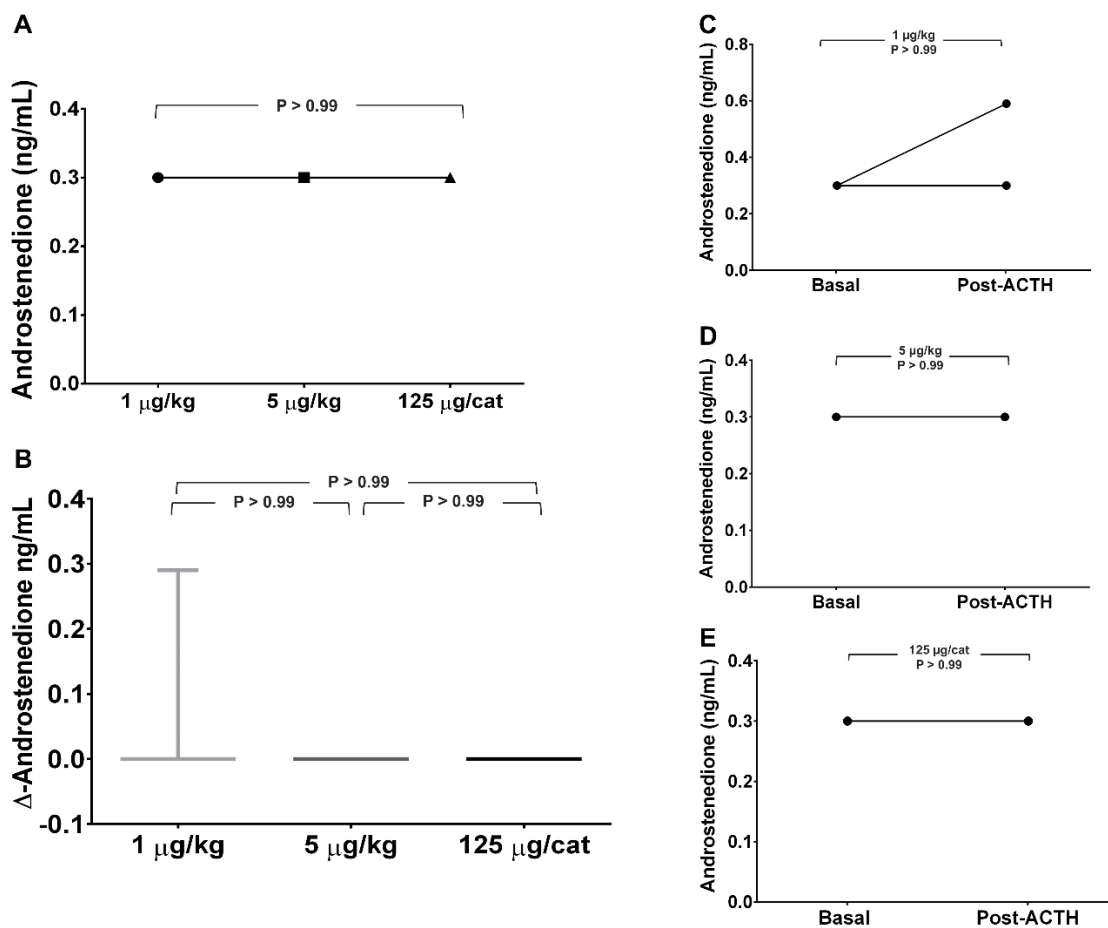
Valores mínimos e máximos e valores de referência para os hormônios Aldosterona, Androstenediona, Cortisol e Progesterona, após a aplicação de 1 µg/kg, 5 µg/kg e 125 µg/gato de ACTHEL®.

	Aldosterona (pg/mL)	Androstenediona (ng/mL)	Cortisol (µg/dL)	Progesterona (ng/mL)
Min-Máx basal	0,12-145,3	0,3-0,3	7,1-59,20	0,01-1,18
Referência Basal	70-140	0,14-0,32	10-30	< 1,00
Min-Máx pós 1 µg/kg	45,77-192,61	0,3-0,59	28,2-63,9	0,01-1,59
Min-Máx pós 5 µg/kg	13,76-147,24	0,3-0,3	23,0-107,1	0,04-3,29
Min-Máx pós 125 µg/gato	47,83-182,43	0,3-0,3	33,0-102,1	0,12-3,11

