

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

**ESTUDO DO LACTATO PLASMÁTICO NO HIPERCORTISOLISMO CANINO E
CORRELAÇÕES COM HIPERTROFIA DE VENTRÍCULO ESQUERDO, PRESSÃO
ARTERIAL SISTÓLICA E PROTEINÚRIA**

PORTO ALEGRE

2023/1

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

**ESTUDO DO LACTATO PLASMÁTICO NO HIPERCORTISOLISMO CANINO E
CORRELAÇÕES COM HIPERTROFIA DE VENTRÍCULO ESQUERDO, PRESSÃO
ARTERIAL SISTÓLICA E PROTEINÚRIA**

Autora: Taís Bock Nogueira

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

Orientador: Dr. Alan Gomes Pöppl

Coorientador: Dr. Rodrigo Cardoso Rabelo

PORTO ALEGRE

2023/1

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

CIP - Catalogação na Publicação

Bock Nogueira, Tais
ESTUDO DO LACTATO PLASMÁTICO NO HIPERCORTISOLISMO
CANINO E CORRELAÇÕES COM HIPERTROFIA DE VENTRÍCULO
ESQUERDO, PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA E PROTEINÚRIA /
Tais Bock Nogueira. -- 2023.

66 f.

Orientador: Alan Gomes Pöppl.

Coorientador: Rodrigo Cardoso Rabelo.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa
de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto
Alegre, BR-RS, 2023.

1. Hipercortisolismo. 2. Lactato. 3. Proteinúria.
4. Prognóstico. 5. Complicações. I. Gomes Pöppl, Alan,
orient. II. Cardoso Rabelo, Rodrigo, coorient. III.
Titulo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu orientador, prof. Dr. Álan Gomes Pöpl. Me faltam palavras para descrever toda a admiração que tenho por ti. Tu estiveste sempre presente durante esses dois anos, mesmo nas tuas férias e nos períodos de restrição de funcionamento do hospital por causa da pandemia. Obrigada por sempre me fazer sentir acolhida, porque tu sempre foste extremamente aberto e receptivo. Tu fazes o mundo complexo dos hormônios ser algo fascinante e fizeste o meu período de mestrado ser ainda melhor do que eu poderia imaginar. Obrigada por todos os feedbacks também, eu ouvi todos com muito carinho e tento seguir teus passos. Por fim, sou muito grata pelos teus cuidados com a Vitória, graças às tuas orientações ela pôde ter muito mais qualidade de vida até o momento da despedida.

Nesse último ano, ganhei um grande amigo e parceiro de mestrado, meu querido amigo José Lucas Xavier. Sou muito feliz por te ter na minha vida. Obrigada por sempre acreditar em mim e me incentivar. Admiro a tua inteligência, caráter e bom coração. Obrigada por todas as vezes que tu foste para o hospital bem mais cedo ou saiu tarde da noite só para me ajudar. Que continuemos sendo grandes parceiros, que sigamos crescendo juntos e ajudando um ao outro a realizar os nossos sonhos.

Agradeço a todos os estagiários do nosso serviço, Denise, Bruna, Caroline, Fernanda, Laura, Letícia, Lucas, Luiza, Mirela e Sophia. Mesmo com todos os compromissos da faculdade e da vida, o trabalho de vocês sempre foi feito com muito carinho, e a amizade de vocês tornou o meu período de mestrado muito mais leve e alegre.

À equipe do LACVET, em especial à prof. Dra. Stella de Faria Valle e à Vanessa Dalla Porta Eder, e aos colegas MSc. Daniela Jardim e Dr. Frederico Aécio, pela parceria na realização dos exames, que possibilitou o desenvolvimento deste estudo. Ao meu coorientador, Dr. Rodrigo Cardoso Rabelo e aos membros da banca, Prof. Dra. Carolina Zaghi Cavalcante, Prof. Dra. Gláucia Bueno Pereira Neto e Prof. Dra. Mariana Cristina Hoepfner Rondelli, agradeço por todas as contribuições para o engrandecimento deste estudo.

Aos meus pais, Eliete Bock Nogueira e Rogério Bernardino Nogueira, aos meus irmãos Jéssica, Rafael e Rosana, meu namorado Luiz Eduardo Barcellos Rodrigues e às minhas amigas Daniela da Silva Maria e Rosane da Costa Duarte, agradeço pelo amor incondicional, por fazerem dos meus sonhos os de vocês e por lutarem comigo pela realização deles. Vocês são a minha certeza de que tudo sempre vai ficar bem, mesmo nos tempos mais difíceis. “Ser profundamente amado por alguém nos dá força; amar alguém profundamente nos dá coragem” (Lao-Tse).

E por fim, obrigada ao meu amor de quatro patas, Vitória, que se despediu após 16 anos na vida da nossa família e após 8 meses de acompanhamento dentro do estudo. Precisar de deixar descansar foi a decisão mais difícil dos últimos dois anos. Obrigada por me dar tanto amor e por tornar tão fácil te amar.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	População amostral do estudo: esquematização do número de animais incluídos no estudo de acordo com o tipo de avaliação (prospectiva ou transversal).....	31
Figura 2	Varição da lactatemia antes do tratamento do HC e após o controle adequado da cortisolemia.....	
Figura 3	Comparação entre os valores pontuais de lactato obtidos em diferentes momentos de acordo com o grau de controle do HC (pacientes recém diagnosticados em azul, pacientes com mau controle em vermelho e pacientes com bom controle em verde).....	35 36
Figura 4	Gráfico comparativo entre os dias de sobrevida dos pacientes normolactatêmicos (azul) e hiperlactatêmicos (vermelho) no momento do diagnóstico do HC.....	39
Figura 5	Gráfico comparativo entre os dias de sobrevida de pacientes não proteinúricos (azul) e proteinúricos (vermelho) no momento do diagnóstico do HC.....	41
Figura 6	Gráfico comparativo entre os dias de sobrevida de pacientes normolactatêmicos e não proteinúricos (azul) e de pacientes hiperlactatêmicos e proteinúricos (vermelho) no momento do diagnóstico do HC.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Comparisons of selected parameters in 22 dogs with naturally occurring hypercortisolism accordingly with their plasma lactate values at diagnosis. Parametric variables are shown as mean \pm standard deviation. Non-parametric variables and categorical variables are shown as median and range (minimum and maximum).....	37
Tabela 2	Comparisons of selected parameters in dogs with naturally occurring hypercortisolism accordingly with their urinary protein: creatinine ratio at diagnosis. Parametric variables are shown as mean \pm standard deviation. Non-parametric variables and categorical variables are shown as median and range (minimum and maximum). Patients with active urinary sediment were excluded from this analysis.....	40
Tabela 3	Comparisons of selected parameters in dogs with naturally occurring hypercortisolism accordingly with their plasma lactate and urinary protein: creatinine ratio at diagnosis. Parametric variables are shown as mean \pm standard deviation. Non-parametric variables and categorical variables are shown as median and range (minimum and maximum). Patients with active urinary sediment were excluded from this analysis.....	42
Tabela 4	Plasma lactate correlation analysis with lactate dehydrogenase and cardiocirculatory parameters in dogs with naturally occurring hypercortisolism evaluated on different time points.....	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACEI	Inibidor da enzima conversora da angiotensina
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
ADP	Adenosina difosfato
AMPc	Adenosina monofosfato cíclico
ATP	Adenosina trifosfato
B2-MVD	Doença valvar mitral estágio B2
BCS	Escore de condição corporal
CEH	Hiperplasia endometrial cística
CKD	Doença renal crônica
CRH	Hormônio liberador de corticotrofina
CSCS	Escore clínico da síndrome de Cushing
DM	Diabetes mellitus
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
FD	Dose Final
HC	Hipercortisolismo
H+	Hídron
ID	Dose inicial
LA/Ao	Razão átrio esquerdo: aorta
LDH	Lactato desidrogenase
LVIDd	Diâmetro interno do ventrículo esquerdo em diástole
LVDWd	Parede livre do ventrículo esquerdo em diástole
NAD+	Nicotinamida adenina dinucleotídeo oxidado
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzido

