



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

GABRIELA REBOUÇAS MILANI CECCI

HIPERADRENOCORTICISMO CANINO:
ESTUDO RETROSPECTIVO DE 144 CASOS ENTRE 2013 E
2018

GABRIELA REBOUÇAS MILANI CECCI

HIPERADRENOCORTICISMO CANINO:
ESTUDO RETROSPECTIVO DE 144 CASOS ENTRE 2013 E
2018

Trabalho de Dissertação de Mestrado apresentado ao Departamento de Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Londrina, como requisito final à obtenção do título de Mestre em Clínicas Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Mauro José Lahm Cardoso

Londrina
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

C387h Cecci, Gabriela Rebouças Milani.
Hiperadrenocorticismo canino : estudo retrospectivo de 144 casos entre 2013 e 2018. / Gabriela Rebouças Milani Cecci. - Londrina, 2019.
75 f. : il.

Orientador: Mauro José Lahm Cardoso.
Dissertação (Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias, 2019.
Inclui bibliografia.

1. Hiperadrenocorticismo - Tese. 2. Hipófise - Tese. 3. Glândula adrenal - Tese. 4. Teste endócrino - Tese. I. Cardoso, Mauro José Lahm. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias. III. Título.

CDU 619

GABRIELA REBOUÇAS MILANI CECCI

HIPERADRENOCORTICISMO CANINO:
ESTUDO RETROSPECTIVO DE 144 CASOS ENTRE 2013 E 2018

Trabalho de Dissertação de Mestrado apresentado ao Departamento de Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Londrina, como requisito final à obtenção do título de Mestre em Clínicas Veterinárias.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Mauro José Lahm
Cardoso
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Fábio Nelson Gava
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Ademir Zacarias Jr.
Universidade Estadual do Norte do Paraná -
UENP

Londrina, 10 de Julho de 2019.

Dedico este trabalho aos meus pais Suzy e Mário, à minha irmã Debora que são a minha base e o motivo de eu ter chegado até aqui. Ao meu amor, João Luiz, por ter percorrido esse caminho ao meu lado sem me deixar esquecer o que realmente importa.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade da vida e por me ensinar que tudo é possível se houver fé e força de vontade.

Aos meus pais, que mais uma vez permitiram que eu pudesse concluir mais uma etapa acadêmica, fazendo o que amo. Pelo incessante incentivo educacional, suporte emocional e financeiro, e por acreditarem nos meus projetos de vida. Ao meu noivo, João Luiz por ser por ser uma pessoa iluminada, amável, paciente e sempre ter uma palavra de incentivo e carinho, sendo meu companheiro e maior incentivador ao longo desses anos juntos. À minha irmã Debora Collett que sempre me apoiou e acreditou no meu amor pela Medicina Veterinária, e mesmo estando longe, permanece tão perto. A eles devo tudo que sou.

Agradeço ao meu orientador Mauro José Lahm Cardoso pela imensa oportunidade de recomeçar. Por todo aprendizado e pesquisa, ajuda, ensino e acreditar no meu crescimento acadêmico e profissional nestes dois anos.

Aos membros da banca de defesa, professor Fábio Nelson Gava e Ademir Zacarias Jr., e aos membros da banca de qualificação, professora Mônica Vicky Bahr Arias e professor Guilherme Felippelli Martins, que aceitaram fazer parte deste trabalho contribuindo imensamente para esta pesquisa. Agradeço ao professor Fábio Morotti pela disposição e ajuda para que esse trabalho fosse concretizado.

Aos meus grandes amigos Carolina Sebrian Concaro, Cristiane Caetano, Gabrielle Jasckstet, Inês Massapina, Thalísie Drape, Carolina Galdino, Carolina Santos, André Nikolopoulos, Guilherme Schiess, Bárbara Emi Sato, Lays Kaneno, Raíra Dias, Guilherme Siqueira, Aretha de Barros por serem apoio, amor e amizade por todos estes anos, me confortando e fortalecendo. Aos que nos deixaram ao longo do caminho, Henrique Vilela e Eduardo Hashizume, sou grata pela amizade e todos os momentos que compartilhamos.

Agradeço aos meus familiares que foram essenciais em todas as etapas da minha vida.

A todos os professores e colegas de mestrado que estiveram comigo nesse breve período, compartilhando conhecimento e contribuindo para o meu crescimento pessoal e profissional.

“Você escolhe, recolhe, elege, atrai, busca, expulsa, modifica tudo aquilo que te rodeia a existência.

Teus pensamentos e vontades são a chave de teus atos e atitudes. São as fontes de atração e repulsão na jornada da tua vivência. Não reclame, nem se faça de vítima. Antes de tudo, analisa e observa.

A mudança está em tuas mãos. Reprograma tua meta, busca o bem e você viverá melhor. Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo, qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim”

(Francisco Cândido Xavier)

CECCI, Gabriela Rebouças Milani. **Hiperadrenocorticismo canino**: estudo retrospectivo de 144 casos entre 2013 e 2018. 2019. 75 f. Dissertação (Mestrado em Clínicas Veterinárias) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

RESUMO

O hiperadrenocorticismo (HAC) ou Síndrome de Cushing é uma endocrinopatia que resulta da produção excessiva e crônica de cortisol. Frequentemente diagnosticado em cães na rotina clínica, o HAC é classificado como espontâneo - hipófise-dependente ou adrenal-dependente - ou iatrogênico. Outras causas descritas e associadas a doenças não-adrenais envolvem tumores ectópicos e hipercortisolismo alimentar. Este trabalho avaliou uma população de 144 cães diagnosticados com HAC com o objetivo de contribuir com dados sobre a doença. Foram identificados qual foi o melhor teste para diagnosticar o HAC, a sensibilidade e especificidade dos testes e a prevalência da doença. Ainda foram avaliados os aspectos epidemiológicos, principais alterações laboratoriais, origem do HAC (aumento adrenal unilateral ou bilateral) e ocorrência dos padrões no teste de supressão com baixa dose de dexametasona. Os registros foram obtidos de prontuários do Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina (HV-UEL) e clínica Espaço Vida Veterinária, atendidos entre 2013 e 2018. Os resultados obtidos na pesquisa mostraram que o teste de supressão com baixa dose de dexametasona é mais sensível para diagnosticar o HAC e que aumento adrenal bilateral incidiu sobre a maioria dos cães. Dentre os exames laboratoriais, o aumento da fosfatase alcalina, dos triglicérides e dos leucócitos foram as alterações mais relevantes. Com estes resultados foi possível concluir que o teste de supressão com baixa dose de dexametasona deve ser encorajado como primeiro teste endócrino de triagem para diagnosticar o HAC. Além disso, os dados epidemiológicos e laboratoriais forneceram informações que reforçam os aspectos característicos da doença.

Palavras-chave: Hipercortisolismo. Córtex adrenal. Hipófise. Testes Endócrinos. Diagnóstico.

CECCI, Gabriela Rebouças Milani. **Canine hyperadrenocorticism**: retrospective study of 144 cases between 2013 and 2018. 2019. 75 p. Dissertação (Mestrado em Clínicas Veterinárias) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

ABSTRACT

Hyperadrenocorticism (HAC) or Cushing's Syndrome is an endocrinopathy that results from excessive and chronic cortisol production. Often diagnosed in dogs in the clinical routine, HAC is classified as spontaneous - pituitary-dependent or adrenal-dependent - or iatrogenic. Other causes described and associated with non-adrenal diseases involve ectopic tumors and hypercortisolism. This study evaluated a population of 144 dogs diagnosed with HAC in order to contribute with data on the disease. It was identified which was the best test to diagnose HAC, the sensitivity and specificity of the tests and the prevalence of the disease. Epidemiological aspects, main laboratory alterations, origin of HAC (unilateral or bilateral adrenal enlargement) and the occurrence of patterns in the suppression test with low dose of dexamethasone were also evaluated. The records were obtained from medical records at the Veterinary Hospital of the State University of Londrina (HV-UEL) and the Espaço Vida Veterinária clinic, attended between 2013 and 2018. The results obtained in the research showed that the suppression test with low dose of dexamethasone is more sensitive to diagnose HAC and that bilateral adrenal enlargement affected most of the dogs. Among laboratory tests, the increase in alkaline phosphatase, triglycerides and leukocytes were the most relevant alterations. With these results, it was possible to conclude that the suppression test with low dose of dexamethasone should be encouraged as the first endocrine screening test to diagnose CAH. In addition, epidemiological and laboratory data provided information that reinforces the characteristic aspects of the disease.

Key words: Hypercortisolism. Adrenal cortex. Pituitary. Endocrine tests. Diagnosis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1

- Figura 1** – Anatomia da glândula adrenal.....17
- Figura 2** – Mecanismo de retroalimentação negativa do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.....18

CAPÍTULO 2

- Figura 1** – Categorização dos 144 cães por meio da avaliação do cortisol sérico após 8h da aplicação com baixa dose de dexametasona51
- Figura 2** – Padrões definidos para avaliação da mensuração do cortisol após 4h e 8h da aplicação da dexametasona52
- Figura 3** – Categorização dos 100 cães por meio da avaliação do cortisol após 1 hora da estimulação com o ACTH.....53
- Figura 4** – Frequência relativa do *status* reprodutivo dos 144 pacientes com hiperadrenocorticismismo de acordo com o sexo estudados no período de 2013 a 201854
- Figura 5** – Faixa etária dos 144 cães com hiperadrenocorticismismo estudados no período de 2013 a 201855
- Figura 6** – Variação de peso nos 144 pacientes com hiperadrenocorticismismo estudados entre 2013 e 2018.....55
- Figura 7** – Frequência relativa de todas as raças com hiperadrenocorticismismo presentes no estudo.....56
- Figura 8** – Frequência relativa dos principais padrões raciais com hiperadrenocorticismismo presentes no estudo.....57
- Figura 9** – Alterações na concentração de triglicerídeos observadas nos 144 cães com hiperadrenocorticismismo estudados entre 2013 e 201858
- Figura 10** – Alterações na concentração de colesterol observadas nos 144 cães com hiperadrenocorticismismo estudados entre 2013 e 201858
- Figura 11** – Alterações observadas na densidade urinária dos 144 cães com hiperadrenocorticismismo estudados entre 2013 e 201859
- Figura 12** – Concentração de cortisol nos momentos pré, após 4 horas e após 8 horas da aplicação da dexametasona62
- Figura 13** – Concentração do cortisol nos momentos pré e pós-estimulação com o ACTH.....64

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

- Tabela 1** – Sensibilidade e especificidade reportadas em estudos entre 1983 e 2018 em cães com hiperadrenocorticismismo29
- Tabela 2** – Interpretação do valor de cortisol 4 e 8 horas após a administração da baixa dose de dexametasona em cães suspeitos de HAC32
- Tabela 3** – Resultado do ACTH endógeno nos métodos de análise para cães com HAC36

CAPÍTULO 2

- Tabela 1** – Alterações laboratoriais observadas nos 144 cães com diagnóstico de hiperadrenocorticismismo estudados entre 2013 e 201860
- Tabela 2** – Alterações hematológicas observadas nos cães com hiperadrenocorticismismo estudados entre 2013 e 2018.....61
- Tabela 3** – Valores de intervalo, média e desvio-padrão nos grupos classificados de acordo com o tamanho das adrenais (cm) dos 144 cães com hiperadrenocorticismismo61
- Tabela 4** – Frequência das alterações ultrassonográficas nas adrenais dos 144 pacientes submetidos a teste de supressão com baixa dose de dexametasona com mensuração do cortisol após 8 horas63
- Tabela 5** – Distribuição dos 120 cães conforme o padrão de resposta ao teste de supressão com baixa dose de dexametasona em t4 e t8 e alterações em adrenais avaliada por ultrassom no período de 2013 a 201863
- Tabela 6** – Frequência das alterações adrenais observados nos 100 cães submetidos ao teste de estimulação com ACTH64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	Hormônio Adrenocorticotrófico
cACTH	Hormônio Adrenocorticotrófico endógeno canino
ACVIM	Faculdade americana de medicina veterinária interna
Ac	Anticorpo
Ag	Antígeno
ALT	Alanina Aminotransferase
AN	Adrenal Normal
CIALP	Fosfatase Alcalina Corticoide-Induzida
CRH	Hormônio Liberador de Corticotrofina
CYP11B	Enzima 11 β -hidroxilase citocromo P450
CYP17	Enzima 17 α -hidroxilase
DM	Diabetes melito
FA	Fosfatase Alcalina
FT4	Tiroxina Livre
HAC	Hiperadrenocorticismo
HB	Hiperplasia Bilateral
HHA	Hipotálamo-Hipófise-Adrenal
HU	Hiperplasia Unilateral
HV	Hospital Veterinário
IM	Intramuscular
IV	Intravenosa
RCCU	Razão cortisol:creatinia urinária
RIA	Radioimunoensaio
RM	Ressonância Magnética
SBDD	Supressão com Baixa Dose de Dexametasona
SRD	Sem Raça Definida
TA	Tumor Adrenal
TC	Tomografia Computadorizada
TEP	Tromboembolismo Pulmonar
TRH	Hormônio Liberador de Tireotrofina
TSH	Hormônio Tireoestimulante