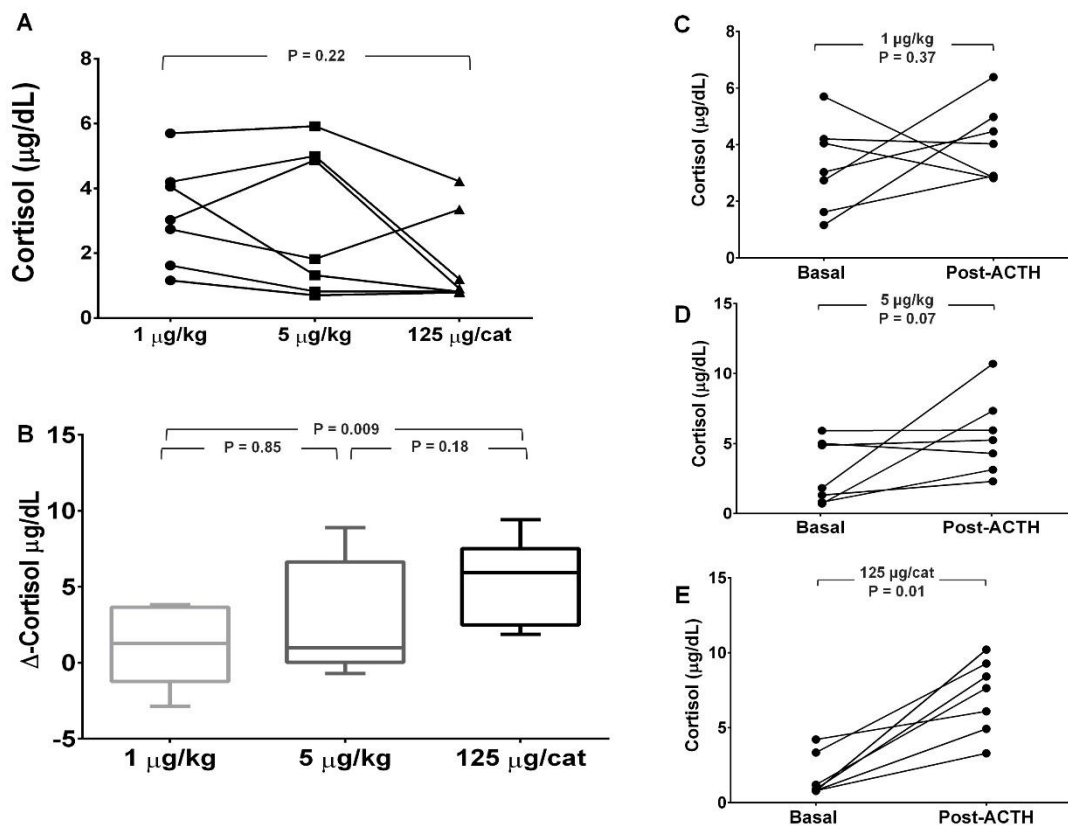
**Figura 1.** Resultados hormonais de aldosterona. A) Comparação entre os valores basais de aldosterona nos diferentes dias de teste de estimulação. B) Comparação entre os valores de  $\Delta$ -aldosterona frente a cada dose de ACTHEL<sup>®</sup> estudada. C-E) Comparação entre os valores basais e pós-ACTH de aldosterona após estímulo com as doses de 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ou 125  $\mu\text{g}/\text{gato}$  de ACTHEL<sup>®</sup>.



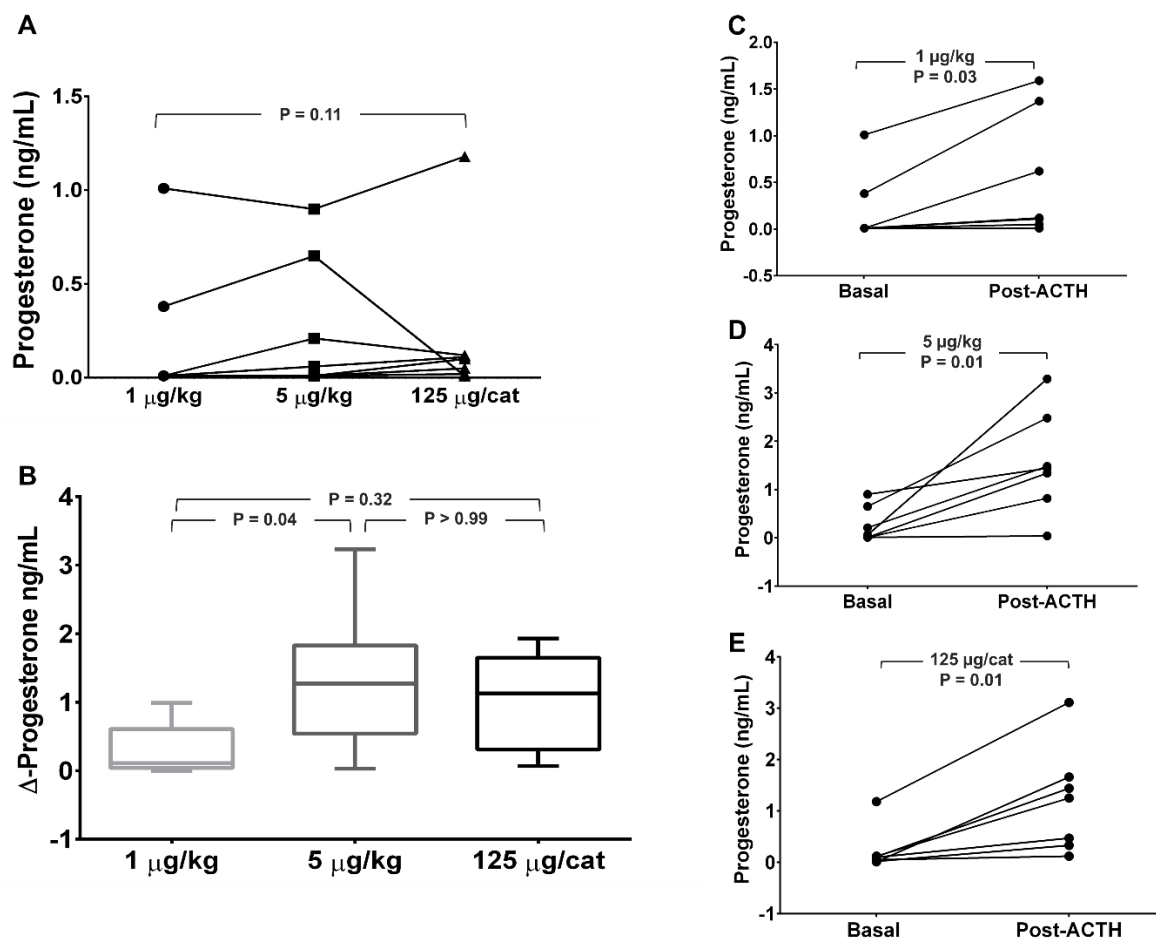
**Figura 2.** Resultados hormonais de androstenediona. A) Comparação entre os valores basais de androstenediona nos diferentes dias de teste de estimulação. B) Comparação entre os valores de  $\Delta$ -androstenediona frente a cada dose de ACTHEL<sup>®</sup> estudada. C-E) Comparação entre os valores basais e pós-ACTH de androstenediona após estímulo com as doses de 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ou 125  $\mu\text{g}/\text{gato}$  de ACTHEL<sup>®</sup>.