PDK4	Piruvato desidrogenase quinase isômero 4
PI	Índice de perfusão
RVP	Resistência vascular periférica
SC	Síndrome de Cushing
SBP	Pressão arterial sistólica
SIVd	Septo interventricular em diástole
SRAA	Sistema renina angiotensina aldosterona
UP:C	Razão proteína: creatinina urinária

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
2.1 Hipercortisolismo.....	13
2.2 Síntese e metabolismo do lactato e suas aplicações clínicas.....	16
2.3 Perfusão tecidual e parâmetros relacionados à avaliação perfusional.....	19
2.4 Hipertrofia ventricular, hipertensão arterial sistêmica e endocardiose.....	21
2.5 Proteinúria.....	23
3 OBJETIVOS.....	25
3.1 Objetivos gerais.....	25
3.2 Objetivos específicos.....	25
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55
ANEXO 1.....	62

1 INTRODUÇÃO

O hipercortisolismo (HC), também denominado de síndrome de Cushing (SC) de ocorrência natural, é um conjunto de manifestações clínicas decorrente do excesso crônico de atividade do cortisol (ESVE, 2021). É uma das doenças endócrinas de maior incidência em cães, que compromete a qualidade de vida dos animais não tratados (SCHOFIELD, 2019). Poucos estudos avaliaram se há marcadores clínicos ou laboratoriais específicos que possam ser relacionados ao prognóstico dos pacientes.

O lactato é um produto do metabolismo que tem sua concentração aumentada em condições de hipoperfusão tecidual, mas também em decorrência de doenças que causam alterações no metabolismo de carboidratos, alterações no funcionamento de enzimas como a lactato desidrogenase e o complexo piruvato desidrogenase, aumento de exposição a fármacos como os glicocorticoides e as catecolaminas e defeitos congênitos no metabolismo (GILLESPIE; ROSENSTEIN; HUGHES, 2017). Já foi observado que humanos (OTTENS *et al.*, 2015) e cães (BOYSEN *et al.*, 2009) expostos a terapias com glicocorticoides exógenos apresentam elevação da lactatemia, bem como pacientes humanos com SC (JOHNSTON, 1980), porém há escassez de estudos sobre a lactatemia de cães com HC. A elevação do lactato sanguíneo já foi associada a pior prognóstico em cães acometidos por diversas doenças, incluindo peritonite séptica, dilatação vólculo gástrica, babesiose, anemia hemolítica imunomediada e traumatismo cranioencefálico (NEL, 2004; HOLAHAN; BROWN, DROBATZ, 2010; GREEN, 2011; CORTELLINI; SETH; KELLETT-GREGORY, 2015; SHARMA; HOLOWAYCHUK, 2015; MAURO; SCHOEFFLER, 2016), porém não há estudos que associem a lactatemia dos cães com HC com a redução do tempo de sobrevida ou presença de complicações durante o tratamento.

Cardiopatias que cursam com comprometimento do débito cardíaco e/ou insuficiência congestiva podem resultar em menor capacidade de perfusão tecidual e, conseqüentemente, aumento da lactatemia (SILVA-FILHO *et al.*, 2018). Já foi documentada a ocorrência de hipertrofia ventricular esquerda e alterações na função diastólica ventricular associadas à ocorrência do HC em cães (CHEN; LIEN; HUANG, 2014; TAKANO *et al.*, 2015) e em humanos (TOJA *et al.*, 2012), associadas ou não à hipertensão arterial sistêmica. Entretanto,

não há estudos que demonstrem se a lactatemia dos cães com HC pode estar associada com essas alterações e com seus potenciais prejuízos na perfusão tecidual.

Os objetivos deste estudo foram determinar se a presença de hiperlactatemia e de proteinúria no momento do diagnóstico do HC estão associadas à ocorrência de mais manifestações clínicas da doença, mais complicações durante o tratamento, à necessidade de maiores doses de trilostano ou à menor sobrevida dos pacientes; se há diferenças entre a lactatemia de cães recém-diagnosticados e dos pacientes com controle ruim ou com bom controle da doença; e se a lactatemia de cães com HC está associada à hipoperfusão tecidual, hipertrofia ventricular esquerda e atividade da enzima lactato desidrogenase (LDH).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Hiper cortisolismo

De acordo com a Sociedade Europeia de Endocrinologia Veterinária (ESVE, 2021), síndrome de Cushing é um conjunto de manifestações clínicas decorrente do excesso crônico de atividade glicocorticoide, resultante da exposição a hormônios esteroides endógenos ou exógenos. É uma das doenças endócrinas de maior incidência em cães, acometendo principalmente animais de idade superior a seis anos (BENNAIM; SHIEL; MOONEY, 2019) e documentado maior risco em fêmeas castradas (CAROTENUTO *et al.*, 2019).

O HC pode ser dependente ou independente da secreção de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). Em cerca de 80 a 85% dos casos o hiper cortisolismo é resultante de tumores hipofisários funcionais que secretam ACTH de forma autônoma, não obstante as alças de retroalimentação. A maior parte destes tumores são microadenomas da *pars distalis*. Fisiologicamente, a secreção de hormônio liberador de corticotrofina (CRH) pelo hipotálamo estimula a liberação de ACTH, cuja meia-vida no sangue é em torno de 1/0 minutos. Após ser secretado pela hipófise, o ACTH se liga ao receptor de melanocortina 2 acoplado à proteína G no córtex adrenal, que ativará vias de sinalização que levarão ao aumento da produção de cortisol pelas zonas fasciculada e reticular. O aumento de produção do cortisol resultará em aumento de *feedback* negativo sobre a hipófise e o hipotálamo, porém nos cães com HC ACTH-dependente o tumor hipofisário funcional secretor não responde adequadamente a essa sinalização, mantendo a produção de ACTH e levando à hiperplasia bilateral das glândulas adrenais (FELDMAN; NELSON, 2015; NELSON; COUTO, 2015). Também já foi descrita ocorrência de neoplasia de medula adrenal levando à secreção ectópica de ACTH e ao desenvolvimento de HC ACTH-dependente (LEE, S. *et al*, 2020).

O HC também pode ser causado por neoplasias adrenais secretoras de cortisol, podendo ser denominado de HC ACTH-independente. Nesses casos, adenomas e carcinomas adrenais produzem cortisol de forma autônoma, aumentando o *feedback* negativo sobre o hipotálamo e a hipófise e reduzindo a secreção de ACTH e CRH, o que resulta na atrofia da glândula adrenal contralateral ao tumor (FELDMAN; NELSON, 2015; NELSON; COUTO, 2015). Também já foi descrita expressão de receptores adrenais aberrantes levando ao desenvolvimento de SC

ACTH-independente (ESPIÑEIRA, 2021). Em trabalho recente foi descrita a ocorrência de SC secundária à hiperexpressão de ACTH pelas células adrenocorticais em um cão, questionando as terminologias apropriadas para definição da etiologia da SC (ARIAS, 2022).

As manifestações clínicas do HC em cães tendem a ser crônicas e progressivas, podendo levar meses ou anos até que a doença se torne mais facilmente perceptível. Devido ao seu caráter insidioso, muitos tutores não percebem os sinais iniciais da doença e podem demorar para buscar atendimento veterinário. As principais manifestações clínicas do HC são poliúria, polidipsia, polifagia, obesidade, alopecia, distensão abdominal, taquipneia, hipertensão arterial sistêmica, letargia, fraqueza muscular, atrofia cutânea, hiperpigmentação da pele e comedos. Também podem ocorrer calcinose cutânea, anestro persistente, atrofia testicular, frouxidão ligamentar, paralisia do nervo facial e pseudomiopia. As manifestações clínicas do HC independem da sua etiologia e refletem os efeitos do cortisol sobre o sistema imune e sobre o metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídios. A exposição ao excesso de glicocorticoides de forma crônica resulta em diversas complicações que impactam a qualidade e a expectativa de vida, incluindo diabetes mellitus e tromboembolismo (HERRTAGE; RAMSEY, 2012; BEHREND *et al.*, 2013; BENNAIM; SHIEL; MOONEY, 2019). Idade avançada, presença de calcinose cutânea, escore de condição corporal inferior a 3/9 e trombocitose já foram associados a um pior prognóstico em cães com HC tratados com trilostano (JOSÉ *et al.*, 2022).