TT4	Tiroxina Total
UEL	Universidade Estadual de Londrina
VG	Volume Globular
VLDL	Lipoproteínas de baixa densidade
VPP	Valor Preditivo Positivo
VR	Valor de Referência
ZF	Zona Fasciculada
ZG	Zona Glomerulosa
ZR	Zona Reticular
17-OHPG	17 α -hidroxiprogesterona

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	CAPÍTULO 1 - HIPERADRENOCORTICISMO CANINO: REFERENCIAL TÉORICO	16
2.1	GLÂNDULAS ADRENAIS: ANATOMIA E FISIOLOGIA	16
2.2	HIPERADRENOCORTICISMO	19
2.1.1	Fisiopatogenia	20
2.2.2	Sinais Clínicos.....	21
2.2.3	Diagnóstico	22
2.2.3.1	Exames laboratoriais.....	22
2.2.3.2	Imagem	24
2.2.3.2.1	<i>Radiografia</i>	24
2.2.3.2.2	<i>Ultrassonografia abdominal</i>	25
2.2.4.1.3	<i>Tomografia computadorizada e ressonância magnética</i>	27
2.2.3.3	Testes endócrinos.....	27
2.2.3.3.1	<i>Teste de supressão com baixa dose de dexametasona (SBDD)</i>	30
2.2.3.3.2	<i>Teste de estimulação ao ACTH</i>	32
2.2.3.3.3	<i>Razão cortisol:creatinina urinária</i>	34
2.2.3.3.4	<i>Teste de concentração de ACTH endógeno</i>	35
2.2.3.3.5	<i>Mensuração de precursores do cortisol e hormônios sexuais adrenais</i>	37
	REFERÊNCIAS	38
3	CAPÍTULO 2: HIPERADRENOCORTICISMO CANINO: ESTUDO RETROSPECTIVO DE 144 CASOS ENTRE 2013 E 2018	45
	RESUMO.....	45
	ABSTRACT.....	46
3.1	INTRODUÇÃO.....	47
3.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	48
3.2.1	Aspectos Epidemiológicos.....	49
3.2.2	Exames Laboratoriais.....	49

3.2.3	Avaliação Adrenal.....	50
3.2.4	Testes Endócrinos.....	50
3.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	53
3.4	RESULTADOS.....	54
3.4.1	Epidemiologia.....	54
3.4.2	Exames Laboratoriais.....	57
3.4.3	Glândulas Adrenais.....	61
3.4.4	Testes Endócrinos.....	62
3.5	DISCUSSÃO.....	65
3.6	CONCLUSÃO.....	71
	REFERÊNCIAS	72

1 INTRODUÇÃO

O hiperadrenocorticismo (HAC) é uma endocrinopatia frequente na clínica de pequenos animais, acometendo principalmente cães. A enfermidade, também conhecida como Síndrome de Cushing, envolve a produção ou administração excessiva de glicocorticoides, sendo classificada como dependente da hipófise, dependente da adrenocortical ou iatrogênica (BEHREND; KEMPPAINEM, 2001; PETERSON, 2007; HERRTAGE; RAMSEY, 2015).

Os sinais clínicos resultantes do excesso de cortisol comumente incluem polidipsia, poliúria, polifagia, afecções dermatológicas, distensão abdominal e letargia. Além disso, o HAC pode gerar complicações como cistite, pielonefrite, diabetes melito (DM) secundária, hipertensão arterial sistêmica, degeneração retiniana aguda (SARD), ruptura de ligamento cruzado e tromboembolismo entre outros (BEHREND *et al.*, 2013, NELSON, 2015).

Os exames complementares são essenciais uma vez que o diagnóstico se baseia na avaliação conjunta dos sinais clínicos, exames laboratoriais, exames de imagem e testes hormonais. Dentre os exames de imagem, o ultrassom abdominal e a tomografia computadorizada são os mais utilizados na avaliação das glândulas adrenais e hipófise. O exame radiográfico de tórax e abdômen é recomendado em todos os casos suspeitos de HAC a fim de avaliar ou confirmar possíveis afecções associadas à doença (BEHREND, 2015; HERRTAGE; RAMSEY, 2015).

O teste de supressão em baixa dose de dexametasona (SBDD) é considerado o mais seguro e mais barato, no entanto, ocasionalmente nota-se resultados falso-positivos. O teste de estimulação com ACTH é considerado o melhor para diferenciar entre hiperadrenocorticismo espontâneo e iatrogênico e é padrão-ouro no diagnóstico do hipoadrenocorticismo. As desvantagens são a ocorrência mais frequente de resultados falso-negativos, custo mais elevado do exame e a baixa sensibilidade (KOOISTRA; GALAC, 2010; GILOR; GRAVES, 2011; BENNAIM *et al.*, 2018)

Diante às últimas discussões acerca do HAC, nota-se a falta de consenso a respeito de qual é o teste hormonal mais confiável na identificação da doença enquanto há inúmeras pesquisas a respeito dos protocolos de tratamentos.

O objetivo geral deste trabalho foi realizar um estudo retrospectivo a partir de 144 cães diagnosticados com hiperadrenocorticism, atendidos entre 2013 e 2018 no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina (HV-UEL) e na Clínica Espaço Vida Veterinária, em Londrina-PR. Os objetivos específicos foram avaliar qual foi o melhor teste endócrino (supressão em baixa dose de dexametasona ou estimulação pelo ACTH) para diagnosticar a doença, estabelecer os aspectos epidemiológicos, as alterações mais frequentes nos exames hematológicos, bioquímicos, urinálise e pressão arterial, assim como identificar a origem do HAC (hipofisária ou adrenal). Ainda foram analisados os valores de cortisol após 4h e 8h no teste de SBDD para avaliação dos padrões de supressão.

2 CAPÍTULO 1- HIPERADRECORTICISMO CANINO: REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 GLÂNDULAS ADRENAIS: ANATOMIA E FISIOLOGIA

As glândulas adrenais também chamadas de suprarrenais são pares, achatadas e cada uma está localizada no polo crânio-medial ao rim correspondente no espaço retroperitoneal. Seu tamanho e peso podem variar de acordo com a espécie, tamanho e condições fisiológicas do indivíduo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; EILER, 2012).

Ao corte, nota-se que a glândula é encapsulada e possui duas camadas que podem ser visualmente distintas, denominadas camada medular e camada cortical. Segundo Junqueira e Carneiro (2008), essas duas camadas podem ser consideradas dois órgãos distintos, de origens embrionárias diferentes, apenas unidos topograficamente.

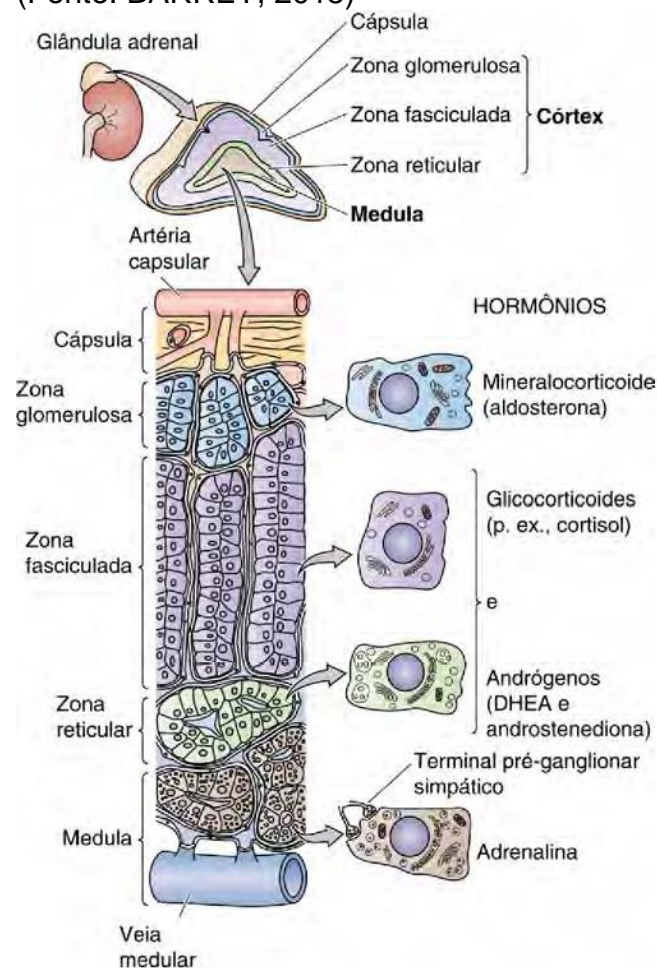
A camada medular ou medula adrenal é proveniente de células da crista neural e devido à sua origem nervosa não conseguem se regenerar. Ela encontra-se ao centro, representando na maioria dos cães 10-20% do tamanho total da glândula. Nesta camada existem dois tipos de células, chamadas de ganglionares simpáticas e feocromócitos, denominadas de *células cromafins*, que sintetizam e secretam catecolaminas como a adrenalina (85%) e em menor quantidade, a noradrenalina (15%) (EILER, 2012; BARRETT, 2015).

A camada cortical ou córtex tem origem do epitélio celomático e possui capacidade de regeneração após lesão química. Está localizada na periferia da glândula, constituindo entre 80-90% do seu tamanho nos cães (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; EILER, 2012). O córtex é dividido em três zonas concêntricas e tem sua atividade hormonal controlada por meio do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. As células do córtex não armazenam seus produtos de secreção em grânulos devido a maior parte de seus hormônios esteroides serem sintetizados após o estímulo e liberados em seguida (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; BARRETT, 2015).

A zona glomerulosa (ZG), camada mais externa, ocupa cerca de 25% do córtex adrenal e secreta mineralocorticoides, sendo a aldosterona o principal hormônio. A aldosterona é o principal regulador do equilíbrio salino e do volume extracelular, atuando sobre eletrólitos como sódio e potássio auxiliando na

homeostase da pressão arterial sanguínea. A zona fasciculada (ZF), no córtex médio, e a zona reticular (ZR), na junção córtico-medular, correspondem a 60% e 15% do córtex, respectivamente. Estas funcionam em conjunto e são a principal fonte de secreção de glicocorticoides no corpo (cortisol), que é estritamente regulada pelo eixo hipotalâmico-hipófise-adrenocortical (HAA). A ZR pode produzir ainda esteroides gonadais, como estrogênio, progesterona e androgênios como deidroepiandrosterona e androstenediona (EILER, 2012; SANDERS *et al.*, 2016).