**Figura 3.** Resultados hormonais de cortisol. A) Comparação entre os valores basais de cortisol nos diferentes dias de teste de estimulação. B) Comparação entre os valores de  $\Delta$ -cortisol frente a cada dose de ACTHEL<sup>®</sup> estudada. C-E) Comparação entre os valores basais e pós-ACTH de cortisol após estímulo com as doses de 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ou 125  $\mu\text{g}/\text{gato}$  de ACTHEL<sup>®</sup>.



**Figura 4.** Resultados hormonais de progesterona. A) Comparação entre os valores basais de progesterona nos diferentes dias de teste de estimulação. B) Comparação entre os valores de  $\Delta$ -progesterona frente a cada dose de ACTHEL<sup>®</sup> estudada. C-E) Comparação entre os valores basais e pós-ACTH de progesterona após estímulo com as doses de 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ou 125  $\mu\text{g}/\text{gato}$  de ACTHEL<sup>®</sup>.



#### 4 CONCLUSÕES GERAIS

Em conclusão, embora as doenças adrenais sejam pouco frequentes na rotina da medicina felina, é importante que os clínicos tenham conhecimento dos seus sinais clínicos e quando o teste de estimulação por ACTH é indicado na investigação diagnóstica. O ACTHEL<sup>®</sup> é uma medicação segura para teste de estimulação por ACTH em gatos. A dose de 125 µg/gato foi considerada melhor para induzir a secreção máxima de cortisol e de aldosterona, embora a dose de 5 µg/kg tenha sido suficiente para causar um aumento equivalente em uma proporção menor de pacientes. A dose de 1 µg/kg foi suficiente apenas para o estimular a secreção de progesterona, enquanto nenhuma dose avaliada foi suficiente para estimular a secreção de androstenediona. Como esses hormônios costumam ser mensurados concomitantes na prática clínica, a dose 125 µg/gato de ACTHEL<sup>®</sup> foi considerada a mais apropriada para avaliar a resposta adrenal máxima de aldosterona, cortisol e progesterona.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALDRIDGE, C.; BEHEREND, E.N.; KEMPPAINEN, R.J.; LEE-FOWLER, T.M.; MARTIN, L.G.; WARD, C.R.; BRUVETE, 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. 30, n. 5, p. 1637–1641, Sep-Oct 2016.

ANTONI, F.A.; DAYANITHI, G. Evidence for distinct glucocorticoid and guanine 3',5'-monophosphate-effected inhibition of stimulated adrenocorticotropin release in vitro. **Endocrinology**. v.126, n. 3, p. 1355-1360, Mar. 1990.

ANNANE D., BELLISSANT, E.; SEBILLE, V.; LESIEUR, O.; MATHIEU, B.; RAPHAEL, J.C.; GAJDOS, P. Impaired pressor sensitivity to noradrenaline in septic shock patients with and without impaired adrenal function. **British Journal of Clinical Pharmacology**. v. 46, n. 6, p. 589-597, Dec 1998.

ANNANE D.; SEBILLE, V.; CHARPENTIER, C.; BOLLAERT, P.E.; FRANÇOIS, B.; KORACH, J.M.; CAPELLIER, G.; COHEN, Y.; AZOULAY, E.; TROCHÉ, G.; CHAUMET-RIFFAUT, P.; BELLISSANT, E.; Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. **Journal of American Medical Association**, v. 288, n.7, p. 862-871, aug 2002.

ANNANE, D.; BELLISSAN, E.; BOLLAERT, P.E., BRIEGEL, J.; KEH, D.; KUPFER, Y. Corticosteroids for treating sepsis. **Cochrane Database of Systematic Reviews**. 12, Dec. 2015.

BEHREND, E.N.; KENNIS, R. Atypical Cushing`s syndrome in dogs: arguments and against. **Veterinary clinics: Small Animal Practice**. v. 40, n. 2, p. 285-296, Mar 2010.

BEISHUIZEN, A.; THIJS, L.; Relative adrenal failure intensive care: an identifiable problem requiring treatment? **Best Practice & Research Clinical Endocrinology and Metabolism**. v. 15, n. 4, p. 513-531, Dec. 2001.

BENCHEKROUN, G.; FORNEL-THIBAUD, P.; DOBORD, M.; DOSSIN, O.; FRACASSI, F.; RANNOU, B.; GARNIER, F.; MAUREY-GUENEC, C.; DAMINET, S.; ROSENBERG, D. Plasma ACTH Precursors in Cats with Pituitary-Dependent Hyperadrenocorticism. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 26, n.3, p. 575-581, May-Jun. 2012

BOAG, A.K.; NEIGER, R.; CHURCH, D.B. Trilostane treatment of bilateral adrenal enlargement and excessive sex steroid hormone production in a cat. **Journal of Small Animal Practice**. v.45, n.5, p. 263–266, Feb. 2004.

BOLAND, L.A.; BARRS, V.R. Peculiarities of Feline Hyperadrenocorticism: Update n diagnosis and treatment. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v.19, n.9 p. 933-947, Sep. 2017.

BRISCOE, K.; BARRS, V.R.; FOSTER, Briscoe K, Barrs VR, Foster, D.F.; BEATTY, J.A. Hyperaldosteronism and hyperprogesteronism in a cat. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v.11, p. 758-762, 2009.

BROWN, A.L.; BEATY, J.A.; LINDSAY, S.A.; BARRS, V.R. Severe systemic hypertension in a cat with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. **Journal of small animal practice**. v. 53, p. 132-135, Feb. 2011.

BURKITT, J.M.; HASKINS, S.C.; NELSON, R.W.; KASS, P.H. Relative Adrenal Insufficiency in Dogs with Sepsis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 21, p.226-231, 2007.

BURKITT, J.M. Controversies surrounding critical illness-related corticosteroid insufficiency in animals. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**. v. 25, n.1, p. 107-112, 2015.

CALSYN, J.D.R.; GREEN, R.A.; DAVIS, G.J.; REILLY, C.M. Adrenal pheochromocytoma with contralateral adrenocortical adenoma in a cat. **Journal of the American Animal Hospital Association**. v.46, n.1, p. 36–42, 2010.