O tratamento do HC pode ser realizado com terapia medicamentosa ou cirúrgica. Há diversos medicamentos aplicáveis no manejo do HC canino com ações a nível hipofisário ou corticoadrenal, dentre os quais o trilostano é um dos mais comumente utilizados (SANDERS; KOOISTRA; GALAC, 2018). O trilostano é um esteroide sintético capaz de inibir a esteroidogênese através da inibição competitiva da enzima 3 β -hidroxiesteroide-desidrogenase, levando à redução principalmente de cortisol (POTTS *et al.*, 1978). Um efeito sobre a enzima 11 β -hidroxilase já foi especulado, mas não demonstrado em cães (SIEBER-RUCKSTUHL *et al.*, 2005). É utilizado no tratamento tanto do HC ACTH-dependente quanto do HC ACTH-independente. Atualmente recomenda-se que a introdução do trilostano seja feita em dose de 0,5 a 1mg/kg em duas administrações diárias, a fim de promover controle da cortisolemia e das manifestações clínicas da doença, e evitar a indução de efeitos adversos (FELDMAN, 2011). Preconiza-se que a administração do trilostano seja feita juntamente à alimentação, o que

proporciona melhor absorção e reduz a variabilidade na concentração sistêmica do fármaco (RAMSEY, 2010).

Existem diferentes protocolos para mensuração da cortisolemia no paciente com HC, que ajudam de forma complementar no monitoramento da doença (GOLINELLI *et al.*, 2021). O teste de estimulação com ACTH é a forma mais utilizada para monitoramento da segurança e eficácia do tratamento do HC, porém a disponibilidade e os custos do ACTH podem tornar a realização do teste inviável. Estudo realizado comparando diferentes ferramentas de monitoramento do tratamento de pacientes com HC mostrou que as determinações de cortisol pré-trilostano e três horas pós-trilostano foram mais efetivas para distinguir pacientes clinicamente bem e mal controlados do que o teste de estimulação com ACTH em comparação com a opinião dos tutores (MACFARLANE; PARKIN; RAMSEY, 2016). Esses exames podem, portanto, ser uma opção complementar no monitoramento da doença. Apesar de a mensuração da cortisolemia ser uma forma importante de avaliar a segurança e a eficácia do tratamento, o ajuste da terapêutica deve sempre ser feito considerando as manifestações clínicas que o paciente apresenta (FELDMAN; NELSON, 2015).

De forma a tornar a avaliação clínica menos subjetiva, o uso de questionários desenvolvidos para tutores de pacientes com HC, que geram escores clínicos, também pode ser uma ferramenta útil no monitoramento terapêutico. A pontuação obtida nos questionários pode contribuir na compreensão do grau de controle da doença e qualidade de vida do paciente e auxiliar na tomada das decisões relacionadas à terapia instituída (SCHOEFIELD *et al.*, 2019a; SCHOEFIELD *et al.*, 2019b). De forma semelhante, o uso de escores clínicos específicos também pode ajudar na tomada de decisão diagnóstica, quantificando maior ou menor probabilidade do paciente ter HC. Dessa maneira, o escore clínico pode ser utilizado como ferramenta complementar na decisão de submeter o animal a testes hormonais, aumentando a especificidade dos testes (SCHOEFIELD *et al.*, 2020). A Sociedade Europeia de Endocrinologia Veterinária (ESVE), por meio do projeto ALIVE, propôs um escore clínico para síndrome de Cushing disponível em seu website (<https://www.esve.org/alive/search.aspx>).

2. 2 Síntese e metabolismo do lactato e suas aplicações clínicas

O lactato é um substrato energético de grande importância para o organismo. É produzido principalmente pelo tecido muscular esquelético, pele, encéfalo, eritrócitos e intestino, mas também pelos rins, medula, neutrófilos e plaquetas. Quando há excesso de lactato circulante, os músculos e o encéfalo interrompem a produção e passam a consumir o lactato. Este pode ser utilizado como fonte de energia pela maioria dos tecidos, mas principalmente pelo fígado, rins e coração. Pode ser encontrado em duas isoformas distintas, denominadas L-lactato e D-lactato, sendo o L-lactato correspondente a mais de 99% do total que é produzido em condições fisiológicas (ROSENSTEIN; TENNENT-BROWN; HUGHES, 2018).

O lactato é produzido através da redução do piruvato pela ação reversível da enzima lactato desidrogenase ou desidrogenase láctica (LDH), que aumenta sua atividade em condições de anaerobiose. Moléculas de nicotinamida adenosina dinucleotídeo (NADH) provenientes da glicólise são desviadas da fosforilação oxidativa devido à diminuição no suprimento de oxigênio, doando H⁺ às moléculas de lactato. A oxidação do NADH permite que haja NAD⁺ para o prosseguimento da glicólise. O lactato representa, portanto, uma resposta protetiva do metabolismo a situações de hipóxia, cuja produção aumenta em condições patológicas que resultem em depleção do oxigênio (ROSENSTEIN; TENNENT-BROWN; HUGHES, 2018).

Apesar de aumentar expressivamente em situações de anaerobiose, a metabolização de piruvato a lactato não ocorre exclusivamente em situações de redução do aporte de oxigênio. Em pacientes hígidos, cerca de 10% do piruvato é convertido a lactato. Além disso, situações em que há aumento importante das concentrações de piruvato podem levar à saturação da capacidade oxidativa da mitocôndria, desviando a metabolização do piruvato para lactato. O mesmo acontece quando há inibição do complexo piruvato desidrogenase, fazendo com que o piruvato que seria convertido a acetil-coa passe a ser metabolizado a lactato pela LDH (ROSENSTEIN; TENNENT-BROWN; HUGHES, 2018). Há cinco isoenzimas de LDH, com constantes de Michaelis e velocidades máximas próprias. A maior ou menor expressão de determinado tipo de isoenzima resulta em diferentes funções, portanto a expressão de determinadas isoenzimas em cada tipo de tecido permite regulação particularizada de células que estejam em situações biológicas diferentes (AIRES, 2018). Em humanos com SC natural e iatrogênica já foi descrito aumento da atividade da LDH (TAKAISHI *et al.*, 1977; SATO *et al.*,

1984; SELVAIS *et al.*, 2016), mas não é conhecido se há alteração do funcionamento da LDH em cães com HC.

A lactatemia é o resultado do equilíbrio entre produção e consumo do lactato pelo organismo. A elevação da concentração de lactato no soro, plasma ou sangue total é denominada hiperlactatemia. Dependendo da intensidade, da ocorrência de distúrbios ácido-básicos concomitantes e da disponibilidade de substâncias tampão, a hiperlactatemia pode culminar com acidose metabólica, passando a ser denominada de acidose láctica. Portanto, hiperlactatemia e acidose láctica são termos que definem alterações metabólicas distintas (GILLESPIE; ROSENSTEIN; HUGHES, 2017; ROSENSTEIN; TENNENT-BROWN; HUGHES, 2018).

A hiperlactatemia pode ser dividida em tipo A, quando há evidências de déficit perfusional, e do tipo B, quando a perfusão está preservada. O tipo A pode ser subdividido em hiperlactatemia absoluta, quando há redução do fornecimento de oxigênio, ou relativa, quando há aumento do consumo do oxigênio. O tipo B pode ainda ser subdividido em: B1 - secundário a alguns tipos de doença, B2 - relacionado à exposição a drogas e/ou toxinas e B3 - quando há documentação de erros congênitos no metabolismo (GILLESPIE, I.; ROSENSTEIN, P. G., HUGHES, D., 2017).