Figura 1. Anatomia da glândula adrenal.
(Fonte: BARRET, 2015)

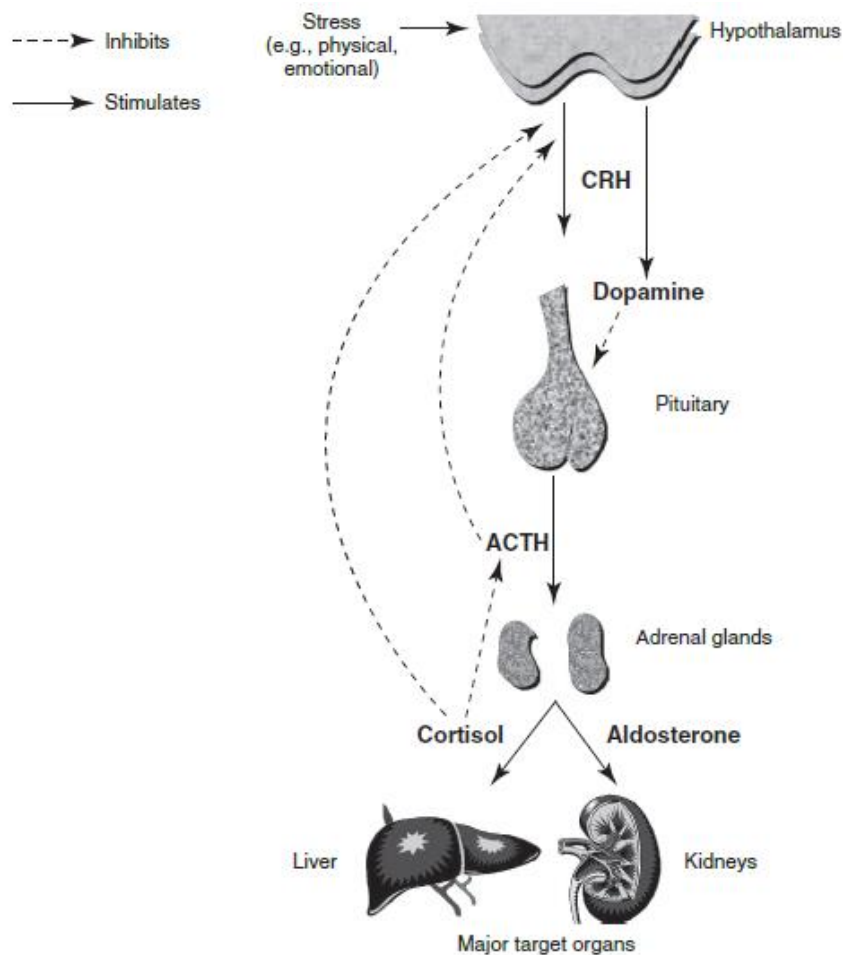


Fisiologicamente, a síntese e secreção de cortisol começam com a secreção do hormônio liberador de corticotrofina (CRH), a partir de neurônios hipotalâmicos, como parte do ciclo circadiano normal ou em resposta ao estresse. O CRH estimula a liberação de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), na hipófise anterior. Assim, o ACTH estimula diretamente as zonas fasciculado-reticular a produzirem e secretarem o cortisol. Por meio do mecanismo de retroalimentação

negativa ou *feedback* negativo, o cortisol exerce controle sobre a liberação de CRH e ACTH. As secreções de CRH e ACTH normalmente são periódicas e pulsáteis, o que resulta em oscilações na concentração de cortisol ao longo do dia, sendo a variação diurna sobreposta neste tipo de liberação (BARRETT, 2015; HERRTAGE; RAMSEY, 2015).

Figura 2. Mecanismo de retroalimentação negativa do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.

Fonte: BEHREND, 2015.



Estudos recentes a respeito da zonação funcional do córtex canino demonstraram de forma inédita a expressão zona-específica de enzimas esteroidais. Ao que concerne, o trabalho propõe um novo esquema para a esteroidogênese canina, com apenas uma enzima chamada CYP11B (11 β -hidroxilase citocromo P450), que implica que a produção de aldosterona e cortisol zona-específica ocorrem devido à expressão da enzima CYP17 (17 α -hidroxilase) zona-específica. A

expressão da CYP17 na ZF é crucial na síntese de cortisol, enquanto a falta dela na ZG restringe a esteroidogênese à produção de mineralocorticoides. Afirma-se que a presença da CYP17 zona-específica se torna um alvo atrativo para a inibição seletiva na síntese de cortisol sem afetar a produção de mineralocorticoides na ZG (SANDERS *et al.*, 2016).

A respeito de sua vascularização, as glândulas adrenais possuem diversas artérias que se originam de artérias maiores como a aorta abdominal e artérias renal, abdominal cranial e frênica caudal. Destas surgem os capilares corticais de forma radiada, que se introduzem na medular, onde é produzida estase sanguínea por ação de veias jugulares. As veias correm em uma veia central localizada na medula adrenal. Na medula, o sangue venoso com os hormônios que contém flui através de numerosas veias que correm paralelamente às artérias correspondentes e até chegar à veia cava. Essa arquitetura vascular permite que o sangue rico em cortisol seja conduzido do córtex até a medula e ocorra a transformação de noradrenalina em adrenalina com auxílio de enzimas (KÖNIG; LIEBICH, 2016).

2.2 HIPERADRENOCORTICISMO

O hiperadrenocorticismismo ou Síndrome de Cushing é uma desordem endócrina frequentemente diagnosticada em cães na clínica de animais de companhia, caracterizada pelo hipercortisolismo. A exposição prolongada a elevadas concentrações plasmáticas de cortisol pode gerar alterações físicas e bioquímicas no organismo do animal (KOOISTRA; GALAC, 2010).

Existem três principais causas para o HAC: secreção excessiva de corticotrofina (ACTH) pela glândula hipofisária, chamado de HAC hipofisário-dependente (ou pituitário-dependente); HAC adrenal-dependente, causado por neoplasia adrenocortical secretora de cortisol e a menos comum, o HAC iatrogênico causado pela administração prolongada de glicocorticoides exógenos (PETERSON, 2007). Em adição, outras potenciais causas de HAC são descritas em relatos de casos isolados como o hipercortisolismo secundário a tumor ectópico (pancreático) secretor de ACTH (GALAC *et al.*, 2005) e hipercortisolismo secundário a receptores adrenocorticais ectópicos ou eutópicos hiper-reativos, como exemplo do hipercortisolismo alimento-dependente (GALAC *et al.*, 2008).

2.2.1 Fisiopatogenia

O hiperadrenocorticismo hipófise-dependente (HHD) é a causa mais comum de hiperadrenocorticismo espontâneo, responsável por 80% a 85% dos casos. Um tumor hipofisário funcional secretor de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) ou hiperplasia corticotrófica provoca a hiperplasia adrenocortical bilateral e consequente excessiva produção de cortisol pelo córtex da adrenal (KOOISTRA; GALAC, 2010). Devido à ausência de *feedback* normal de inibição da secreção de ACTH pelo cortisol, a secreção excessiva de ACTH persiste apesar da maior secreção adrenocortical de cortisol (PETERSON, 2007).

Os adenomas podem se originar tanto no lobo anterior quanto na *pars intermedia* da hipófise, mas em 75 a 80% dos casos ocorrem no lobo anterior. Na *pars intermedia*, a incidência de tumores maiores (macroadenomas) é maior que no lobo anterior, o que manifesta interesse clínico, pois é onde acontece o controle hipotalâmico de síntese do hormônio e a massa ocupada pelo tumor pode gerar sinais neurológicos, alterações de comportamento e letargia (KOOISTRA; GALAC, 2010; SANDERS *et al.*, 2018). Os adenocarcinomas corticotróficos são raros e pouco relatados em decorrência da sua baixa frequência (PETERSON, 2007).

O hiperadrenocorticismo adrenal-dependente (HAD) ocorre em 15% a 20% dos casos e é causado na maioria das vezes por tumor de adrenal unilateral, podendo tumores adrenais bilaterais ocorrer em 10% dos casos (SANDERS *et al.*, 2018; KOOISTRA; GALAC, 2010). No HAD o problema primário é um tumor adrenal que produz excesso de cortisol com consequente *feedback* negativo na hipófise, diminuindo a produção de ACTH e consequentemente atrofia da glândula contralateral normal (RAMSEY; RISTIC, 2007). Tumores adrenocorticais podem ser benignos ou malignos, o que pode dificultar sua diferenciação entre hiperplasia nodular (incidentaloma) e neoplasia adrenal ao exame de ultrassonografia. Além disso, a classificação histológica entre adenoma e carcinoma é controversa, a menos que haja evidência de invasão ou metástase. Em cães, os carcinomas adrenocorticais ocorrem na maioria dos casos ou em pelo menos 50% deles (LABELLE *et al.*, 2004; RAMSEY; RISTIC, 2007).

O HAC iatrogênico é resultado da administração excessiva e uso prolongado de glicocorticoides para tratamentos de doenças alérgicas ou imunomediadas, seja por via oral ou tópica. Uma vez que o eixo hipotalâmico-

hipofisário-adrenocortical é normal, a administração excessiva de glicocorticoides suprime as concentrações plasmáticas de ACTH, provocando atrofia adrenocortical bilateral. Nestes animais, os resultados do teste de estimulação com ACTH são consistentes com o hipoadrenocorticismo espontâneo, apesar dos sinais clínicos de hiperadrenocorticismo (KOOISTRA; GALAC, 2010).

2.2.2 Sinais Clínicos

Em geral, o tipo hipofisário-dependente acomete cães de menor porte, de meia idade a mais velhos. Os cães com hiperadrenocorticismo adrenal-dependente tendem a ser mais idosos, com seis a 16 anos de idade e de maior porte (PETERSON, 2007). Não há predisposição racial comprovada, mas constata-se que algumas raças como o poodle, dachshund, bichon frise e yorkshire apresentam a doença com mais frequência, assim como predisposição sexual em fêmeas caninas e castradas, sem comprovação de que esta última seja um fator de risco para a doença (PETERSON, 2007; HOFFMAN *et al.*, 2018; O'NEILL *et al.*, 2016).

O início da doença é insidioso e progride lentamente ao longo de meses a anos. Por isso, muito proprietários consideram os sinais clínicos como parte do processo natural de envelhecimento de seus cães. Os sinais clínicos podem ser inespecíficos ou clássicos do HAC e intermitentes em alguns casos (PETERSON, 2007). Polidipsia, poliúria, polifagia, ganho de peso, respiração ofegante, perda de massa muscular, fraqueza e distensão abdominal são alguns dos principais sinais clínicos. Ao exame físico é possível identificar sinais mais específicos como telangiectasia e hepatomegalia (PETERSON, 2007; BEHREND *et al.*, 2013). A hipertensão é reportada em 31 a 86% dos cães com HAC, mas tem etiologia desconhecida e aparentemente multifatorial (GOY-THOLLOT *et al.*, 2002).

As manifestações cutâneas comuns da doença foram descritas em um trabalho no qual 100% dos cães apresentavam ao menos um sinal dermatológico. Dentre eles, 80% tinham alguma forma de alopecia, 57% pioderma e 5% comedos. O prurido esteve presente em 25% dos casos e foi relatado em outro trabalho como principal sinal clínico associado ao HAC, mesmo esperando que o cortisol tenha efeito anti-inflamatório sobre o organismo (WHITE *et al.*, 1989; ZUR; WHITE, 2011).

Dentre os sinais menos comuns estão as lesões ligamentares, degeneração retiniana aguda, anestro persistente e tromboembolismo (PETERSON, 2007; BEHREND *et al.*, 2013).

2.2.3 Diagnóstico

A indicação primária para a investigação diagnóstica de um paciente com suspeita de HAC é baseada principalmente no histórico e exame físico. A presença de um ou mais sinais clínicos relatados pelo proprietário ou sinais encontrados durante o exame físico justificam uma investigação mais detalhada (PETERSON, 2007; BEHREND *et al.*, 2013).

Os exames de imagem consistem na radiografia, ultrassonografia, tomografia computadorizada e ressonância magnética (BEHREND *et al.*, 2013), sendo esta última pouco disponível no Brasil. Os dois principais exames de triagem hormonal no HAC são realizados a partir da mensuração do cortisol plasmático, um por meio da supressão em baixa dose de dexametasona (SBDD) e outro por meio da estimulação com ACTH. Outros testes hormonais como supressão em alta dose de dexametasona (SADD), mensuração do ACTH endógeno, mensuração da 17-hidroxiprogesterona ou outros hormônios precursores do cortisol (PETERSON, 2007; BEHREND *et al.*, 2013, NELSON, 2015) são utilizados em casos mais específicos e requerem maior atenção ao serem solicitados.