COHN, L.A.; DeCLUE, A.E.; COHEN, R.L.; REINERO, C.R. Effects of fluticasone propionate dosage in an experimental model of feline asthma. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v.12, p. 91-96, 2010.

COMBES, A.; PEY, P.; PAEPE, D.; ROSENBERG, D.; DAMINET, S.; PUTCUYPS, I.; BEDU, A.S.; DUCHATEAU, L.; FORNEL-THIBAUD, P.; BENCHEKROUN, G.; SAUNDERS, J. Ultrasonographic appearance of adrenal glands in healthy and sick cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 15, n.6 p. 445–457, jun. 2013.

CROSS E.; MORELAND, R.; WALLACK, S. Feline pituitary-dependent hyperadrenocorticism and insulin resistance due to a plurihormonal adenoma. **Topics in Companion Animal Medicine**. v.27, p.8–20, 2012.

DANIEL, G.; MAHONY, O.M.; MARKOVICH, J.E.; APPLEMAN, E.; MONAGHAN, K.N.; LAWRENCE, Y.A.; FIOCCHI, E.H.; WEAVER, K.; JOHNSTON, A.; BARTON, B. Clinical findings, diagnostics and outcome in 33 cats with adrenal neoplasia. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v 18, n.2, p. 77-84, 2016.

DeCLUE, A.E.; BRESHEARS, L.A.; PARDO, I.D.; KERL, M.E.; PERLIS, P.; COHN, L.A. Hyperaldosteronism and Hiperprogesteronism in a cat with adrenal cortical carcinoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 19, p.355-358, 2005.

DeCLUE, A.E.; MARTIN, L.G.; BEHREND, E.N.; COHN, L.A.; DISMUKES, D.I.; LEE, H.P. Cortisol and aldosterone response to various doses of cosyntropin in healthy cats. **Journal of American Veterinary Medicine Association**. v. 238, n.2, p. 176–182, Jan. 2011.



De JONG, M.F.C.; MOLENAAR, N.; BEISHUIZEN, A.; GROENEVELD, A.B.J. Diminished adrenal sensitivity to endogenous and exogenous adrenocorticotrophic hormone in critical illness: a prospective cohort study. **Critical Care**. v.19, n1. Jan. 2015.

DELLINGER, R. P.; LEVY, M.M.; RHODES, A.; ANNANE, D.; GERLACH, H. OPAL, S.M.; et al Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. **Journal of Critical Care Medicine**. v. 39, p. 165–228, 2013.

DJAJADININGRAT-LAANEN, S.C.; GALAC, S.; KOOISTRA, H.S. Primary hyperaldosteronism: expanding the diagnostic net. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 13, p. 641-650, Sep. 2011.

De JONG, M.F.C.; MOLENAAR, N.; BEISHUIZEN, A.; GROENEVELD, J.A.B. Diminished adrenal sensitivity to endogenous and exogenous adrenocorticotrophic hormone in critical illness: a prospective cohort study. **Journal of Critical Care**. v.19, n.1, 2015.

DURKAN, S.; De LAFORCADE, A.; ROZANSKI, E.; RUSH, J.E. Suspected relative adrenal insufficiency in a critically ill cat. **Journal of Veterinary Emergency Critical Care**.v. 17, p. 197–201, 2007.

ELLIOTT, D.A.; FELDMAN, E.C.; KOLIK, P.D.; SAMII, V.F.; NELSON, R.W. Prevalence of pituitary tumors among diabetic cats with insulin resistance. **Journal of American Veterinary Medicine Association**. v.216, n.11, 2000.

FELDMAN, E.C.; TYRRELL, J.B. Hypoadrenocorticism. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**.v.3, p. 555-581, Aug. 1977.

FELDMAN, E.C.; STABENFELDT, G.H.; FARVER, T.B.; ADDIEGO, L.A. Comparison of aqueous porcine ACTH with synthetic ACTH in adrenal stimulation tests of the female dog. **American Journal of Veterinary Research**.v.43, n.3, p.522-524, Feb.1982.

FELDMAN, E.C.; NELSON, R.W. Hyperadrenocorticism in cats (Cushings's syndrome). *In*: FELDMAN, E.C. NELSON, R.W. **Canine and Feline Endocrinology and Reproduction**. 3<sup>rd</sup> ed. St Louis, Mo: Saunders, 2004, p. 358-393.

FELDMAN, E.C.; Hyperadrenocorticism in cats. *In*: FELDMAN, E.C, NELSON, R.W, REUSH, C et al. **Canine and Feline endocrinology**. 4<sup>th</sup> ed. Sant Louis, Mo: Saunders, 2015, p. 452-484.

FERASIN, L. Iatrogenic hyperadrenocorticism in a cat following a short therapeutic course of methylprednisolone acetate. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v.3, p. 87-93, 2001.

FERNANDEZ, Y.; SETH, M.; MURGIA. Feline primary hyperaldosteronism: clinical and surgical approach. **Companion Animal**. v.21, n.3, 2016.

FRACASSI, F.; MANDRIOLI, L.; DIANNA, A.; HILBE, M.; GRINWIS, G.; GANDINI, G. Pituitary macroadenoma in a cat with diabetes mellitus, hypercortisolism and neurological signs. **Journal of Veterinary Medicine**. v.54, p. 359–363, 2007.

FURTADO, P.V.; GUISSO, D.C.R.; SOILA, R.; ROTTA, P.L.; FUKUMORI, R.; OLIVEIRA, C.A. Evaluation of Corticotropin (Acthelea) Effect in the ACTH Stimulation Test in Dogs with Hyperadrenocorticism. **ACVIM**, 2017.

GALAC, S.; REUSCH, C.E.; KOOISTRA, H.S.; RIJNBERK, A. Adrenals. In: Rijnberk A., Kooistra H.S. **Clinical Endocrinology of Dogs and Cats**. 2<sup>nd</sup>, Schlutersche, Hannover: 93-154, 2010.

GAYRARD, V.; ALVINERIE M.; TOUTAIN, P.L. Interspecies variations of corticosteroid-binding globulin parameters. **Domestic Animal Endocrinology**. v. 13, n.1, p. 35–45, Jan. 1996.