O valor de referência do lactato para a espécie canina varia de 0,3 a 2,5 mmol/L (GILLESPIE; ROSENSTEIN; HUGHES, 2017), já tendo sido sugeridos como normais valores de até 3,2 mmol/L em alguns estudos (FRANCO *et al.*, 2016). Já foi documentada a ocorrência de hiperlactatemia do tipo B em cães em uso de glicocorticoides exógenos tanto em doses antiinflamatórias quanto imunossupressoras (BOYSEN, S. R. *et al.*, 2009), bem como em humanos portadores de SC (JOHNSTON, 1980). Entretanto, não há estudos determinando os valores de normalidade de lactato plasmático para a espécie canina na presença de HC.

Os glicocorticoides estimulam enzimas envolvidas na síntese e metabolização das catecolaminas, levando ao aumento da produção de epinefrina e norepinefrina pelas células cromafins da medula adrenal (WURTMAN; AXELROD, 1966). Já foi estudado que cães com HC têm aumento na concentração urinária de catecolaminas em comparação a cães hípidos (QUANTE *et al.*, 2010). Além de terem reflexo no aumento da síntese das catecolaminas, os glicocorticoides também são capazes de potencializar os seus efeitos. Em estudo realizado avaliando o metabolismo de carboidratos de cães hípidos após infusão de epinefrina sozinha ou de epinefrina associada à metilprednisolona, foi observado que cães que recebiam o glicocorticoide associado à epinefrina tinham aumento mais expressivo de glicemia e de lactatemia que cães que receberam a epinefrina de forma isolada (ISSEKUTZ; ALLEN, 1972).

A epinefrina estimula receptores β_2 -adrenérgicos nas membranas celulares da musculatura esquelética, levando ao aumento da adenosina monofosfato cíclico (AMPC), que leva ao aumento da glicogenólise e da glicólise. Além disso, a epinefrina também estimula a atividade da bomba sódio-potássio-ATPase no músculo. A bomba converte uma molécula de ATP em ADP para fazer o transporte antiporte de sódio e potássio, aumentando a concentração de ADPs. O aumento do ADP estimula a atividade da fosfofrutocinase, enzima reguladora que catalisa a terceira reação da glicólise. Na presença de concentrações elevadas de epinefrina, o aumento na glicólise pelo maior estímulo da fosfofrutocinase satura a capacidade oxidativa da mitocôndria de conversão do piruvato a acetil-coa, mesmo em condições de aporte de oxigênio preservadas. Com a capacidade oxidativa da mitocôndria esgotada, o piruvato se acumula no citosol e passa a ser metabolizado a lactato (JAMES *et al.*, 1999; LEVY *et al.*, 2008).

Além do estímulo à produção de catecolaminas e da potencialização dos seus efeitos induzindo hiperlactatemia, há outros mecanismos conhecidos pelos quais os glicocorticoides alteram a produção do lactato (ROSENSTEIN; TENNENT-BROWN; HUGHES, 2018). Os glicocorticoides aumentam a glicose circulante através de maior estímulo à gliconeogênese, que aumenta a produção de glicose pelo fígado e rins, concomitantemente à menor captação de glicose pelos tecidos insulinosensíveis. O catabolismo exercido pelos glicocorticoides sobre proteínas e gorduras gera mais substrato para a gliconeogênese (HERRTAGE; RAMSEY, 2012; FELDMAN; NELSON, 2015). A elevação na glicemia pela alteração no metabolismo dos carboidratos, proteínas e gorduras leva ao aumento da glicólise, com aumento da produção de piruvato, que é substrato para a formação do lactato (ROSENSTEIN; TENNENT-BROWN; HUGHES, 2018). Em pacientes humanos com HC já foi documentado aumento nas concentrações plasmáticas de lactato e piruvato (JOHNSTON *et al.*, 1980).

Além de levar ao aumento do piruvato, que por si só poderia exceder a capacidade oxidativa da mitocôndria e passar a ser metabolizado a lactato, os glicocorticoides também inibem o complexo piruvato desidrogenase, fazendo com que o piruvato que seria convertido a acetil-coa passe a ser metabolizado a lactato pela enzima lactato desidrogenase (LDH) (ROSENSTEIN; TENNENT-BROWN; HUGHES, 2018). Estudos feitos com tecido muscular esquelético humano mostraram que a exposição a glicocorticoides pode estimular a atividade da enzima piruvato desidrogenase quinase isômero 4 (PDK4), que é capaz de inibir o complexo piruvato desidrogenase, reduzindo a conversão de piruvato a acetil-coa, que passa a ser metabolizado a lactato (SALEHZADEH *et al.* 2009). Portanto, o aumento da concentração

sérica de lactato nos cães com HC pode não estar associado à hipoperfusão, mas sim ao aumento de substrato e redirecionamento de vias metabólicas.

Estudo publicado recentemente por Gal *et al.* (2022) em cães demonstrou que o lactato urinário de pacientes com HC ou com insuficiência cardíaca congestiva era mais alto do que o de cães saudáveis. Neste estudo, foi possível diferenciar cães hígidos de cães com HC a partir da dosagem do lactato urinário e de outros metabólitos excretados pela urina, porém houve sobreposição entre os valores de lactato urinário de pacientes com HC e de cães com doenças não adrenais. Esse estudo indicou que o HC possivelmente causa alterações no metabolismo do lactato nos cães (GAL *et al.*, 2022).

2.3 Perfusão tecidual e parâmetros relacionados à avaliação perfusional

A entrega de oxigênio aos tecidos e a retirada do gás carbônico dependem do funcionamento adequado do sistema cardiovascular, que deve fornecer aos tecidos um volume sanguíneo adequado, dentro de condições pressóricas apropriadas. Condições patológicas que afetem a volemia ou a pressão arterial podem levar a prejuízos na perfusão tecidual. A volemia normal do cão corresponde a aproximadamente 8 a 9% do seu peso corporal, e as causas mais comuns associadas à hipovolemia são as perdas gastrointestinais, sangramentos, poliúria e vasodilatação periférica. O cérebro e o coração são órgãos vitais que dependem da pressão central para serem adequadamente perfundidos, portanto em situações patológicas pode haver manutenção da pressão central em detrimento do fluxo sanguíneo, através da ativação de mecanismos que levam à vasoconstrição periférica. Dessa forma, a chegada de oxigênio e nutrientes para os tecidos periféricos pode ficar prejudicada (MARTINS; SHIH, 2015). Já foi demonstrado que os glicocorticoides são capazes de aumentar a produção e potencializar os efeitos das catecolaminas, podendo levar ao aumento na demanda tecidual de oxigênio e vasoconstrição de arteríolas renais, intestinais e da pele, comprometendo a perfusão visceral (WURTMAN; AXELROD, 1966; ISSEKUTZ; ALLEN, 1972).

Hipoperfusão oculta, também denominada de choque oculto, é o termo utilizado para descrever a insuficiência de oxigenação tecidual - caracterizada pela presença de hiperlactatemia persistente - sem alterações em parâmetros clínicos perfusionais sistêmicos. A

hipoperfusão oculta ocorre quando há ativação do SRAA em resposta a redução do débito cardíaco, fazendo com que haja manutenção da pressão arterial sistêmica por aumento da RVP e da volemia. Com a vasoconstrição periférica, os tecidos passam a receber baixo fluxo sanguíneo e um aporte de oxigênio reduzido, porém com manutenção da frequência cardíaca, da pressão arterial, da temperatura central e do estado mental. Se a causa da redução de volume plasmático não for identificada e corrigida e a hipoperfusão oculta se mantiver, o paciente pode passar a ter manifestações clínicas, com desenvolvimento de hipotensão, hipotermia e alteração do estado mental (BLOW *et al.*, 1999).