2.2.3.1 Exames laboratoriais

Todos os cães sob suspeita de HAC devem ser submetidos à avaliação hematológica, bioquímica e urinária. Algumas alterações clinicopatológicas são consistentes com a endocrinopatia, porém nenhuma é patognomônica (BEHREND *et al.*, 2013).

A neutrofilia, monocitose, linfopenia, eosinopenia e algumas vezes leucocitose são resultado da indução esteroide na circulação, nos vasos e na própria medula e que associados podem acarretar o chamado leucograma de estresse. Policitemia discreta pode ser observada em alguns casos, assim como o aumento no número de hemácias (PETERSON, 2007; BEHREND, 2015). A trombocitose foi relatada em quase 80% dos cães com HAC e apesar do mecanismo não estar

elucidado, acredita-se que o cortisol tenha um efeito permissivo na trombocitopoiese. Ressalta-se que o aumento na produção das plaquetas não leva ao desenvolvimento direto do tromboembolismo e sim o estado de constante hipercoagulabilidade e aumento dos fatores de coagulação (PARK *et al.*, 2013; ROSE *et al.*, 2013).

Nas alterações bioquímicas, 85 a 90% dos cães têm aumento da enzima hepática fosfatase alcalina (FA) (PETERSON, 2007). Sua forma corticoide-induzida (CIALP) é a única que aparece tanto nos cães que recebem administração exógena de glicocorticóides quanto nos cães que apresentam excessiva liberação endógena de glicocorticoide (SOLTER *et al.*, 1993). A CIAPL é produzida nos canálculos biliares e seu aumento pode estar relacionado à hepatopatia vacuolar, resultado da exposição crônica ao aumento do cortisol (GILOR; GRAVES, 2011) ou doenças extra adrenais como a mucocele biliar e outras doenças colestáticas (KIM *et al.*, 2017). Os aumentos nos valores de alanina aminotransferase (ALT) e GGT (gama glutamiltransferase) são comuns, mas apresentam discreto aumento nos intervalos de referência e estão relacionados à hepatopatia secundária (GILOR; GRAVES, 2011).

Devido ao estímulo crônico da lipólise causada pelos glicocorticoides, é comum ocorrer hiperlipidemia nos cães com HAC (JERICÓ *et al.*, 2009). O aumento de colesterol foi relacionado a 90% dos casos de HAC, sendo que valores >300mg/dL estiveram presentes em aproximadamente 75% (PETERSON, 2007; BEHREND, 2015) e o aumento de triglicérides foi relatado em 84% dos casos (PIZON, 2009). A glicemia apresenta um discreto aumento, mas em decorrência dos efeitos antagonistas dos glicocorticoides à insulina e aumento da gliconeogênese, a hiperglicemia torna-se comum, podendo evoluir para a diabetes melito, relatada em 13,6% dos cães com HAC (BEHREND *et al.*, 2013; MICELI *et al.*, 2017).

Na urinálise, a diminuição da densidade urinária é a anormalidade mais frequente. Grande parte dos cães com HAC possuem valores menores que 1,015 e em alguns casos apresentam hipostenúria, com valores menores que 1,008 (BEHREND *et al.*, 2013; SMETS *et al.*, 2012; PETERSON, 2007). A proteinúria está presente na metade dos casos de HAC e é tipicamente de leve a moderada. O valor de UPC varia de acordo com os trabalhos e é de 1,47 a 2,74, dependendo se o HAC é dependente da hipófise ou da adrenal, respectivamente. A glicosúria quando presente é devido ao desenvolvimento do diabetes melito secundário ao HAC. Outra

afecção comum é a infecção do trato urinário, atribuídas ao efeito imunossupressor dos glicocorticoides, pela poliúria e pelo esvaziamento incompleto da bexiga pelo efeito poliúrico (BEHREND, 2015).

Outras alterações menos específicas incluem diminuição da tiroxina total (TT4) basal e da tiroxina livre (FT4) devido à supressão causada pelos esteroides. No entanto, a confirmação da doença tireoidiana em cães com HAC não controlado torna-se muito difícil em decorrência dos efeitos de inibição da secreção do hormônio tireoestimulante (TSH) na hipófise e baixa resposta de TSH ao estímulo do hormônio liberador de tireotrofina (TRH) (RAMSEY; RISTIC, 2007; HERRTAGE; RAMSEY, 2015).

2.2.3.2 Imagem

Os avanços na obtenção de imagens diagnósticas têm melhorado a habilidade dos clínicos em identificar a causa de hiperadrenocorticismismo espontâneo e a extensão da doença primária, de modo que o tratamento pode ser direcionado mais especificamente para o paciente em particular. No entanto, o achado de tumor de pituitária ou adrenal não indica, necessariamente, a presença de neoplasia funcional. Portanto, as imagens diagnósticas sempre devem ser interpretadas juntamente com os sinais clínicos e resultados de testes endócrinos (HERRTAGE; RAMSEY, 2015).

2.2.3.2.1 Radiografia

O exame radiográfico de tórax e abdome é recomendado em todos os casos suspeitos de HAC para identificação de tumores adrenais e pesquisa de metástase. O aumento ou mineralização da glândula adrenal são alterações raramente encontradas neste exame, o que torna o diagnóstico da doença mais difícil. Contudo, há indicação da radiografia para identificação de possíveis comorbidades e alterações secundárias que o HAC pode gerar no organismo do paciente (RAMSEY; RISTIC, 2007; HERRTAGE; RAMSEY, 2015).

Na radiografia abdominal os achados mais consistentes são a hepatomegalia (secundária à hepatopatia esteroideal), aumento do contraste abdominal em razão dos grandes depósitos de gordura, calcinose cutânea e

calcificação distrófica de tecidos moles, osteopenia vertebral, distensão da vesícula urinária devido ao constante estado poliúrico, além de cálculos vesicais e uretrais (NELSON, 2015; HERRTAGE; RAMSEY, 2015).

Na radiografia torácica é possível observar principalmente a calcificação da traqueia e brônquios, metástase pulmonar, osteopenia vertebral e tromboembolismo pulmonar (TEP). No TEP ocorre hipovascularidade em campos pulmonares, infiltrados alveolares, aumento de volume na artéria pulmonar direita, cardiomegalia direita e efusão pleural (NELSON, 2015).

2.2.3.2.2 Ultrassonografia abdominal

A ultrassonografia abdominal em modo-B é o exame de imagem mais prático e confiável utilizado na rotina clínica de pequenos animais no auxílio diagnóstico do HAC e identificação de sua origem. Utilizada principalmente para avaliar o tamanho e formato das adrenais e buscar outras anormalidades no abdome, a técnica apresenta algumas vantagens como a facilidade na obtenção de imagens, a avaliação em tempo real e sem necessidade de sedação ou anestesia do paciente por ser um exame bem tolerado (FERNANDEZ, 2016).

É possível visualizar hepatomegalia e hiperecogenicidade hepática, distensão da vesícula urinária, calcificação de tecidos moles e adrenais e cálculos em bexiga. Tumores adrenais são mais facilmente detectados e mensurados pela ultrassonografia, que pode auxiliar ainda na avaliação de invasão de vasos ou tecidos adjacentes, aspectos de malignidade e possíveis trombos (BEHREND *et al.*, 2013; NELSON, 2015; HERRTAGE; RAMSEY, 2015; PAGANI *et al.*, 2016). Contudo, a presença de conteúdo gasoso intestinal, a condição corporal do paciente, tamanho das glândulas e experiência do ultrassonografista podem ser limitações no exame (NELSON, 2015; FERNANDEZ, 2016).

Na avaliação das glândulas, a largura da adrenal é o parâmetro mais informativo. Devido ao eixo longo de uma glândula adrenal estar frequentemente desalinhado com o plano mediano ou dorsal do corpo, as imagens transversais podem levar à vistas oblíquas e a erros de cálculo das dimensões glandulares (BEHREND *et al.*, 2013). Para que ocorra menor incidência de erros, recomenda-se optar por um ultrassonografista que tenha maior experiência com o exame e um aparelho ultrassonográfico de alta resolução (HERRTAGE; RAMSEY, 2015;

FERNANDEZ, 2016).

As dimensões máximas (comprimento x espessura) das glândulas adrenais têm variado ao longo dos anos e de acordo com os estudiosos do assunto. Enquanto alguns mais antigos apresentam valores que variam de 0,1 a 0,52 cm x 0,2 a 1,2 cm, outros mais recentes defendem valores de 0,4 a 0,7 cm como tamanho para cães saudáveis (DOUGLASS, 1997; GROOTERS *et al.*, 1995; NELSON, 2015).

Embora se tenha afirmado que existe baixa correlação entre o peso corporal e mensuração adrenal nas diferentes raças (HERRTAGE; RAMSEY, 2015), um estudo de 2011 mostrou que cães considerados de pequeno porte (até 10 quilos) apresentam adrenais menores e recomenda que o valor de corte de 0,6 cm (polo caudal) deve ser considerado como critério para diferenciar entre uma adrenal normal e uma aumentada (CHOI *et al.*, 2011).

Outro estudo aponta que o valor de corte de 0,74 cm proposto indiscriminadamente para qualquer raça ou peso não é apropriado para cães de raças médias e pequenas. Como resultado, demonstraram que existe correlação entre o tamanho da adrenal e o peso corporal em cães normais e que intervalos de referência mais precisos devem ser criados, categorizando o tamanho da glândula e o tamanho dos cães como a raça pequena, média ou grande. Ademais, o trabalho propõe que a glândula adrenal provavelmente seja normal no tamanho se a espessura do polo caudal no plano sagital for 0,54 cm para cães com menos de 10 kg, 0,68 cm para cães 10 a 30 kg, e 0,80 cm para cães com mais de 30 kg (SOULSBY *et al.*, 2015).

A ultrassonografia Doppler fornece informações em tempo real sobre a arquitetura e os aspectos hemodinâmicos como velocidade sistólica, velocidade diastólica, índice de resistência e pulsatividade dos vasos em diversos órgãos (FERNANDEZ, 2016). O uso de meio de contraste (hexafluoreto de enxofre) comparou características de adrenais de cães com HAC hipófise-dependente com animais saudáveis, confirmando que este é um método válido para avaliar a doença baseando-se nas alterações de padrões vasculares (BARGELLINI *et al.*, 2013).

2.2.3.2.3 Tomografia computadorizada e ressonância magnética

Os exames de tomografia computadorizada (TC) e ressonância magnética (RM) são métodos extremamente acurados e confiáveis para avaliar tanto

as adrenais quanto a hipófise (PETERSON, 2007). As principais indicações são para avaliar a presença de tumores hipofisários (macroadenoma), tumores e hiperplasia de adrenal, determinação do tamanho e simetria das adrenais além de detectar a presença de trombo tumoral adrenal na vasculatura adjacente (NELSON, 2015; HERRTAGE; RAMSEY, 2015). As desvantagens incluem a necessidade de anestesia geral e um profissional experiente para interpretar o resultado, além do alto custo e indisponibilidade das técnicas em alguns locais (PETERSON, 2007).

A RM mostrou-se mais sensível do que a TC, podendo detectar tumores hipofisários pequenos (3 mm) e possíveis alterações relacionados à neoplasia como edema, hemorragia e necrose (NELSON, 2015; HERRTAGE; RAMSEY, 2015). No entanto, nenhuma das técnicas é especificamente recomendada pelo consenso da Faculdade americana de medicina veterinária interna (ACVIM) publicado em 2013. A escolha deve ser baseada na disponibilidade e nas informações que estão sendo buscadas (BEHREND *et al.*, 2013)

Quando há suspeita clínica de que o HAC seja causado por tumor hipófise-dependente, a TC ou RM devem ser consideradas em todos os cães. Neste caso, além do diagnóstico, os exames são essenciais para planejamento e tratamentos como hipofisectomia ou radioterapia (BEHREND *et al.*, 2013; DEL MAGNO, *et al.*, 2016; VAN DER VLUGT-MEIJER *et al.*, 2003). Outra forte indicação para indicação desses exames de imagem é quando houver discordância entre exames e outros testes feitos previamente (BEHREND *et al.*, 2013).