GENARO, G.; MORAES, W.; SILVA, J.C.R.; ADANIA, C.H.; FRANCI, C.R. Plasma hormones in neotropical and domestic cats undergoing routine manipulations. **Research in Veterinary Science**, v.82, n.2, p. 263-270, 2007.

GIUDICE, E.; MACRÌ, E.; CRINÒ, C.; VIGANÒ, F.; Di PIETRO, S. Hypoadrenocorticism in a Young dwarf cat – case report. **Veterinarski Arhiv**. v. 86, n.4, p. 591-600, 2016.

GOY-THOLLOT, I.; DECOSNE-JUNOT, C.; BONNET, J.M. Influence of aging on adrenal responsiveness in a population of eleven healthy beagles. **Research in Veterinary Science**. v. 82, p.195–201, 2007.

GOLDEN, D.L.; LOTHROP, C.D. Jr. A retrospective study of aldosterone secretion in normal and adreopathic dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.2, p. 121–125, 1988.

GRECO, D.S Hypoadrenocorticism in small animals. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**. v. 22, p.32-35, 2007.

GUNN-MOORE, D. Feline endocrinopathies. **Veterinary Clinics Small Animal Practice**. v.35, p.171-210, 2005.

GUERIOS, S.D.; SOUZA, C.H.M.; BACON, N.J. Adrenocortical tumor in a cat secreting more than one type of corticosteroid. **Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports**. 2015.

HAMPTON, A.; FORD, A.; COX, E.R.<sup>3RD</sup>.; LIU, C.C.; Effects of music on behavior and physiological stress response of domestic cats in a veterinary clinic. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 22, n.2, p.122-128, 2020.

HOCK, C.E.; Atypical hypoadrenocorticism in a Birman cat. **The Canadian Veterinary Journal**. v.52, p.893–896, 2011.

IKI, T., AHERNS, F.; PASCHE, K.H.; BARTELS, A.; ERHARD, M.H. Relationships between scores of the feline temperament profile and behavioural and adrenocortical responses to a mild stressor in cats. **Applied Animal Behaviour Science**, v.132, n.1-2, p. 71-80, 2011.

IMMINK, W.F.G.A.; VAN TOOR, A.J.; VOS, J.H, VAN DER LINDE-SIPMAN, J.S.; LUBBERINK, A.A. Hyperadrenocorticism in four cats. **The Veterinary Quarterly**. v.14, n.3, 1992.

JAVADI S.; SLINGERLAND, L.I.; VAN DE BEEK, M.G.; Plasma renin activity and plasma concentrations of aldosterone, cortisol, adrenocorticotrophic hormone, and alpha-melanocytstimulating hormone in healthy cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 18, 2004.

JAVADI, S.; DJAJADININGRAT-LAANEN, S.C.; KOOISTRA, H.S.; VAN DONGEN, A.M.; VOORHOUT, G.; VAN SLUIJS, F.J.; VAN DEN INGH, T.S.G.A.M.; BOER, W.H.; RIJNBERK, A. Primary hyperaldosteronism, a mediator of progressive renal disease in cats. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 28, p. 85–104, 2005.

JERICÓ, M.M.; BENTO, F.M.; SILVA, R.D.; CARDOZO, F.F.S.; PONCE, F.G; SOILA, R.M.; FURTADO, P.V; MACHADO, F.L.A. Adrenal function evaluation in critically ill dogs with low doses of synthetic ACTH. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 57, n.2, 2020.

KASABALIS, D.; BODINA, E.; SARIDOMICHELAKIS, M.N. Severe hypoglycaemia in a cat with primary hypoadrenocorticism. **Journal of Feline Medicine and Surgery** v. 14, n.10, 2012; p. 755–758, 2012.

KEITH, A.M.M.; BRUVETTE, D. Stanley S. Trilostane Therapy for Treatment of Spontaneous Hyperadrenocorticism in Cats: 15 Cases (2004–2012). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, p. 1471–1477, 2013.

KEMPPAINEN, R.J; SARTIN, J.L. Effects of single intravenous doses of dexamethasone on baseline plasma cortisol concentrations and response to synthetic ACTH in healthy dogs. *American Journal of Veterinary Research*. v. 45, n.4, p. 742-746, Apr.1984.

KEMPPAINEN, R.J; SARTIN, J.L. Differential regulation of peptide release by the canine pars distalis and pars intermedia. **Frontiers of Hormone Research**. v.17, p.18-27, 1987.

KEMPPAINEN, R.J.; PETERSON, M.E.; SARTIN, J.L. Plasma free cortisol concentrations in dogs with hyperadrenocorticism. **American Journal of Veterinary Research**. v.52, n.5, p.682–686. May. 1991.

KEMPPAINEN, R.J.; CLARK, T.P.; SARTIN, J.L.; ZERBE, C.A. Regulation of adrenocorticotropin secretion from cultured canine anterior pituitary cells. **American Journal of Veterinary Research**. v.53, n.12, p. 2355-2358, Dec. 1992.

KEMPPAINEN, R.J. Amino acid differences in cat adrenocorticotropin account for the inability of a human-based immunoradiometric assay to detect the molecule in cat plasma. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. v. 26, n.3, p. 431-433, may. 2014.

KIMITSUKI, K.; BOONSRIROJ, H.; KOJIMA, D.; PARK, C.H. A case report of feline pituitary carcinoma with hypercortisolism. **Journal of Veterinary Medicine Science**. v. 76, p. 133-138, 2014.

KLEY, S.; ALT, M.; ZYMMER, C.; HOERAUF, A.; REUSCH, C.E. Evaluation of the low-dose dexamethasone suppression test and ultrasonographic measurements of the adrenal glands in cats with diabetes mellitu. **Schweizer Archiv für Tierheilkunde**. V. 149, p.493-500, 2007.