A documentação de alteração da perfusão periférica em pacientes hiperlactatêmicos é uma forma precoce de detectar a ocorrência do choque oculto. Alguns parâmetros clínicos podem ser utilizados para avaliar a perfusão periférica, como a coloração das mucosas, o tempo de preenchimento capilar, o gradiente de temperatura, a presença ou ausência de borboríngos gastrointestinais e avaliação do pulso. Mucosas hipocoradas ou cianóticas, tempo de preenchimento capilar maior que 2 segundos, ausência de borboríngos intestinais, diferença entre a temperatura central e periférica maior do que 6 graus Celcius e pulso hipocinético são indicadores importantes de hipoperfusão, principalmente quando há presença de ao menos três parâmetros alterados em conjunto (RIBEIRO; RABELO; 2012).

A diferença de temperatura entre as extremidades corporais e o centro é denominada gradiente de temperatura. A hipoperfusão tecidual leva à ativação do sistema nervoso simpático, resultando na vasoconstrição da microcirculação de órgãos não vitais e, pela redução do fluxo sanguíneo periférico, ocorre redução da temperatura das extremidades. Dessa forma, há mais sangue disponível para promover oxigenação e nutrição dos órgãos vitais, garantindo uma perfusão adequada destes tecidos (SCHAEFER *et al.*, 2020). Estudos realizados com cães já demonstraram que aumentos no gradiente de temperatura estão relacionados com choque circulatório e podem ser importantes indicadores de hipoperfusão tecidual. (SCHAEFER *et al.*, 2020). O gradiente de temperatura normal do cão é inferior a 6,5 graus Celcius. Elevações no gradiente de temperatura associados à manutenção da temperatura central indicam a presença de vasoconstrição periférica e, conseqüentemente, a presença de hipoperfusão tecidual (RABELO, 2019).

2.4 Hipertrofia ventricular, hipertensão arterial sistêmica e endocardiose

A hipertensão arterial sistêmica é uma alteração comum observada em cães com HC, verificada em até 82% dos casos. A ocorrência de trombocitose, proteinúria e de menores concentrações séricas de potássio já foram positivamente correlacionadas com a presença de hipertensão arterial nestes animais (JOSÉ *et al.*, 2020). A hipertensão arterial sistêmica nos cães com HC ocorre por associação de diferentes mecanismos. Pela menor especificidade dos receptores mineralocorticoides, o cortisol em excesso pode se ligar a esses receptores e desencadear atividade mineralocorticoide, mimetizando a via final de ativação do SRAA. A mimetização da ação do SRAA por meio das ações da aldosterona leva ao aumento de reabsorção de sódio, cloreto e água nos túbulos renais, aumentando a volemia. O cortisol também estimula a produção e potencialização da ação das catecolaminas, que levam ao aumento do inotropismo cardíaco e da vasoconstrição periférica (MAGIAKOU; SMYRNAKI; CHROUSOS, 2006).

Em humanos com SC, a hipertensão arterial sistêmica está associada a alterações cardíacas importantes, como hipertrofia ventricular esquerda e disfunção diastólica. A presença de hipertensão associada ao HC duplica o risco de hipertrofia ventricular em comparação a pacientes humanos normotensos (TOJA *et al.*, 2012). As complicações cardiovasculares são a maior causa de mortalidade em humanos com HC (ARNALDI *et al.*, 2003; MANCINI *et al.*, 2004). Em cães, estudos evidenciam maior ocorrência de hipertrofia ventricular no HC quando comparado a pacientes hígidos, porém diferentemente dos humanos a hipertrofia ventricular não parece estar associada à hipertensão arterial sistêmica (CHEN; LIEN; HUANG, 2014; TAKANO *et al.* 2015). Aumento ventricular esquerdo e alteração nos fluxos sanguíneos ventricular direito e pulmonar também já foram documentados em cães com HC (SOARES *et al.*, 2016).

Os cardiomiócitos também possuem receptores mineralocorticoide, fazendo com que haja uma sobreestimulação desses receptores pelo cortisol na presença de HC, contribuindo para o desenvolvimento de hipertrofia ventricular e de fibrose miocárdica. Esses achados sugerem que o HC leva à piora na hipertrofia cardíaca (YOUNG; LAM; RICKARD, 2007; MIHAILIDOU *et al.*, 2009). Também já foi observado que cães obesos apresentam maior ocorrência de hipertrofia ventricular quando comparados a cães magros (MEHLMAN, E., *et al.*, 2012). Como parte considerável dos pacientes com HC são obesos, parte da hipertrofia no HC talvez possa ser explicada pela maior ocorrência de obesidade nestes pacientes.

Insuficiência cardíaca pode ocorrer por diferentes causas e levar à ativação compensatória do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), que na tentativa de corrigir

a redução do débito cardíaco aumenta a volemia e a vasoconstrição periférica, resultando em déficit de oxigenação tecidual periférica. Também pode ocorrer redução na oxigenação tecidual por insuficiência cardíaca congestiva em decorrência do desenvolvimento de edema pulmonar cardiogênico, que prejudica as trocas gasosas nos pulmões (SISSON, 2010).

Foi observado que cães com doença mixomatosa da valva mitral em estágio C apresentaram maiores concentrações séricas de lactato quando comparados a pacientes em estágio B2 ou sem doença cardíaca. Apesar de haver documentação de hiperlactatemia, não foi possível documentar alterações em outros parâmetros de avaliação perfusional central nos cães com endocardiose estágio C, o que sugere a ocorrência de hipoperfusão tecidual oculta nestes animais (SOARES; PEREIRA-NETO; RABELO, 2018). Em outro estudo, foi observado que 64% dos cães com doença valvar mitral tinham hiperlactatemia, também sendo documentada hiperlactatemia mais expressiva nos pacientes com endocardiose estágio C (PETCHDEE *et al.*, 2022).

Estudos com roedores demonstraram que a diminuição da oxidação mitocondrial do piruvato a acetil-coa, desviando sua produção para formação de lactato, é um dos fatores característicos da insuficiência cardíaca. A detecção de alterações na metabolização de piruvato a lactato é uma forma precoce de detectar risco de hipertrofia e insuficiência cardíaca. Nestes mesmos estudos, foi observado que a remoção de carreadores mitocondriais de piruvato, desviando a metabolização do piruvato à lactato, levavam à ocorrência de hipertrofia cardíaca em roedores saudáveis. Em contrapartida, a superexpressão desses carreadores, aumentando a conversão de piruvato a acetil-coa e diminuindo a produção de lactato, tem a capacidade de melhorar a hipertrofia. Isso demonstra que o equilíbrio piruvato-lactato não é apenas consequência das alterações cardíacas, mas também que o desequilíbrio metabólico tem influência direta sobre a saúde do coração (CLUNTUN *et al.*, 2021).

2.5 Proteinúria

A proteinúria pode ser causada por alterações pré-renais, renais ou pós-renais. A proteinúria pré-renal ou extrarrenal é resultante de aumentos na pressão hidrostática ou na concentração de proteínas de baixo peso molecular no sangue, sendo geralmente de caráter transitório. Também pode ser transitória quando em resposta a alterações fisiológicas, como após atividade física extenuante, bem como ser consequência de processos patológicos, como

crises epilépticas, hipertermia, hemoglobinúria, mioglobínúria e proteinúria de Bence-Jones. A proteinúria renal é resultado de reabsorção alterada das proteínas plasmáticas pelos rins e pode ser dividida em glomerular e tubular. Já a proteinúria pós-renal é resultante da entrada de proteínas na urina provenientes do trato urinário inferior, como ocorre nos processos inflamatórios (LEES *et al.*, 2005).