2.2.3.3 Testes endócrinos

A partir de sinais clínicos, exame físico, exames laboratoriais de rotina e exame de imagem é possível pressupor o HAC, contudo, o diagnóstico definitivo só pode ser confirmado com a realização de testes endócrinos.

O diagnóstico de HAC depende da demonstração do aumento na produção de cortisol ou da diminuição da sensibilidade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) ao *feedback* negativo dos glicocorticoides (BEHREND *et al.*, 2013).

Os métodos laboratoriais mais utilizados para mensuração do cortisol sérico são o radioimunoensaio (RIE) e o ensaio por quimioluminescência. Desde que foi validado por Reimers *et al.* (1981) o RIE é considerado padrão-ouro e foi o método mais utilizado em estudos com maior número de cães (KAPLAN *et al.*

1995; BEHREND *et al.*, 2005; ALDRIDGE *et al.*, 2006). A justificativa pode ser atribuída à validação do método de quimioluminescência ocorrer apenas 15 anos mais tarde (REIMERS *et al.*, 1996).

Apesar da excelente especificidade, precisão, resultados rápidos e alta sensibilidade (REIMERS *et al.*, 1996), outras técnicas de mensuração do cortisol (ensaios enzimáticos, fluorimetria, cromatografia líquida de alta performance, diálise de ultrafiltração) têm sido validadas para substituir o RIE devido a menor vida útil dos reagentes, aos riscos de manipulação e descarte de resíduos radioativos (RUSSEL *et al.*, 2007).

Em estudos recentes, a quimioluminescência tem sido mais utilizada tanto para diagnóstico de hiperadrenocorticismo (JOHNSON *et al.*, 2017; MACFARLANE *et al.*, 2017; BENNAIM *et al.*, 2018; NIVY *et al.*, 2018) quanto hipoadrenocorticismo (ADLER *et al.*, 2007; BAUMSTARK *et al.*, 2014; BOVENS *et al.*, 2014; BORETTI *et al.*, 2015; GUNN *et al.*, 2016; WAKAYAMA *et al.*, 2017).

O melhor método e valores de referência ainda não foram padronizados cientificamente, apesar dos estudos realizados (REIMERS *et al.*, 1981; REIMERS *et al.*, 1996; RUSSEL *et al.*, 2007). Embora as concentrações de cortisol de RIE e de quimioluminescência apareçam altamente correlacionadas, pode existir uma diferença significativa para concentrações inferiores a 100 nmol/L em amostras armazenadas. Os resultados dos ensaios de cortisol por quimioluminescência devem ser interpretados com cautela, a menos que o método de teste específico em laboratório tenha sido adequadamente validado em cães (RUSSEL *et al.*, 2007). Recomenda-se, portanto, que laboratório de escolha tenha padronização do método e forneça seus próprios valores de referência (BEHREND *et al.*, 2013; HERRTAGE; RAMSEY, 2015).

Os testes hormonais de triagem mais utilizados são o teste de supressão com baixa dose de dexametasona (SBDD) e resposta a estimulação com ACTH, mas nenhum deles é totalmente acurado, podendo apresentar resultados falso-positivos e falso-negativos (BENNAIM *et al.*, 2018).

Tabela 1. Sensibilidade e especificidade reportadas em estudos entre 1983 e 2018 em cães com hiperadrenocorticismo.

	N	SENSIBILIDADE	ESPECIFICIDADE
TESTE DE SUPRESSÃO COM BAIXA DOSE DE DEXAMETASONA			
FELDMAN, 1983	64	92%	NI
REUSCH & FELDMAN, 1991	28	100%	NI
KAPLAN <i>et al.</i> , 1995	100	100%	44%
FELDMAN <i>et al.</i> , 1996	216	98%	NI
VAN LIEW <i>et al.</i> , 1997	81	96%	70%
BENNAIN <i>et al.</i> , 2018	123	96,6%	67,2%
ESTIMULAÇÃO COM ACTH			
FELDMAN, 1983	64	83%	NI
CHASTIAN <i>et al.</i> , 1986	33	NI	64%
REUSCH & FELDMAN, 1991	28	63%	NI
KAPLAN <i>et al.</i> , 1995	100	80%	86%
VAN LIEW <i>et al.</i> , 1997	81	95%	91%
BEHREND <i>et al.</i> , 2005	127	46,5%	NI
MONROE <i>et al.</i> , 2012	61	84%	59%

ACTH= Hormônio adrenocorticotrófico, NI= não informado, N= número de cães no estudo.

Fonte: Adaptado de FELDMAN, 1983; REUSCH & FELDMAN, 1991; FELDMAN *et al.*, 1996; CHASTIAN *et al.*, 1986; KAPLAN *et al.*, 1995; VAN LIEW *et al.*, 1997; BEHREND *et al.*, 2005; MONROE *et al.*, 2012; BENNAIN *et al.*, 2018.

Outros métodos incluem a supressão em alta dose de dexametasona (SADD), mensuração da 17-hidroxiprogesterona em casos suspeitos de HAC atípico, no qual o cão apresenta resposta do cortisol normal tanto no teste de supressão quanto no de estimulação; e a determinação da razão cortisol:creatinina urinária, considerada um excelente e valioso exame de triagem (BENNAIN *et al.*, 2018; NELSON, 2015; HERRTAGE; RAMSEY, 2015), mas ainda sem aplicação na rotina clínica no Brasil. A mensuração da concentração de cortisol salivar é rotineira na medicina humana (ELAMIN *et al.*, 2008) e já foi descrita na medicina veterinária mostrando resultados positivos, mas tem como limitação a necessidade de grande volume de amostra (WENGER-RIGGENBACH *et al.*, 2010).

Nenhum dos testes é totalmente preciso para confirmar o diagnóstico de HAC e jamais deve ser baseado simplesmente nos resultados de testes de triagem. Também não se deve excluir a possibilidade do diagnóstico, principalmente em cães que não manifestam os sinais clássicos da doença ou

naqueles que apresentem doença não adrenal (DNA) (BENNAIN *et al.*, 2018; HERRTAGE; RAMSEY, 2015).

Quando um teste for negativo no paciente suspeito para HAC, outro teste deverá ser realizado. Caso mais de um teste seja negativo, a possibilidade que o paciente não tenha HAC deve ser considerada. Uma alternativa é que o paciente possa ter uma forma mais leve da doença e os testes ainda não sejam positivos. Recomenda-se que os testes sejam refeitos entre três e seis meses se houver progressão dos sinais clínicos (BEHREND *et al.*, 2013).

2.2.3.3.1 Teste de supressão com baixa dose de dexametasona (SBDD)

O teste de supressão com baixa dose de dexametasona (SBDD) foi o primeiro teste endócrino descrito em cães em 1978 (MUELLER *et al.*, 2006) e atualmente é recomendado pelos especialistas do Colégio americano de medicina interna veterinária (ACVIM) como teste de triagem de eleição (BEHREND *et al.*, 2013; NIVY *et al.*, 2018).

A justificativa da recomendação se deve à sua alta sensibilidade (85-100%), principalmente nos casos hipófise-dependente e ao menor custo comparado ao teste de estimulação com ACTH. Apesar de apresentar razoável especificidade (44-73%), o teste ainda apresenta resultados falso-positivos (FELDMAN, 1983; KAPLAN *et al.*, 1993; VAN LIEW *et al.*, 1997; BEHREND *et al.*, 2013; BENNAIM, 2018).

O mecanismo do teste consiste em demonstrar a diminuição da sensibilidade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal ao *feedback* negativo dos glicocorticoides (BEHREND *et al.*, 2013). Devido ao *feedback* negativo em cães saudáveis, a aplicação de dexametasona, um potente glicocorticoide, inibe a secreção de ACTH pela hipófise e conseqüentemente suprime o nível de cortisol endógeno no plasma sanguíneo no mínimo durante 8 horas em pacientes sadios. Em cães com hiperadrenocorticismos, esse *feedback* negativo se torna ineficaz devido a produção autônoma de ACTH ou cortisol, respectivamente, de modo que uma administração de dexametasona em baixa dosagem não tenha efeito supressivo sobre a concentração plasmática de cortisol (GILOR, GRAVES, 2011; HOFFROGGE *et al.*, 2016).

O último consenso da Faculdade americana de medicina veterinária interna de 2012 (ACVIM) sugere que o paciente não seja alimentado durante o período do teste. Apesar do efeito da alimentação antes do teste de SBDD ser desconhecido, o jejum é necessário em casos que a lipemia possa interferir no resultado do método de mensuração do cortisol. Além disso, pode ser feito a qualquer hora do dia uma vez que não há estudos a respeito da secreção circadiana de cortisol em cães. As restrições são feitas apenas quanto ao uso prévio de fenobarbital e glicocorticoides que podem interferir no resultado (BEHREND *et al.*, 2013).

Recomenda-se que uma coleta de sangue deve ser feita antes da administração da dexametasona para a mensuração do cortisol basal e em seguida, uma dose de 0,01mg/kg de dexametasona deve ser administrada por via intravenosa (IV). Após 4 horas e 8 horas da administração de dexametasona novas amostras de sangue devem ser coletadas. As amostras devem ser centrifugadas em até 1 hora após a coleta e imediatamente refrigeradas ou congeladas para posterior envio ao laboratório de referência (BEHREND *et al.*, 2013; NELSON, 2015).

O resultado das amostras do cortisol basal e após 8 horas da dexametasona são as mais importantes na interpretação do teste de SBDD, contudo, a amostra obtida após 3 a 4 horas pode ser importante na diferenciação da causa do HAC. Em 2006, o termo descrito como padrão “inverso” foi utilizado em cães com tumores hipofisários que apresentaram concentração de cortisol após 4 horas elevado, enquanto a concentração do cortisol após 8 horas estava dentro dos valores de referência (MUELLER *et al.*, 2006). Recentemente um trabalho considerou o padrão inverso como positivo em dois cães baseado nos sinais clínicos, resultados laboratoriais e HAC de origem hipofisária (BENNAIM *et al.*, 2018). Ainda sem poder afirmar esse padrão como possível causa de HAC, novos estudos foram recomendados (MUELLER *et al.*, 2006; BENNAIM *et al.*, 2018).

Quando o valor de cortisol está abaixo do valor de referência ($<1\mu\text{g/dL}$), o resultado é considerado negativo. Se o valor ficar entre 1 e $1,4\mu\text{g/dL}$, o diagnóstico deve ser considerado como inconclusivo ou sugestivo. Valores acima do valor de referência ($1,4\mu\text{g/dL}$) indicam que não houve supressão pelo eixo HHA e o paciente é considerado positivo para HAC (REUSCH; FELDMAN, 1991; ARENAS *et al.*, 2014; NELSON, 2015; KIM *et al.*, 2017). A concentração sérica do cortisol após 4 horas da

administração da dexametasona fornece informações sobre a origem do HAC (NELSON, 2015) (tabela 2).

Tabela 2. Interpretação do valor de cortisol 4 e 8 horas após a administração da baixa dose de dexametasona em cães suspeitos de HAC.

Momento pós administração da dexametasona			
	4 horas	8 horas	Interpretação
	-	<1,0	Normal
Valor do cortisol (µg/dL)	-	1 a 1,4	Sugestivo
	< 50% do basal	> 1,4	HHD
	-	> 1,4 e < 50% do basal	HHD
	>50% do basal	> 1,4 e > 50% do basal	HHD ou HAD

HHD = hiperadrenocorticismo hipófise-dependente, HAD = hiperadrenocorticismo adrenal-dependente.

Fonte: adaptado de NELSON, 2015.

2.2.3.3.2 Teste de estimulação com ACTH

O teste de estimulação com ACTH tem como objetivo estimular ao máximo a secreção de cortisol pelo córtex adrenal e avaliar se há resposta excessiva na produção do glicocorticoide (ALDRIDGE *et al.*, 2016; PETERSON, 2007). É considerado o padrão-ouro no diagnóstico do hipoadrenocorticismo, na identificação de hiperadrenocorticismo iatrogênico e para o monitoramento do tratamento com trilostano e mitotano (PETERSON, 2007; GILOR; GRAVES, 2011; NELSON, 2015; SIEBER-RUCKSTUHL *et al.*, 2015).