KOOISTRA, H.S.; GREVEN, S.H.; MOL, J.A.; RIJNBERK, A. Pulsatile secretion of -MSH and the differential effects of dexamethasone and haloperidol on the secretion of -MSH and ACTH in dogs. **Journal of Endocrinology**. v.152, n.1, p. 113–121, 1997.

LATHAN, P. Hypoadrenocorticism in Dogs and Cats. *In*: BRUYETTE, D.S.; BEXFIELD, N; CHRETIN, J.D, et al: **Clinical Small Animal Internal Medicine**. John Wiley & Sons, Inc., 2020. p. 81-89.

LANDON, J.; JAMES, V.H.T.; CRYER, R.J.; WYNN, V.; FRANKLAND, A.W. Adrenocorticotropic Effects of a Synthetic Polypeptide- $\beta$ -Corticotropin-in Man. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**.v.24, n.11, p. 1206-1213, nov. 1964.

LESHINKSY, J.; BEATTY, J.A.; FAWCETT, A.; VOSS, K.; MAKARA, M.; KROCKENBERGER, M.B.; BARRS, V.R. Aldosterone and progesterone secreting adrenocortical adenocarcinoma in a cat with a concurrent meningioma. **Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports**. v.2, 2016.

LIEN, Y.; HUANG, H.; CHANG, P.; Iatrogenic hyperadrenocorticism in 12 cats. **Journal of the American Animal Hospital Association**. v.42, p. 414-423, 2006.

MARIK, P.E.; ZALOGA, G.P. Adrenal insufficiency during septic shock. **Critical Care Medicine**. v. 31, n.1, p. 141-145, Jan. 2003.

MARIK, P.E.; PASTORES, S.M.; ANNANE, D.; MEDURI, G.U, SPRUNG, C.L.; ARLT, W. Recommendations for the diagnosis and management of corticosteroid

insufficiency in critically ill adult patients: consensus statements from an international task force by the American College of Critical Care Medicine. **Critical Care Medicine**. v.36, p. 1937–1949, 2008.

MARTIN, L. G.; GROMAN, R.P.; FLETCHER, D.J.; BEHREND, E.N.; KEMPPAINEN, R.J.; MOSER, V.R.; HICKEY, K.C. Critical illness-related corticosteroid insufficiency in small animals. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice** v. 233, n.1, 2008.

MARTIN, L. G. Pituitary-adrenal function in dogs with acute critical illness. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**. v. 41 p. 767–782, 2011.

MAYER, M.N.; GRECO, D.S.; LaRue, S.M. Outcomes of pituitary tumor irradiation in cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v.20, p. 1151–1154, 2006.

MAZZOTTI, G.A.; BOERE, V. The right ear but not the left ear temperature is related to stress-induced cortisolaemia in the domestic cat (*Felis catus*). **Laterality: Asymmetries of Body, Brain and Cognition**. V. 14, n.2, p.196-204, 2009.

MEJI, B.P.; VOORHOUT, G.; VAN DEN INGH, T. S.G.A.M.; RIJNBERK, A.D. Transsphenoidal hypophysectomy for treatment of pituitary-dependent hyperadrenocorticism in 7 cats. **Veterinary Surgery**, v. 30, p. 72-86, 2001.

MEJI, B.P, VAN DER VLUGT-MEIJER, R.H, VAN DEN INGH, T.S.G.A, RIJNBERK, A. Somatotroph and Corticotroph pituitary adenoma (double adenoma) in a cat with diabetes mellitus and hyperadrenocorticism. **Journal of Comparative pathology and therapeutics**. v.130, n.2-3, p. 209-215, 2004.

MEJI, B.P, VAN DER VLUGT-MEIJER, R.H, VAN DEN INGH, T.S.G.A, FLIK, G. RIJNBERK, A. Melanotroph pituitary adenoma in a cat with diabetes mellitus. **Veterinary pathology**. v.42, n.1, p.92-97, 2005.

MELER, E.N.; SCOTT-MONCRIEFF, J.C.; PETER, A.T.; BENNETT, S.; RAMOS-VARA, J.; SALISBURY, S.K.; NAUGHTON, JF. Cyclic estrous-like behavior in a spayed cat associated with excessive sex-hormone production by an adrenocortical carcinoma. **Journal of Feline Medicine and Surgery**.v.13, p. 473-478, 2011.

MELLET, K.A.M.; BRUVETTE, D.; STANLEY, S. Trilostane therapy for treatment of spontaneous hyperadrenocorticism in cats:15 cases (2004-2012). **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v.27, p.1471-1477, 2013.

MEYER HP, ROTHUIZEN J. Determination of the percentage of free cortisol in plasma in the dog by ultrafiltration /dialysis. **Domestic Animal Endocrinology**.v.10, n.1, p.45–53, jan. 1993.

MIDZAK A, PAPADOPOULOS V. Adrenal Mitochondria and Steroidogenesis: From Individual Proteins to Functional Protein Assemblies. **Frontiers Endocrinology**. v. 7, n. 106, 2016.

MILLARD, R. P.; PICKENS, E.H.; WELLS, K.L. Excessive production of sex hormones in a cat with an adrenocortical tumor. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 234, n.4, p.505-508, 2009.

MITCHEL J.W.; MAYHEW, P.D.; CULP, W.T.; CASE, J.B.; SINGH, A.; FULLER, M.C.; MAGGIORE, A.D. Outcome of laparoscopic adrenalectomy for resection of unilateral noninvasive adrenocortical tumors in 11 cats. **Journal of veterinary surgery**. v. 46, n.5, p. 714-721, 2017.

NEIGER, R.; WITT, A.L.; NOBLE, A.; ALEMAO, A.J.; Trilostane therapy for treatment of pituitary-dependent hyperadrenocorticism in 5 cats. **Journal of veterinary internal medicine**. v. 18, n.2, 2004.

PEETERS, B.; BOONEN, E. LANGOUCHE, L.; BERGHE VAN DEN, G. The HPA axis response to critical illness: New study results with diagnostic and therapeutic implications. **Molecular and cellular endocrinology**. v. 408, p.236-240, 2014.