A razão proteína: creatinina urinária (UP:C) é um método quantitativo para determinar a excreção de proteínas pela urina. O valor de referência para cães é igual ou inferior a 0,5, e aumentos discretos até 2,0 podem ser resultantes de flutuações fisiológicas, desde que não ocorram de forma persistente. Valores de proteinúria entre 0,5 e 2,0 que se mantêm de forma persistente são compatíveis com doença renal, desde que tenham sido adequadamente excluídas causas pré-renais e pós-renais. Para documentar persistência da proteinúria renal discreta é recomendada a realização da UP:C em três ou mais ocasiões, com intervalo mínimo de duas semanas entre a coleta de cada amostra de urina. Valores de UP:C superiores a 2,0 são compatíveis com proteinúria renal de origem glomerular, enquanto valores persistentemente entre 0,5 e 2,0 podem ter a origem da proteinúria distinguida apenas com a realização de métodos de análise qualitativos (GRAUER; THOMAS; EICKER, 1985; LEES *et al.*, 2005).

A eletroforese é um método de análise qualitativa da urina que permite a identificação dos pesos moleculares das proteínas eliminadas por via urinária, permitindo diferenciação entre a proteinúria de origem tubular e glomerular. Em estudo feito com cães com HC foi identificada prevalência de proteínas de peso molecular mais baixo na urina, o que aponta para a possibilidade de os cães com HC sofrerem predominantemente de lesões renais tubulares proximais, o que impediria a adequada reabsorção destas proteínas. Nestes cães não houve redução da proteinúria após controle da cortisolemia, indicando que a lesão renal no segmento proximal do néfron não teve regressão após o tratamento do HC (CARAGELASCO *et al.*, 2017). Outro trabalho analisando amostras de urina de cães com HC por eletroforese identificou presença de proteínas de alto e baixo peso molecular, independentemente da presença de hipertensão arterial sistêmica (CAVALCANTE, 2013).

Já foi documentado em estudos que cães com HC têm alterações na função renal tubular e glomerular, com valores de UP:C estatisticamente maiores que cães hígidos. O excesso de efeito glicocorticoide nos cães com SC leva à ocorrência de hipertensão arterial sistêmica, pelo aumento do débito cardíaco e da resistência vascular periférica (RVP), aumentando o fluxo sanguíneo renal. A disfunção na filtração glomerular leva à proteinúria,

que pode ou não estar associada à ocorrência de glomeruloesclerose. Os glicocorticoides também são capazes de causar alterações renais a nível tubular, prejudicando a capacidade dos rins de concentrar a urina e de absorver e excretar eletrólitos, predispondo a aumentos na reabsorção de sódio, hipercalcúria e urolitíase (SMETS *et al.*, 2010; SMETS *et al.*, 2012). Elevação da UP:C já foi correlacionada com pior prognóstico em cães com glomerulopatia primária e com leishmaniose, mas não parece estar associada com prognóstico em cães com HC (FRACASSI *et al.*, 2015; BAUMGARTNER; BORETTI; GERBER, 2022).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O objetivo deste estudo é identificar se há diferenças na lactatemia de cães com síndrome de Cushing quando comparada à concentração sérica de lactato descrita na literatura para cães saudáveis; caso apresente hiperlactatemia, determinar a sua origem em cães com HC e documentar se a lactatemia e a proteinúria são fatores indicadores de prognóstico nestes pacientes.

3.2 Objetivos Específicos

Avaliar se os pacientes com HC hiperlactatêmicos no momento do diagnóstico apresentam hipoperfusão tecidual, hipertensão arterial sistêmica, hipertrofia ventricular esquerda ou aumento da atividade da enzima lactato desidrogenase.

Avaliar se pacientes com hiperlactatemia e/ou proteinúria no momento do diagnóstico do HC apresentam maior dificuldade de controle das manifestações clínicas e necessidade de doses maiores de trilostano durante o tratamento.

Avaliar se pacientes com hiperlactatemia e/ou proteinúria são mais predispostos a desenvolver complicações durante o tratamento e resultar em menor expectativa de vida.

Comparar a lactatemia de cães no momento do diagnóstico do HC com a lactatemia de cães com controle fraco e com bom controle da cortisolemia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALIVE Project Definition. **ESVE**, 2021. Disponível em: <<https://www.esve.org/alive/search.aspx>>. Acesso em: 30 de jan. de 2023.
- AIRES, M. M. **Fisiologia**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018. p. 91.
- ARIAS, E. A. S. *et al.* Cushing's syndrome caused by intra-adrenocortical adrenocorticotrophic hormone in a dog. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. Buenos Aires, v. 36, n. 1, p. 264-271, jan. 2022.
- ARNALDI, G. *et al.* Diagnosis and complications of cushing's syndrome: a consensus statement. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 88, n. 12, p. 5593-5602, dez. 2003.
- BLOW, O. *et al.* The golden hour and the silver day: detection and correction of occult hypoperfusion within 24 hours improves outcome from major trauma. **The Journal of Trauma: Injury, Infection, and Critical Care**. Charlottesville, v. 47, n. 5, p. 964-969, nov. 1999.
- BAUMGARTNER, F.; BORETTI, F.; GERBER, B. Prognostic factors in dogs with common causes of proteinuria. **Schweizer Archiv fur Tierheilkd.** Zurich, v. 164, n. 7, p. 525-533, jul. 2022.
- BEHREND, E. N. *et al.* Diagnosis of Spontaneous Canine Hyperadrenocorticism: 2012 ACVIM Consensus Statement (Small Animal). **Journal of Veterinary Internal Medicine**. Auburn, v. 27, n. 6, p. 1292-1304, dez. 2013.
- BENNAIM, M.; SHIEL, R. E.; MOONEY, C. T. Diagnosis of spontaneous hyperadrenocorticism in dogs. Part 1: Pathophysiology, aetiology, clinical and clinicopathological features. **The Veterinary Journal**. Dublin, v. 252, out. 2019.
- BOYSEN, S. R. *et al.* Effects of prednisone on blood lactate concentrations in healthy dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. Calgary, v. 23, n. 1, p.1123-1125, mai. 2009.
- CARAGELASCO, D. S. *et al.* Urine protein electrophoresis study in dogs with pituitary dependent hyperadrenocorticism during therapy with trilostane. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. São Paulo, v. 37, n. 7, p. 734-740, jul. 2017.
- CAROTENUTO, G. *et al.* Cushing's syndrome-an epidemiological study based on a canine population of 21,281 dogs. **Open Veterinary Journal**. Bologna, v. 9, n. 1, p. 27-32, fev. 2019.
- CAVALCANTE, C. Z. *et al.* Evaluation of albminuria and electrophoresis of urinary proteins from dogs with hyperadrenocorticism and relation with systemic arterial pressure. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. São Paulo, v. 33, n. 11, p. 1357-1363, nov. 2013.

CHEN, H. Y., LIEN, Y. H., HUANG, H. P. Assessment of left ventricular function by twodimensional speckle-tracking echocardiography in small breed dogs with hyperadrenocorticism. **Acta Veterinaria Scandinavica**. Taiwan, v. 56, n. 88, dez. 2014.

CLUNTUN, A. A. The Pyruvate-Lactate Axis Modulates Cardiac Hypertrophy and Heart Failure. **Cell Metabolism**. Lake City, v. 33, n. 3, p. 629-648, mar. 2021.

CORTELLINI, S.; SETH, M.; KELLETT-GREGORY, L. M. Plasma lactate concentrations in septic peritonitis: A retrospective study of 83 dogs (2007–2012). **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**. Suffolk county, v. 25, n. 3, p. 388-395, mai. 2015.

ESPIÑEIRA, I. M. *et al.* Adrenal cortex stimulation with hCG in spayed female dogs with Cushing's syndrome: Is the LH-dependent variant possible? **Open Veterinary Journal**. Buenos Aires, v. 11, n. 2, p. 319-329, jun. 2021.

FELDMAN, E. C. Evaluation of twice-daily lower-dose trilostane treatment administered orally in dogs with naturally occurring hyperadrenocorticism. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. Califórnia, v. 238, n. 9, p. 1321-1328, jun. 2011.

FELDMAN, E.C.; NELSON, R.W. **Canine and Feline Endocrinology**. 4. ed. Missouri: Saunders, 2015. p. 377-386.