A especificidade varia de 59 a 93% e a sensibilidade de 57 a 95%, sendo considerada inútil como teste de triagem para os casos de HAC espontâneo canino em relação ao teste de SBB, demonstrando mais resultados falso-negativo (BEHREND *et al.*, 2013, HERRTAGE; RAMSEY, 2015).

Segundo Nelson (2015), devido a problemas de sensibilidade e especificidade, o teste de estimulação com ACTH não é utilizado ao avaliar cães com suspeita de HAC, pois os resultados são comumente inconclusivos e cães sem HAC podem apresentar resultados claramente anormais. No entanto, esta opinião é contrariada por outros pesquisadores, que afirmam que o teste de estimulação é utilizado com frequência como teste inicial de triagem devido a sua facilidade, curta duração e alta especificidade e valor preditivo positivo (VPP) (ALDRIDGE *et al.*,

2016; NIVY *et al.*, 2018). Segundo O'Neill *et al.* (2016), o teste de estimulação pelo ACTH foi o teste endócrino mais utilizado para diagnosticar o HAC em um estudo com 304 cães, ultrapassando 95% dos casos. A justificativa foi a rapidez e conveniência aos proprietários.

Este método é rápido, seguro e pode ser feito a qualquer hora do dia sem preparação prévia do paciente, mas recomenda-se que este não seja alimentado durante o período do teste. Progestágenos, glicocorticoides e cetoconazol suprimem o eixo HHA e diminuem a resposta ao ACTH, por isso devem ser evitados antes do teste (BEHREND *et al.*, 2013).

O protocolo atual recomenda administrar 5µg/kg de ACTH sintético, devido a sua pureza e controle de qualidade. Os mais utilizados são a cosintropina (Cortrosyn) ou tetracosactida (Synacthen) por via IV não ultrapassando o máximo de 250 µg por cão. Amostras para medição de cortisol devem ser coletadas antes e 1 hora após a administração ACTH. Embora a cosintropina possa ser administrada por via IM em cães saudáveis com o mesmo efeito, a administração por via IV é escolhida para evitar problemas com a absorção de drogas (BEHREND, 2015; COHEN; FELDMAN, 2012). A administração da tetracosactida de depósito (depot) só é recomendada por via IM e aconselha-se que a coleta de sangue seja realizada 3 horas após a aplicação do ACTH (SIEBER-RUCKSTUHL *et al.*, 2015).

Os valores absolutos para as concentrações de cortisol pré e pós-ACTH devem ser avaliados para a interpretação do exame. Alguns laboratórios incluem um limite de intervalo para os resultados da concentração de cortisol pós-ACTH no qual os valores podem ser inconclusivos. Se um dos resultados diminuir dentro do intervalo, HAC, infelizmente, não pode ser confirmado ou excluído (BEHREND, 2015; NELSON, 2015). Cães com HAC hipófise-dependente ou tumor adrenal (TA) tem o potencial para uma resposta exagerada à estimulação com ACTH, pois as duas formas tem aumento da capacidade de sintetizar e secretar quantidades excessivas de cortisol (BEHREND, 2015; PETERSON, 2007). Em casos raros, o cão com TA pode apresentar resposta mínima de cortisol ao ACTH (NELSON, 2015).

Em cães com HAC iatrogênico (cortisol <6µg/dL), o córtex adrenal é suprimido pela administração de glicocorticoides exógenos e conseqüentemente, as concentrações endógenas de cortisol estão abaixo do intervalo de referência (NELSON, 2015). O HAC iatrogênico é diagnosticado com base em concentrações

de cortisol suprimidos, a presença de sinais clínicos da doença e histórico de uso terapêutico de glicocorticoide exógeno terapêutica por qualquer via, incluindo tópica (BEHREND, 2015).

2.2.3.3.3 Razão cortisol:creatinina urinária

O exame de determinação da razão cortisol:creatinina urinária (RCCU) é considerado um excelente exame de triagem para o HAC canino pela sua fácil realização, ser não-invasivo, alta acurácia e utilidade em informar sobre a produção e excreção de corticoides (BEHREND *et al.*, 2013; KOOISTRA; GALAC *et al.*, 2010). Além disso, é indicado para monitorar a secreção de cortisol após hipofisectomia e tratamento com mitotano (GALAC *et al.*, 2009).

O protocolo mais recente sugere que as coletas de urina devem ser feitas em ambiente doméstico, tranquilo e livre de estresse a fim de evitar resultado falso-positivo. A sensibilidade e especificidade são altas quando o procedimento é realizado conforme o recomendado, 99% e 77%, respectivamente. No entanto, quando o paciente é levado ao ambiente hospitalar para coleta, a sensibilidade fica entre 75-100% e a especificidade cai para 20-25%, reflexo do falso aumento de cortisol pelo estresse (BEHREND *et al.*, 2013; NELSON, 2015).

As amostras devem ser coletas por dois dias consecutivos pelo método de micção espontânea e preferencialmente pela manhã (BEHREND, 2015; NELSON, 2015). A urina coletada pela manhã reflete a liberação de cortisol ao longo de um período de várias horas e assim ajusta as oscilações nas concentrações plasmáticas de cortisol (HERRTAGE; RAMSEY, 2015).

Resultados que apresentem valores da RCCU dentro dos intervalos de referência tornam o diagnóstico de HAC muito improvável. Em cães com hiperadrenocorticismos, uma ou ambas as amostras de urina apresentam valores da RCCU acima dos valores de referência, o que indica, mas não confirma o diagnóstico, pois a RCCU também está frequentemente aumentada em cães com doenças não adrenais e em cães com sinais clínicos de HAC, mas com função do eixo HHA normal (HERRTAGE; RAMSEY, 2015; NELSON, 2015). O valor de referência é $10-30 \times 10^6$ e não possui unidade, sendo reportado sem notação científica (BEHREND; KEMPPAINEN, 2001).

2.2.3.3.4 Teste de concentração de ACTH endógeno

O teste de mensuração plasmática do ACTH endógeno é indicado atualmente como o teste bioquímico mais preciso na diferenciação de HAC hipófise-dependente e adrenal-dependente (BEHREND *et al.*, 2013)

O ACTH endógeno canino (cACTH) é secretado da glândula hipofisária de modo pulsátil e episódico em cães saudáveis e com HAC hipófise-dependente, excluindo assim seu valor diagnóstico para triar ou confirmar a doença (BEHREND *et al.*, 2013; GOULD, *et al.*, 2001).

A acurácia para diferenciação entre tumor hipofisário e tumor adrenal depende da sensibilidade analítica e da área de trabalho da análise. O problema mais comum com a análise do cACTH é a baixa sensibilidade, que ocorre principalmente com cães com tumor de hipófise (BEHREND *et al.*, 2013)

Os métodos imunoradiométrico (IRMA) e quimioluminescência foram validados para mensuração de cACTH (BEHREND *et al.*, 2013). O IRMA é uma técnica alternativa ao radioimunoensaio em que anticorpos (Ac) mono-específicos radiomarcados são utilizados para quantificar o antígeno (Ag) (MALLMANN, 2003).

Segundo Scott-Moncrieff *et al.* (2003), as mensurações de concentração de cACTH são mais baixas usando a tecnologia de quimioluminescência do que no radioimunoensaio (imunoradiometria). O método da quimioluminescência é uma técnica válida para mensuração de ACTH em plasma canino, no entanto diminui a concentração medida de ACTH e este efeito deve ser levado em consideração na interpretação dos resultados.

O maior estudo de ACTH feito em cães com HAC avaliou o uso do método imunoluminométrico (ILMA) e não se observou sobreposição nas concentrações de ACTH entre cães com HAC adrenal-dependente e cães com HAC hipófise-dependente. A utilização da técnica com alta sensibilidade analítica possibilitou a utilização de um limiar baixo (5pg/mL), evitando a classificação errônea de alguns casos de HAC adrenal-dependente com concentrações baixas, mas quantificáveis de ACTH. A avaliação das concentrações de ACTH pela ILMA é uma ferramenta precisa para diferenciar entre HAC hipófise e adrenal-dependente (RODRIGUEZ-PIÑEIRO *et al.*, 2009) (tabela 4).

Tabela 3. Resultado do ACTH endógeno nos métodos de análise para cães com HAC.

Estudo	Método de análise	HAC hipófise-dependente	Tumor adrenocortical	Número incorreto
Zeugswetter	Immulite 1000	49 cães	10 cães	9/59
Rodriguez-Piñeiro	Immulite 2000	91 cães (6 a 125pg/mL)	18 cães (<5 pg/mL)	0/109
Castillo	Nichols IRMA	5 cães 9 a 30 pmol/L	NI	NI
Scott-Moncrieff	Immulite ACTH IRMA	11 cães <5 a 50 pg/mL 9 a 99 pg/mL	4 cães <10 pg/mL <10 pg/mL	4/15 Immulite 3/15 IRMA
Gould	Nichols IRMA	21 cães 28 a 1132 pg/mL 1 cão <5 pg/mL	5 cães <5 pg/mL 1 cão 76 pg/mL	2/28

Fonte: Adaptado de Behrend *et al*, 2013: Diagnosis of spontaneous canine hyperadrenocorticism: 2012 ACVIM Consensus Statement (Small Animal); Behrend, 2015: Canine hyperadrenocorticism. ACTH = hormônio adrenocorticotrófico; IRMA = imunoradiométrico ensaio (ensaio imunoradiométrico); NI = não informado

O resultado da concentração de cACTH que se apresente indetectável ou abaixo dos valores de referência indica que o cão tem HAC adrenal-dependente, no qual um tumor adrenal suprime a secreção do hormônio. Cães com HAC hipófise-dependente, por outro lado, tendem a apresentar concentrações plasmáticas de cACTH na metade superior ou maiores que limite superior da faixa de referência. Concentrações plasmáticas próximas ao limite inferior de referência podem ser identificadas nos tipos de HAC, mas não são diagnósticas (NELSON, 2015).

A execução do exame deve ser rigorosa desde a coleta até o envio da amostra. Proteases do plasma degradam o ACTH rapidamente se as amostras não forem manipuladas corretamente, aumentando a probabilidade de um valor falsamente baixo em cães com HAC hipófise-dependente (BEHREND *et al.*, 2013).

Recomenda-se que o sangue seja coletado em tubo com EDTA e centrifugado em no máximo 15 minutos, preferencialmente em centrífuga refrigerada. O plasma deve ser transferido para tubos plásticos e congelado imediatamente até serem utilizados na análise. Para o transporte rápido ou em laboratórios locais, o uso de gelo é considerado suficiente. Se as amostras forem enviadas para locais distantes, o transporte deverá ser feito durante a noite e embalado com gelo seco (RAMSEY; RISTIC, 2007; BEHREND *et al.*, 2013).

2.2.3.3.5 Mensuração de precursores do cortisol e hormônios sexuais adrenais

A síndrome do HAC atípico ou oculto ocorre no cão que apresenta sintomas característicos de hipercortisolemia, ausência de evidência de tumores adrenais secretores de hormônio sexual e resultados dos testes de triagem para HAC dentro do intervalo de referência normal (FRANK *et al.*, 2015). Tem-se sugerido que estes casos de HAC podem representar um distúrbio da via de produção de esteroides e que alguns precursores do cortisol como a 17-OHPG podem se apresentar elevados (BEHREND *et al.*, 2013)

A concentração da 17-OHPG pode apresentar uma resposta exagerada à estimulação com ACTH no HAC atípico e pode ser um método útil para sua confirmação. As vantagens são que a mesma amostra de plasma da estimulação com ACTH pode ser usada para mensurar a 17-OHPG, é um teste não invasivo e tem curta duração (RISTIC *et al.*, 2002; HERRTAGE; RAMSEY, 2015).

Os resultados devem ser interpretados a partir dos valores de referência fornecidos pelo laboratório de eleição em conjunto com os achados clínicos e resultados de outros exames laboratoriais (RISTIC *et al.*, 2002).