PEREIRA, J.S.; FRAGOSO, S.; BECK, A.; LAVIGNE, S.; VAREJÃO, A.S.; PEREIRA, G.G. Improving the feline veterinary consultation: the usefulness of Feliway spray in reducing cats' stress. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 18, n. 12, p. 959-964, aug. 2015.

PETERSON, M.E.; GRAVES, T.K. Effects of low dosages of intravenous dexamethasone on serum cortisol concentrations in the normal cat. **Research in veterinary science**. v.44, n.1, p.38-40, 1988.

PETERSON, M.E.; GRECO, D.S.; ORTH, D.N. Primary hypoadrenocorticism in ten cats. **Journal of veterinary internal medicine**. v. 3 p. 55-58, apr-jun. 1989.

PETERSON, M.E.; KEMPPAINEN, R.J. Comparison of the immunoreactive plasma corticotropin and cortisol responses to two synthetic corticotropin preparations (tetracosactrin and cosyntropin) in healthy cats. **American Journal of Veterinary Research**. v.53, n.10, p-1752-1755, Oct. 1992.

PETERSON, M.E.; KEMPPAINEN, R.J. Dose-response relation between plasma concentrations of corticotropin and cortisol after administration of incremental doses cosyntropin for corticotropin simulation testing in cats. **American Journal of Veterinary Research**. v.54, n.2, p. 300-304, Feb.1993.

PEYTON, J.L.; BURKITT, J.M. Critical illness related corticosteroid insufficiency in a dog with septic shock. **Journal of Veterinary Emergency Critical Care**. v.19, p.262-268, 2009.

PHILLIPS, M.; TASHJIAN A.H. Characterization of an early inhibitory effect of glucocorticoids on stimulated adrenocorticotropin and endorphin release from a clonal strain of mouse pituitary cells. **Endocrinology**. v. 110, p.892, 1982.

PISANO, S.R.R.; HOWARD, J.; POSTHAUS, H.; KOVACEVIC., A. YOZOVA, I.D. Hydrocortisone therapy in a cat with vasopressor-refractory septic shock and suspected critical illness-related corticosteroid insufficiency. **Clinical Case Reports**. v.5, n.7, p.1123-1129. 2017.

REDDEN, B. Feline Hypoadrenocorticism. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**. v .27, n.9, p.697-706, 2005.

RECHE, A.J.; RAMOS, D.; FERREIRA, M.; DA SILVA, L.A.G.P, HIRAI, Y.; HORTA, P.V. A case of behavioral changes in a castrated male cat due to a functional adrenocortical adenoma producing testosterone and androstenedione. **Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports**. v. 7, n.1, 2021.

RHODES, A.; EVANS, L. E.; ALHAZZANI, W.; LEVY, M.M.; ANTONELLI, M, FERRER, R.; KUMAR, A.; SEVRANSKY, J.E.; SPRUNG, C.L.; NUNNALLY, M.E.; ROCHWERG, B. et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016. **European Journal of Intensive Care Medicine**. v.43, n.3. p.304–377, 2017.

RINIKER B, SIEBER P, RITTEL W. Revised Amino-acids Sequences for Porcine and Human Adrenocorticotrophic Hormone. **Nature New Biology**. v. 235, p.114-115, 1972.

RODAN, I; SUNDAHL, E.; CARNEY, H.; GAGNON, A-C.; HEATH, S.; LANDSBERG, G.; SEKSEL, K.; YIN, S. AAFP and ISFM Feline-Friendly Handling Guidelines. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 13, p.364-375, 2011.

ROSSMEISL, J.H.Jr.; SCOTT-MONCRIEFF, J.C.; SIEMS, J.; SNYDER, P.W.; ANOTHAYANONTHA, L.; OLIVER, J.W. Hiperadrenocorticism and hyperprogesterenomia in a cat with an adrenocortical adenocarcinoma. **Journal of the American Animal Hospital Association**. v.36, n.6, p. 512-517, nov-dec. 2000.

RUDINSKY, A.J.; CLARK, E.S.; RUSSEL, D.S.; GILOR, C. Adrenal insufficiency secondary to lymphocytic panhypophysitis in cat. **Journal of the Australian Veterinary**. v.93, n.9, p.327-331, sep. 2015.

SCHAER, M.; GINN, P.E. Iatrogenic Cushing's syndrome and steroid hepatopathy in a cat. **Journal of the American Animal Hospital Association**. v.35, p.48-51, 1999.

SCHOEMAN, J.P.; EVANS, H.J.; CHILDS, D.; HERRTAGE, M.E. Cortisol response to two different doses of intravenous synthetic ACTH (tetracosactrin) in overweight cats. **The Journal of Small Animal Practice**. v.41, n.12, p. 552-557. Dec. 2000.

SCHROEDER, S.; WICHERS, M.; KLINGMULLER, D.; HOFFER, M.; LEHMANN, L.E.; VON SPIEGEL, T.; HERING, R.; PUTENSEN, C.; HOEFT, A.; STUBER, F. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis of patients with severe sepsis:

altered response to corticotropin-releasing hormone. **Critical Care Medicine**. v. 29, n.2, p.310-316. Feb. 2001.

SCOTT-MONCRIEFF, J.C.R. Hypoadrenocorticism. In: ETTINGER, S. J., E. C. REBECKA S. FELDMAN. **Textbook of Veterinary Internal Medicine Diseases of the Dog and Cat**. Amsterdam: Elsevier, 2010 p.1847-1857.

SELLON, R.K.; FIDEL, J.; HOUSTON, R.; GAVIN, P.R. Linear-accelerator-based modified radiosurgical treatment of pituitary tumors in cats: 11 cases (1997–2008). **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 23, n.4, p.1038-1044, sep-oct. 2009.

SHARMAN, M.; FITZGERALD, L.; KIUPEL, M. Concurrent somatotroph and plurihormonal pituitary adenomas in a cat. **Journal of Feline Medicine and Surgery** v.15, n.10, p. 945-952, oct, 2013.