FRACASSI, F. *et al.* Prognostic factors for survival in dogs with pituitary-dependent hypercortisolism treated with trilostane. **Veterinary Record**. Bologna, v. 176, n. 2, p. 49-55, mai. 2015.

GAL, A. *et al.* Canine urinary lactate and cortisol metabolites in hypercortisolism, nonadrenal disease, congestive heart failure, and health. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. Palmerston North, v. 34, n. 4, jun. 2022.

GILLESPIE, I.; ROSENSTEIN, P. G.; HUGHES, D. Update: Clinical Use of Plasma Lactate. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. Melbourne, v. 47, n. 2, p. 325-342, mar. 2017.

GOLINELLI, S. *et al.* Comparison of methods to monitor dogs with hypercortisolism treated with trilostane. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. Bologna, v. 35, n. 6, p. 2616-2627, nov. 21.

GOSH, A. *et al.* Mitochondrial pyruvate carrier regulates autophagy, inflammation, and neurodegeneration in experimental models of Parkinson's disease. **Science Translational Medicine**. Chicago, v. 8, n. 368, dez. 2016.

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

GRAUER, G. F.; THOMAS, C. B.; EICKER, S. W. Estimation of quantitative proteinuria in the dog, using the urine protein-to-creatinine ratio from a random, voided sample. **American Journal of Veterinary Research**, v. 46, n. 10, p. 2116-2119, out. 1985.

GREEN, T. I. *et al.* Evaluation of initial plasma lactate values as a predictor of gastric necrosis and initial and subsequent plasma lactate values as a predictor of survival in dogs with gastric dilatation-volvulus: 84 dogs (2003-2007). **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**. Glendale, v. 21, n. 1, p. 36-44, jan. 2011.

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

HOLAHAN, M. L.; BROWN, A. J.; DROBATZ, K. J. Retrospective Study: The association of blood lactate concentration with outcome in dogs with idiopathic immune-mediated hemolytic anemia: 173 cases (2003–2006). **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**. Michigan, v. 20, n. 4, p. 413-420, ago. 2010.

HURLEY, K. J.; VADEN, S. L. Evaluation of urine protein content in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. Raleigh, v. 212, n. 3, p. 369-373, fev. 1998.

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

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

JOHNSTON, D. G. *et al.* Hormonal and metabolic rhythms in Cushing's syndrome. **Metabolism**. London, v. 28, n. 11, p. 1046-1052, nov.1980.

JOSÉ, P. G. S. *et al.* Prevalence and risk factors associated with systemic hypertension in dogs with spontaneous hyperadrenocorticism. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. Madrid, v. 34, n. 5, p. 1768-1778, jul. 2020.

JOSÉ, P. G. S. *et al.* Survival of dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism treated twice daily with low doses of trilostane. **Veterinary Record**. Madrid, v. 191, n. 3, p. 93-104, ago. 2022.

KEENE, B. W. *et al.* ACVIM consensus guidelines for the diagnosis and treatment of myxomatous mitral valve disease in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. Raleigh, v. 33, p. 1127-1140, mar. 2019.

LEE, S. *et al.* Ectopic Cushing's syndrome associated with a pheochromocytoma in a dog: a case report. **BMC Veterinary Research**. Seoul, v. 16, n. 35, fev. 2020.

LEES, G. E. *et al.* Assessment and Management of Proteinuria in Dogs and Cats: 2004 ACVIM Forum Consensus Statement (Small Animal). **Journal of Veterinary Internal Medicine**. Texas, v. 19, p. 377-385, mai. 2005.

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

MACFARLANE, L.; PARKIN, T.; RAMSEY, I. Pre-trilostane and three-hour post-trilostane cortisol to monitor trilostane therapy in dogs. **Veterinary Record**. Glasgow, v. 179, n. 23, p. 597-606, dez. 2016.

MAGIAKOU, M. A., SMYRNAKI, P., CHROUSOS, G. P. Hypertension in Cushing's syndrome. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**. Atena, v. 20, n. 3, p. 467-482, set. 2006.

MANCINI, T. *et al.* High cardiovascular risk in patients with Cushing's syndrome according to 1999 WHO/ISH guidelines. **Clinical Endocrinology**. Oxford, v. 61, n. 6, p. 768-777, dez. 2004.

MARTINS, A. R. C., SHIH, A. Fundamentos dos Desequilíbrios Eletrolíticos e Acidobásicos. Em: JERICÓ, M. M.; NETO, J. P. A.; KOGIKA, M. M. **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. Rio de Janeiro: editoras Roca, Guanabara Koogan e Grupo Editorial Nacional, 2015.

MAURO, F. M., SCHOEFFLER, G. L. Point of Care Measurement of Lactate. **Topics in Companion Animal Medicine**. Nova York, v. 31, n. 1, p. 35-43, mar. 2016.

MAZZI, A. *et al.* Ratio of urinary protein to creatinine and albumin to creatinine in dogs with diabetes mellitus and hyperadrenocorticism. **Veterinary Research Commun**. Bologna, v. 32, n. 1, p. 299-301, ago. 2008.

MEHLMAN, E., *et al.* Echocardiographic evidence of left ventricular hypertrophy in obese dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. Colorado, v. 27, n. 1, p. 62-68, nov. 2012.

MIHAILIDOU, A. S., *et al.* Glucocorticoids activate cardiac mineralocorticoid receptors during experimental myocardial infarction. **Hypertension**. Austrália, v. 54, n. 6, p. 1306-1312, out. 2009.

NEL, M. *et al.* Prognostic value of blood lactate, blood glucose, and hematocrit in canine babesiosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. Pretoria, v. 18, n. 4, p. 471-476, jul. 2004.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. p.824-828.

OTTENS, T. H. *et al.* Effect of high-dose dexamethasone on perioperative lactate levels and glucose control: a randomized controlled trial. **Critical Care**. Utrecht, v. 19, n. 41, p. 736-749, dez. 2015.

PETCHDEE, S. *et al.* Assessment of Right Ventricular Function, Blood Lactate Levels, and Serum Peptidomics Profiles Associated With Mitral Valve Disease in Dogs. **Frontiers in Veterinary Science**. Bangkok, v. 8, jan. 2022.

POTTS, G. O. *et al.* Trilostane, an orally active inhibitor of steroid biosynthesis. **Steroids**, v. 32, n. 2, p. 257-267, set. 1978.

QUANTE, S. *et al.* Urinary catecholamine and metanephrine to creatinine ratios in dogs with hyperadrenocorticism or pheochromocytoma, and in healthy dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. Zurich, v. 24, n. 5, p. 1093-1097, out. 2010.

RAMSEY, I. K. Trilostane in dogs. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. Glasgow, v. 40, n. 2, p. 269-283, fev. 2010.

RABELO, R. C. Emerging Monitoring Techniques. Em: **Textbook of Small Animal Emergency Medicine**. DROBATZ, K. J. *et al.* 1 ed. Nova Jersey: Wiley-Blackwell, 2019, cap. 157, p. 1011-1018.

RIBEIRO, C. A., RABELO, R. C. A reanimação baseada em metas. Em: RABELO, R. C. **Emergências de pequenos animais: condutas clínicas e cirúrgicas no paciente grave**. Rio de Janeiro: Elsevier; 2012, p. 43-48.

ROSENSTEIN, P. G.; TENNENT-BROWN, B. S.; HUGHES, D. Clinical use of plasma lactate concentration. Part 1: Physiology, pathophysiology, and measurement. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**. Melbourne, v.28, n.2, p. 85-105, mar. 2018.

RUIZ-IGLESIAS, A.; MAÑES, S. The Importance of Mitochondrial Pyruvate Carrier in Cancer Cell Metabolism and Tumorigenesis. **Cancers**, v. 13, n. 17, mar. 2021.

SALEHZADEH, F. *et al.* Glucocorticoid-mediated effects on metabolism are reversed by targeting 11 beta hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in human skeletal muscle. **Diabetes Metabolism Research and Reviews**. Estocolmo, v. 25, n. 3, p. 250-258, mar. 2009.