REFERÊNCIAS

- ADLER, J. A. *et al.* Abnormalities of Serum Electrolyte Concentrations in Dogs with Hypoadrenocorticism. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v. 21(5), p. 1168–1173, Jun 2007.
- ALDRIGDE, C. *et al.* Comparison of 2 doses for ACTH stimulation testing in dogs suspected or treated for hyperadrenocorticism. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.30 (5). p.1637-1641, Sep/Oct 2016.
- ARENAS, C. *et al.* Long-term survival of dogs with adrenal-dependent hyperadrenocorticism: a comparison between mitotane and twice daily trilostane treatment. **Journal of veterinary internal medicine**, v.27 (6), p.1292-1304, Nov/Dec 2013.
- ARTEAGA, A. *et al.* Monitoring the response of canine hyperadrenocorticism to trilostane treatment by assessment of acute phase protein concentrations. **Journal of small animal practice**, UK, v.51, p.204-209, Apr 2010.
- BARRETT, E.J. A glândula suprarrenal. In: BORON, W. F.; BOULPAEP, E. **Fisiologia médica**. 2.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.
- BARGELLINI, P. *et al.* Contrast-enhanced ultrasonographic characteristics of adrenal glands in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. **Veterinary radiology & ultrasound**, v.54 (3), p.283-292, May/Jun 2013.
- BAUMSTARK, M. E. *et al.* Use of Plasma Renin Activity to Monitor Mineralocorticoid Treatment in Dogs with Primary Hypoadrenocorticism: Desoxycorticosterone Versus Fludrocortisone. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v. 28 (5), p. 1471–1478, Sep/Oct 2014b.
- BEHREND, E. N. *et al.* Diagnosis of spontaneous canine hyperadrenocorticism: 2012 ACVIM Consensus Statement (Small Animal). **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.27 (6), p.1292-1304, Nov/Dec 2013.
- _____. Serum 17-alpha-hydroxyprogesterone and corticosterone concentrations in dogs with nonadrenal neoplasia and dogs with suspected hyperadrenocorticism. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.227 (11), p.1762-1767, Dec 2005.
- BEHREND, E. N. Canine hyperadrenocorticism. In: FELDMAN, E. C.; NELSON, R. W.; REUSCH, C.E; SCOTT-MONCRIEFF, J.C.R. **Canine and feline endocrinology**. 4.ed. Saunders, 2015.
- BENNAIM, M. *et al.* Evaluation of individual low-dose dexamethasone suppression test patterns in naturally occurring hyperadrenocorticism in dogs. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.32 (3), p.967-977, May/Jun 2018.
- BORETTI, F. S. *et al.* Evaluation of the Cortisol-to-ACTH Ratio in Dogs with Hypoadrenocorticism, Dogs with Diseases Mimicking Hypoadrenocorticism and in

Healthy Dogs. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v. 29(5), p. 1335–1341, Sep/Oct 2015.

BOVENS, C. *et al.* Serum Cortisol Concentration as a Screening Test for Hypoadrenocorticism in Dogs. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v. 28(5), p. 1541–1545, Jul 2014.

CHASTIAN, C. B. *et al.* Evaluation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in clinically stressed dogs. **Journal of the american animal hospital association**, v.22 (4), p.435-442, 1986.

CHOI, J. *et al.* Ultrasonographic adrenal gland measurements in clinically normal small breed dogs and comparison with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. **Journal of veterinary medical science**, v.73 (8), p.985-989, 2011.

COHEN, T. A.; FELDMAN, E. C. Comparison of IV and IM formulations of synthetic ACTH for ACTH stimulation tests in healthy dogs. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.26 (2), p.412-414, Mar/April 2012.

DEL MAGNO, S. *et al.* Dynamic computed tomography of the pituitary gland using a single slice scanner in dogs with pituitary-dependent hypercortisolism. **Research in veterinary science**. n.107, p.42-49, Aug 2016.

DOUGLASS, J. P. *et al.* Ultrasonographic adrenal gland measurements in dogs without evidence of adrenal disease. **Veterinary radiology & ultrasound**, v.38 (2), p.124-130, Mar 1997.

EILER, H. Glândulas endócrinas. In: REECE, W. O (org). **Dukes, fisiologia dos animais domésticos**. 12.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

ELAMIN, M. B. *et al.* Accuracy of diagnostic tests for Cushing's Syndrome: a systematic review and metaanalyses. **The journal of clinical endocrinology and metabolism**, USA, v.93 (5), p.1553–1562, Mai 2008.

FELDMAN, E. C. Comparison of ACTH response and dexamethasone suppression as screening tests in canine hyperadrenocorticism. **Journal of the american animal hospital association**, v.182 (5), p.596-510, Mar 1983.

FERNANDEZ, S. **Elastografia acoustic radiation force impulse (ARFI) e doppler na avaliação das glândulas adrenais de cães hípidos**. 2016. 49f. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2016.

FERNADEZ, S. *et al.* B-mode and Doppler ultrasonography of adrenal glands of healthy dogs. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, v.68, n.4, p.907-912, 2016.

FRANK, L. A. *et al.* Serum cortisol concentrations in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism and atypical hyperadrenocorticism. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.29 (1), p.193-199, Jan 2015.

GALAC, S. *et al.* Hyperadrenocorticism in a dog due to ectopic secretion of adrenocorticotrophic hormone. **Domestic animal endocrinology**. v.28 (3), p.338-348, Apr 2005.

_____. ACTH-independent hyperadrenocorticism due to food-dependent hypercortisolemia in a dog: a case report. **The veterinary journal**. v.177 (1), p.141-143, Jul 2008.

_____. Urinary corticoid:creatinine ratios in dogs with pituitary-dependent hypercortisolism during trilostane treatment. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.23 (6), p.1214-1219, Nov/Dec 2009.

GILOR, C.; GRAVES, T. K. Interpretation of laboratory tests for canine Cushing's syndrome. **Topics in companion animal medicine**, v.26 (2), p.98-108, May 2011.

GOY-THOLLOT, I. *et al.* Investigation of the role of aldosterone in hypertension associated with spontaneous pituitary-dependent hyperadrenocorticism in dogs. **Journal of small animal practice**. n.43 (11), p.489-492, Nov 2002.

GOULD, S.M. *et al.* Use of endogenous ACTH concentration and adrenal ultrasonography to distinguish the cause of canine hyperadrenocorticism. **Journal of small animal practice**. v.42. p.113-122, Mar 2001.

GROOTERS, A. M. *et al.* Ultrasonographic parameters of normal canine adrenal size glands: comparison to necropsy findings. **Veterinary radiology & ultrasound**, v.36 (2), p.126-130, Mar 1995.

GUNN, E. *et al.* Hydrocortisone in the management of acute hypoadrenocorticism in dogs: a retrospective series of 30 cases. **Journal of small animal practice**, USA, v. 57 (5), p.227-233, Apr 2016.

HERRTAGE, Michael E., RAMSEY, Ian K. Hiperadrenocorticismo em cães. In: MOONEY, Carmel T.; PETERSON, Mark E. **Manual de endocrinologia em cães e gatos**. 4.ed. São Paulo: Roca, 2015. p. 201-226.

HOFFMAN, J.M. *et al.* Canine hyperadrenocorticism associations with signalment, selected comorbidities and mortality within Morth American veterinary teaching hospitals. **Journal small animal practice**, v.59, p.681-690, May 2018.

HOFFROGGE, S. *et al.* Duration of blood plasma cortisol supression after low-dose dexamethasone supression test in dogs. **Comp Clin Pathol**. v.25, p.299-303, 2016.

JERICÓ, M. M. *et al.* Chromatographic analysis of lipid fractions in healthy dogs and dogs with obesity or hyperadrenocorticism. **Journal of veterinary diagnostic investigation**. v.21 (2), p.203-207, mar 2009.

JOHNSON, C. M. *et al.* Effect of intravenous or perivascular injection of synthetic adrenocorticotrophic hormone on stimulation test results in dogs. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.31(3), p.730-733, May 2017.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Glândulas endócrinas. In: _____. **Histologia básica**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

KAPLAN, A. J. *et al.* Effects of disease on the results of diagnostic tests for use in detecting hyperadrenocorticism in dogs. **Journal of the american veterinary medical association**. v.207 (4), p.445-451, 1995.

KIM, K.-h. *et al.* Clinical relationship between cholestatic disease and pituitary-dependent hyperadrenocorticism in dogs: A Retrospective Case Series. **Journal of the american veterinary medical association**. v.31 (4), p.335-342, 2017.

KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H-G. Glândulas endócrinas (Glandulae endocrinae). In: _____. **Anatomia dos animais domésticos: texto e atlas colorido**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

KOOISTRA, H.S.; GALAC, S. Recent advances in the diagnosis of Cushing's syndrome in dogs. **Topics in animal companion animal medicine**. n.27 (1), p.21-24, Feb 2012.

LABELLE, P. *et al.* Indicators of malignancy of canine adrenocortical tumors: histopathology and proliferation index. **Veterinary Pathology**. n.41 (5). p.490-497, Sep 2004.

MALLMANN, G. M. **Método de dosagem de hormônios**. 2003. 15f. Seminário (Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

MICELI, D. D. *et al.* Concurrent hyperadrenocorticism and diabetes mellitus in dogs. **Research in veterinary science**. V.115, p.425-431, Dec 2017.

MONROE, W. E. Concentrations of noncortisol adrenal steroids in response to ACTH in dogs with adrenal-dependent hyperadrenocorticism, pituitary-dependent hyperadrenocorticism, and nonadrenal illness. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.26 (4), p. 945-952, Jul/Aug 2012.

MUELLER, C. *et al.* Low-dose dexamethasone test with "inverse" results: a possible new pattern of cortisol response. **The veterinary record**. v.159 (15), p.489-491, Oct 2006.

NELSON, Richard. Doenças da adrenal. In: COUTO, Guillermo; NELSON, Richard. **Medicina interna de pequenos animais**. 5.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. p. 824-844.

NIVY, R. *et al.* The interpretive contribution of the baseline serum cortisol concentration of the ACTH stimulation in the diagnosis of pituitary dependent hyperadrenocorticism in dogs. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.32 (6), p.1897-1902, Nov/Dec 2018.

O'NEILL, D.G. *et al.* Epidemiology of hyperadrenocorticism among 210,824 dogs attending primary-care veterinary practice in the UK from 2009 to 2014. **Journal of small animal practice**, v.57, p.365-373, Jul 2016.

PAGANI, E. *et al.* Ultrasonographic features of adrenal gland lesions in dogs can aid in diagnosis. **BMC Veterinary Research**, 12:267, p. 1-9, Nov 2016.

PARK, F.M *et al.* Hypercoagulability and ACTH-dependent hyperadrenocorticism in dogs. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.27 (5), p.1136-1142, Sep/Oct 2013.

PETERSON, M.E. Diagnosis of hyperadrenocorticism in dogs. **Clinical techniques in small animals practice**. USA, v.22 (1), p.2-11, Feb 2007.

PINZON, Y. Z. **Hiperadrenocorticismo em cães: principais sinais clínicos, alterações na patologia clínica e doenças concomitantes mais comuns - estudo retrospectivo**. 2009. 51f. Monografia (Especialização em Análises Clínicas Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de veterinária Veterinárias, Porto Alegre, 2009.

RAMSEY, Ian; RISTIC, Jelena. Diagnosis of canine hyperadrenocorticism. **In practice**, v. 28 (9), p.446-454, Sep 2007.

REIMERS, T. J. *et al.* Validation of radioimmunoassay for triiodothyronine, thyroxine, and hydrocortisone (cortisol) in canine, feline, and equine sera. **American journal veterinary research**, USA, v.42, p.2016-2021, 1981.

_____. Validation and application of solid-phase chemiluminescent immunoassays for diagnosis of endocrine diseases in animals. **Comparative haematology international**, London, v.6, p.170-175, 1996.

REUSCH, C. E.; FELDMAN, E.C. Canine hyperadrenocorticism due to adrenocortical neoplasia: pretreatment evaluation of 41 dogs. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v. 5(1), p. 3-10, Feb 1991.

RISTIC, J. M. E. *et al.* The use of 17-hydroxyprogesterone in the diagnosis on canine hyperadrenocorticism. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.16, p.433-439, 2002.