SKELLY, B.J.; PETRUS.; D. NICHOLLS, P.K. Use of trilostane for the treatment of pituitary-dependent hyperadrenocorticism in cat. **Journal of Small Animal Practice**. v. 44, n.6. p. 269-272, feb. 2006.

SICKEN, J. NEIGER, R. Addisonian crisis and severe acidosis in a cat: a case of feline hypoadrenocorticism. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 15, n.10, p. 941-944, oct. 2013.

SPARKES, A.H.; ADAMS, D.T.; DOUTHWAITE, J.A.; GRUFFYDD-JONES, T.J. Assessment of adrenal function in cats: response to intravenous synthetic ACTH. **Journal of Small Animal Practice**. v.31, p. 2-5, 1990.

STONEHEWER, J.; TASKER, S. Hypoadrenocorticism in a cat. **Journal of Small Animal Practice**. v.42, n.4, p. 186-190. Jun 2008.

STEWART, P.M.; KRONE, N.P. The Adrenal cortex. In: MELMED, S et al. **Williams Textbook for endocrinology**. Philadelphia:Saunders/Elsevier, 2011, p.177-520.

SUMMER, J.P.; HULSEBOSCH, S.E.; DUDLEY, R.M.; MILLER, M.L.; HAYES, G.M. Sex-hormone producing adrenal tumors causing behavioral changes as the sole clinical sign in 3 cats. **The Canadian Veterinary Journal**. v.60, n.3, p. 305-310. Feb. 2019.

SWIFT, G.A.; BROWN, R.H. Surgical treatment of Cushing's syndrome in the cat. **The Veterinary Record**. v.99, n.19, p. 374-375, nov. 1976.

TARDO, A.M.; REUSCH, C.E.; GALAC, S.; FORNETTI, S.; TIROLO, A.; GOLINELLI, S.; SHEHDULA, D.; FRACASSI, F. Feline plasma adrenocorticotrophic hormone: validation of a chemiluminescent assay and concentrations in cats with hypercortisolism, primary hypoadrenocorticism and other diseases. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 23 n. 2, p. 67-73. Jun.2020.



TASKER, S.; MACKA, A.D.; SPARKES, A.H. A case of feline primary hypoadrenocorticism. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v.1, n.4, p. 257–260, dec. 1999.

TORDJMAN, K.; JAFFE, A.; TROSTANETSKY, Y.; GREENMAN, Y.; LIMOR, R.; STERN, N. Low-dose (1 microgram) adrenocorticotrophin (ACTH) stimulation as a screening test for impaired hypothalamo-pituitary-adrenal axis function: sensitivity, specificity and accuracy in comparison with the high-dose (250 microgram) test. **Clinical endocrinology (Oxford)**. v.52, n.5, p. 633-640, may. 2000.

VALENTIN, S.Y.; CORTIGHT, C.C.; NELSON, R.W.; PRESSLER, B.M.; ROSENBERG, D.; MOORE, G.E.; SCOTT-MONCRIEFF, I.C. Clinical findings, diagnostic test results, and treatment outcome in cats with spontaneous hyperadrenocorticism: 30 cases. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 28, n.2, p. 481-487. Jan. 2014.

WATSON, P.J.; HERRTAGE, M.E. Hyperadrenocorticism in six cats. **Journal of Small Animal Practice**. v. 39, n.4, p.175-184. Jun. 2008.

WOOLCOCK, A.D.; WARD C. Successful treatment of a cat with primary hypoadrenocorticism and severe hyponatremia with desoxycorticosterone pivalate (DOCP). **The Canadian Veterinary Journal**. v.56, n.11, p.1158–1160, nov. 2015.

ZALOGA, G.P.; MARIK, P. Hypothalamic-Pituitary Adrenal Insufficiency. **Critical Care Clinics**. v.17, n.1. p.704-749, Jan. 2001.

ZERBE, M.S.; REFSAL, K.R.; PETERSON, M.E.; ARMSTRONG, P.J, NACHREINER, R.F.; SCHALL, W.D. Effect of nonadrenal illness on adrenal function in the cat. **American Journal of Veterinary Research**. v.48, n.3, p.451-454, 1987.

ZIMMER, C.; HORAUF, A.; REUSCH, C. Ultrasonographic examination of the adrenal gland and evaluation of the hypophyseal-adrenal axis in 20 cats. **The Journal of Small Animal Practice**. v.41, n.4, p.156-160. Apr. 2000.

**6 CARTA DE APROVAÇÃO NA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

**UFRGS**  
UNIVERSIDADE FEDERAL  
DO RIO GRANDE DO SUL

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA**

Comissão De Ética No Uso De Animais

**CARTA DE APROVAÇÃO**

Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:

**Número:** 39741

**Título:** VALIDAÇÃO DE UMA APRESENTAÇÃO DE ACTH SUINO RECOMBINANTE PARA TESTE DE ESTIMULAÇÃO ADRENAL EM FELINOS

**Vigência:** 15/10/2020 à 31/07/2021

**Pesquisadores:**

**Equipe UFRGS:**

ALAN GOMES POPPL - coordenador desde 15/10/2020  
Daniela Jardim Lopes - desde 15/10/2020  
STELLA DE FARIA VALLE - pesquisador desde 15/10/2020  
FERNANDA VIEIRA AMORIM DA COSTA - pesquisador desde 15/10/2020  
DANIEL GUIMARÃES GERARDI - pesquisador desde 15/10/2020

*Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo, em reunião realizada em 09/11/2020 - Reunião via webconferência - Sistema UFRGS - Mconf, em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de 7 gatos (diferentes idades, sexos e pesos), selecionados entre os animais de estimação dos próprios integrantes, de pesquisa de acordo com os preceitos das Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008, o Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, e as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), que disciplinam a produção, manutenção e/ou utilização de animais do filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) em atividade de ensino ou pesquisa.*

Porto Alegre, Sexta-Feira, 20 de Novembro de 2020

ALEXANDRE TAVARES DUARTE DE OLIVEIRA  
Coordenador da comissão de ética