SANDERS, K.; KOOISTRA, H. S.; GALAC, S. Treating canine Cushing's syndrome: Current options and future prospects. **The Veterinary Journal**. Utrecht, v. 241, p. 42-51, 2018.

SATO, T. *et al.* Changes of platelets, serum lactic dehydrogenase, gamma-glutamyltranspeptidase, choline esterase and creatine phosphokinase levels in patients with Cushing's syndrome. **The Tohoku Journal of Experimental Medicine**. Kumamoto, v. 142, n. 2, p. 195-200, fev. 1984.

SCHAEFER, *et al.* Evaluation of the rectal-interdigital temperature gradient as a diagnostic marker of shock in dogs. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**. Filadélfia, v. 30, n. 6, p. 670-676, dez. 2020.

SCHOEFIELD, I. *et al.* The Cushing's clinical score: development of a primary-care practice tool to quantify the clinical signs of dogs with hyperadrenocorticism. **British Small Animal Veterinary Association Congress**. Birmingham, p. 437-438, abr. 2019a.

SCHOEFIELD, I. *et al.* Development and evaluation of a health-related quality-of-life tool for dogs with Cushing's syndrome. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. Hatfield, v. 33, n. 6, p. 2595-2604, nov. 2019b.

SCHOEFIELD, I. *et al.* Development and internal validation of a prediction tool to aid the diagnosis of Cushing's syndrome in dogs attending primary-care practice. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. Hatfield, v. 34, n. 6, p. 2306-2318, dez. 2020.

- SELVAIS, P. L. *et al.* Serum Lactate Dehydrogenase Activity Increases in both Endogenous and Exogenous Hypercorticisms. **International Journal of Clinical and Laboratory Medicine**. Nova York, v. 55, n. 4, p. 205-208, ago. 2016.
- SHARMA, D.; HOLOWAYCHUK, M. K. Retrospective evaluation of prognostic indicators in dogs with head trauma: 72 cases (January–March 2011). **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**. Alberta, v. 25, n. 5, p. 631-639, out. 2015.
- SIEBER-RUCKSTUHL N. S. *et al.* **Domestic Animal Endocrinology**. Cortisol, aldosterone, cortisol precursor, androgen and endogenous ACTH concentrations in dogs with pituitary-dependant hyperadrenocorticism treated with trilostane. Zurich, v. 31, p. 63-75, set. 2005.
- SMETS, P. M. Y.; *et al.* Cushing's syndrome, glucocorticoids and the kidney. **General and Comparative Endocrinology**. Merelbeke, v. 169, n. 1, p. 1-10, out. 2010.
- SMETS, P. M. Y. *et al.* Hypercortisolism affects glomerular and tubular function in dogs. **The Veterinary Journal**. Merelbeke, v. 192, n. 3, p.532-534, jun. 2012.
- SILVA-FILHO, J. C. *et al.* Blood lactate increases with the progression of mitral valve disease in dogs. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Curitiba, v. 38, n. 9, p. 1781-1786, set. 2018.
- SISSON, D. D. Pathophysiology of heart failure. Em: ETTINGER, S. J., FELDMAN, E. C. **Veterinary Internal Medicine**, 7 ed. Saint Louis: Saunders Elsevier, 2010, p. 1143–1158.
- SOARES, F. A. C. *et al.* Cardiocirculatory, biochemical and hemostatic evaluation of dogs with hyperadrenocorticism at diagnosis and after treatment. **Korean Journal of Veterinary Research**. Porto Alegre, v. 56, n. 3, p. 161-166, jul. 2016.
- SOARES, F. B.; PEREIRA-NETO, G. B.; RABELO, R. C. Assessment of plasma lactate and core-peripheral temperature gradient in association with stages of naturally occurring myxomatous mitral valve disease in dogs. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**. Brasília, v. 28, n. 6, p. 532-540, nov. 2018.
- TAKAISHI, M. *et al.* Elevated Serum Lactic Dehydrogenase Activity in Patients with Cushing's Syndrome. **Endocrinologia Japonica**. Toranomon, v. 24, n. 4, p. 381-384, mar. 1977.
- TAKANO, H. *et al.* Left ventricular structural and functional abnormalities in dogs with hyperadrenocorticism. **Journal of Veterinary Cardiology**. Sagamihara, v. 17, n. 3, p. 173-181, set. 2015.
- TOJA, P.M., *et al.* Clinical relevance of cardiac structure and function abnormalities in patients with Cushing's syndrome before and after cure. **Clinical Endocrinology**. Milan, v. 76, n. 3, p. 332-338, mar. 2012.
- WURTMAN, R. J.; AXELROD, J. Control of enzymatic synthesis of adrenaline in the adrenal medulla by adrenal cortical steroid. **The Journal of Biological Chemistry**. Maryland, v. 241, n. 10, p. 2301-2305, mai. 1966.

YOUNG, M. J., LAM, E.Y., RICKARD, A. J. Mineralocorticoid receptor activation and cardiac fibrosis. **Clinical Science**. Londres, v. 112, n. 9, p. 467-475, abr. 2007.

ANEXO 1

ALIVE Project. Definition

Proposed score 2

ALIVE Cushing's Clinical Score

- range total score: 0-15
- treatment aim: lowest score possible without unacceptably high risk of hypoadrenocorticism

FACTOR	SCORE
Drinking - compared to before the onset of Cushing's 0 = Normal (drinks the same amount or less) 1 = Mild (some increase in drinking) 2 = Moderate (notable increase in drinking) 3 = Severe (constantly seen to be drinking)	...
Urination - compared to before the onset of Cushing's 0 = Normal (urinates the same amount or less) 1 = Mild (some increase noted by owner) 2 = Moderate (notable increase noted by owner) 3 = Severe (constantly needs to be let out to urinate)	...
Appetite - compared to before the onset of Cushing's 0 = Normal or decreased appetite (if decreased appetite exclude hypoadrenocorticism, macroadenoma or concurrent disease) 1 = Mild polyphagia (finishes eagerly) 2 = Moderate polyphagia (finishes eagerly and begs for more) 3 = Severe polyphagia (obsessed with food)	...
Appearance 0 = Normal 1 = Mild abnormalities (slightly poor hair en skin quality) 2 = Moderate abnormalities (poor hair and skin quality with hair loss and/or some muscle loss/ pot belly) 3 = Severe abnormalities (substantial hair loss and/or noticeable muscle loss/ pot belly)	...
Attitude/activity - compared to before the onset of Cushing's 0 = Normal 1 = Mild decrease (not quite themselves) 2 = Moderate decrease (quieter and less active and/or panting more than normal) 3 = Severe decrease (very quiet, dull and weak and/or noticeable increase in panting) (*consider hypoadrenocorticism and macroadenoma in the ill dog with Cushing's)	...
TOTAL SCORE	



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: 39807

Título:

AVALIACAO DA PROTEINURIA, HIPERTENSAO ARTERIAL SISTEMICA, HIPERTROFIA VENTRICULAR ESQUERDA, LACTATO E ATIVIDADE DA LACTATO DESIDROGENASE EM PACIENTES COM HIPERCORTISOLISMO ESPONTANEO E SEUS PAPEIS COM

Vigência: 01/12/2020 à 31/07/2023

Pesquisadores:

Equipe UFRGS:

ALAN GOMES POPPL - coordenador desde 01/12/2020
STELLA DE FARIA VALLE - pesquisador desde 01/12/2020
LUCIANA DE JESUS - Médico Veterinário desde 01/12/2020
Daniela Jardim Lopes - Médico Veterinário desde 01/12/2020

Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo , em reunião realizada em 25/01/2021 - Reunião via webconferência - Mconf UFRGS, em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de 40 cães, machos e fêmeas, de qualquer idade, provenientes da rotina do Serviço de Endocrinologia e Metabologia do Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS, 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, 19 de Fevereiro de 2021

ALEXANDRE TAVARES DUARTE DE OLIVEIRA
Coordenador da comissão de ética