RODRIGUEZ PIÑEIRO, M.I. *et al.* Accuracy of na Adrenocorticotropic hormone (ACTH) immunoluminometric assay for differentiating ACTH-dependent from ACTH-independent hyperadrenocorticism in dogs. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.23 (4), p.850-855, Jul/Aug 2009.

ROSE, L. *et al.* Effect of canine hyperadrenocorticism on coagulation parameters. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.27 (1), p.207-211, Jan/Feb 2013.

RUSSEL, N.J. *et al.* Comparison of radioimmunoassay and chemiluminescent assay methods to estimate canine blood cortisol concentrations. **Australian veterinary journal**. v.85 (12), p.487-94, Dez 2007.

SANDERS, K. *et al.* New insights in the functional zonation of the canine adrenal cortex. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.30 (3), p.741-750, May/Jun 2016.

_____. Treating canine Cushing's syndrome: current options and future. **The veterinary journal**. v.241, p.42-51, Nov 2018.

SCOTT-MONCRIEFF, J. C. *et al.* Validation of a chemiluminescent enzyme immunometric assay for plasma adrenocorticotrop hormone in the dog. **Veterinary clinical pathology**, v.32, p.180-187, Dez 2003.

SIEBER-RUCKSTUHL, N. S. *et al.* Cortisol response in health and diseased dogs after stimulation with a depot formulation of synthetic ACTH. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.29 (6), p.1541-1546, Nov/Dec 2015.

SMETS, P. M. Long-term follow-up of renal function in dogs after treatment for ACTH-dependent hyperadrenocorticism. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.26 (3), p. 565-574, May/Jun 2012.

SOLTER, P. F. Assessment of corticosteroid-induced alkaline phosphatase isoenzyme as a screening test for hyperadrenocorticism in dogs. **Journal of the American veterinary medical association**. v.203 (4), p.534-538, Aug 1993.

SOULSBY, S.N. *et al.* Ultrasonographic evaluation of adreal gland size compared to body weight in normal dogs. **Veterinary radiology & ultrasound**. v.56 (3), p.317-326, May/Jun 2015.

VAN DER VLUGT-MEIJER, R. H. *et al.* Dynamic computed tomography of the pituitary gland in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.17 (6), p.773-780, Nov/Dec 2003.

VAN LIEW, C.H. *et al.* Comparison os results of adrenocorticotrop hormone stimulation and low-dose dexamethasone suppression tests with necropsy findings in dogs: 81 cases (1985-1995). **Journal of American veterinary medical association**. v.211, p.322-325, 1997.

ZUR, G.; WHITE, S.D. Hyperadrenocorticism in 10 dogs with skin lesions as the only presenting clinical signs. **Journal of American animal hospital association**. v.47 (6), p.419-427, 2011.

WAKAYAMA, J. A. *et al.* A retrospective study of dogs with atypical hypoadrenocorticism: a diagnostic cut-off or continuum? **Journal of small animal practice**, USA, p. 1-7, Nov 2017.

WHITE, S. D. *et al.* Cutaneous markers of canine hyperadrenocorticism. **Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian**, v.11, p.446-465, 1989.

WENGER-RIGGENBACH *et al.* Salivary cortisol concentrations in healthy dogs and dogs with hypercortisolism. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.24 (3), p.551-556, May/Jun 2010.

CAPÍTULO 2 – ARTIGO: HIPERADRENOCORTICISMO CANINO: ESTUDO RETROSPECTIVO DE 144 CASOS

RESUMO

O hiperadrenocorticismo (HAC) espontâneo é uma das endocrinopatias mais frequentes na espécie canina e apresenta diversas manifestações clínicas e alterações laboratoriais. O tipo hipófise-dependente (HHD, ACTH-dependente) é a forma mais comum e resulta da secreção excessiva de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) por um adenoma hipofisário. Com menor ocorrência, as neoplasias adrenais são responsáveis pela produção excessiva de cortisol e classificam o HAC como adrenal-dependente (HAD, ACTH-independente). Foi avaliada uma população amostral de 144 cães diagnosticados com HAC, atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina (HV-UEL) e clínica Espaço Vida Veterinária entre 2013 e 2018 com o objetivo de contribuir com dados sobre a doença. Foram calculadas a sensibilidade e especificidade dos testes endócrinos de supressão com baixa dose de dexametasona e estimulação com ACTH e a prevalência do HAC. Analisou-se a resenha, exames laboratoriais e ultrassom abdominal a fim de estabelecer os aspectos epidemiológicos, as alterações hematológicas e bioquímicas mais frequentes, assim como a origem do HAC (hipofisária ou adrenal). Ainda foram avaliados os valores de cortisol após 4 horas e 8 horas no teste de supressão com baixa dose de dexametasona para avaliação dos padrões de supressão. Os resultados obtidos no trabalho mostraram que o teste de supressão com baixa dose de dexametasona é mais sensível para o diagnóstico e que os tumores hipofisários foram a causa mais frequente de HAC nos cães. Dentre os exames laboratoriais, o aumento da fosfatase alcalina, dos triglicérides e dos leucócitos foram as alterações mais relevantes. Logo, conclui-se que o teste de supressão com baixa dose de dexametasona deve ser encorajado como primeiro teste endócrino de triagem para diagnosticar o HAC. Além disso, os dados epidemiológicos e laboratoriais forneceram informações que reforçam os aspectos característicos da doença.

Palavras-chave: Glândula adrenal. Hipófise. Hiper cortisolismo. ACTH. Diagnóstico.

ABSTRACT

Spontaneous hyperadrenocorticism (HAC) is one of the most frequent endocrinopathies in canine species and has several clinical manifestations and laboratory changes. The pituitary-dependent type (PDH, ACTH-dependent) is the most common form and results from the excessive secretion of adrenocorticotrophic hormone (ACTH) by a pituitary adenoma. Adrenal neoplasms, which are less current are responsible for the excessive production of cortisol and classify HAC as adrenal-dependent (ADH, ACTH-independent). A sample population of 144 dogs diagnosed with HAC was evaluated with the aim to contribute with data on the disease. The animals were seen at the Veterinary Hospital of the State University of Londrina (HV-UEL) and Espaço Vida Veterinária clinic between 2013 and 2018. The sensitivity and specificity of endocrine suppression tests with low dose of dexamethasone and ACTH stimulation and the prevalence of HAC were calculated. The information obtained at the triage (weight, age, gender, breed), laboratory exams and abdominal ultrasound were analyzed in order to establish the epidemiological aspects, the most frequent hematological and biochemical changes, as well as the origin of HAC (pituitary or adrenal). Cortisol concentrations were evaluated after 4 hours and 8 hours during the suppression test with low dose of dexamethasone to assess the suppression patterns. The results obtained in the study showed that the suppression test with low dose of dexamethasone is more sensitive for diagnosis and that pituitary tumors were the most frequent cause of HAC in dogs. Amongst laboratory tests, the increase in alkaline phosphatase, triglycerides and leukocytes were the one that showed most relevant changes. Therefore, it is concluded that the suppression test with low dose of dexamethasone should be encouraged as the first endocrine screening test to diagnose HAC. In addition, epidemiological and laboratory data provided information that reinforces the characteristic aspects of the disease.

Key-words: Adrenal gland. Hypophysis. Hypercortisolism. ACTH. Diagnosis.

3.1 INTRODUÇÃO

O hiperadrenocorticismo (HAC) ou Síndrome de Cushing é uma das endocrinopatias mais comuns em cães. Nos casos espontâneos da doença, o tipo hipófise-dependente é a forma mais comum e resulta da secreção excessiva de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) por um adenoma hipofisário, enquanto o tipo adrenal-dependente corresponde à produção exacerbada de cortisol pelo córtex adrenal, induzida por uma neoplasia na glândula (PETERSON, 2007; NIVY *et al.*, 2018). O HAC iatrogênico na maioria dos casos ocorre devido à administração prolongada de glicocorticoides para tratamento de outras enfermidades, seja por via tópica ou sistêmica (KOOISTRA; GALAC, 2012).

A suspeita de HAC baseia-se no histórico, manifestações clínicas e exame físico. Entretanto, sua confirmação deve ser baseada em exames laboratoriais, exames de imagem e testes hormonais de supressão em baixa dose de dexametasona (SBDD) e estimulação pelo ACTH (BEHREND *et al.*, 2013; GILOR; GRAVES, 2011). Exames hematológico, bioquímico completo e urinálise devem ser realizados para auxiliar no diagnóstico de HAC e diferenciar outras possíveis doenças. Dentre os exames de imagem, o ultrassom abdominal e a tomografia computadorizada são os mais utilizados na avaliação das glândulas adrenais e hipófise. (PETERSON, 2007; GILOR; GRAVES, 2011; BEHREND *et al.*, 2013).

Os sinais clínicos geralmente são sistêmicos e incluem polifagia, poliúria, polidipsia, dermatopatias, distensão abdominal e fraqueza muscular. A hipercortisolemia ainda pode levar ao desenvolvimento de complicações potencialmente graves como cistite e pielonefrite, diabetes melito, hipertensão arterial sistêmica, degeneração retiniana aguda (SARDS), ruptura de ligamento cruzado cranial e tromboembolismo (ZUR; WHITE, 2011; BEHREND, 2015; BENNAIM *et al.*, 2018).

O teste de supressão em baixa dose de dexametasona atua suprimindo a secreção de ACTH pela hipófise e conseqüentemente os níveis de cortisol plasmático (HOFFROGGE *et al.*, 2016). Atualmente é recomendado como teste endócrino de eleição e considerado o mais seguro devido a sua alta sensibilidade (85-100%) e acurácia (81,3%), no entanto, ocasionalmente ocorrem

resultados falso-positivos (BEHREND *et al.*, 2013; O'NEILL *et al.*, 2016; BENNAIM *et al.*, 2018).

O teste de estimulação pelo ACTH tem sido reconhecido como método confiável para avaliar a reserva funcional do córtex adrenal, maximizando sua secreção de cortisol (GRECO, 2007; ALDRIGDE *et al.*, 2016). É considerado o melhor para diferenciar entre hiperadrenocorticismos espontâneo e iatrogênico e monitorar terapias com mitotano e trilostano, além de ser o padrão-ouro no diagnóstico do hipoadrenocorticismos (SIEBER-RUCKSTUHL *et al.*, 2015). A desvantagem é a baixa sensibilidade, resultando em mais casos falso-negativos (BEHREND *et al.*, 2013; BENNAIM *et al.*, 2018).

Diante das últimas discussões acerca do HAC, nota-se a falta de consenso a respeito de qual é o teste hormonal mais confiável na identificação da doença enquanto há inúmeras pesquisas a respeito dos protocolos de tratamentos.

O objetivo geral deste trabalho foi realizar um estudo retrospectivo a partir de 144 cães diagnosticados com hiperadrenocorticismos, atendidos entre 2013 e 2018 no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina (HV-UEL) e na Clínica Espaço Vida Veterinária, em Londrina-PR. Os objetivos específicos foram avaliar qual foi o melhor teste endócrino para diagnosticar o hiperadrenocorticismos, estabelecer os aspectos epidemiológicos, as alterações mais frequentes nos exames hematológicos, bioquímicos, urinálise e pressão arterial, assim como identificar a origem do HAC (hipofisária ou adrenal). Ainda foram analisados os valores de cortisol após 4 horas e 8 horas no teste de SBDD para avaliação dos padrões de supressão.

As hipóteses são de que o teste de SBDD apresenta maior sensibilidade e o teste de estimulação com ACTH maior especificidade. Também foi hipotetizado que cães castrados, fêmeas, com idade média de dez anos são mais acometidos pelo HAC.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi aprovada pelo comitê de ética da Universidade Estadual de Londrina (protocolo nº51.2019.18). Foram avaliados de forma retrospectiva os prontuários de animais atendidos no HV-UEL e na Clínica Espaço Vida Veterinária, na cidade de Londrina/PR, de 2013 a 2018. Ao todo, foram

incluídos no estudo 144 cães com diagnóstico de HAC, resenha, anamnese, resultados de exames laboratoriais, ultrassom abdominal e testes endócrinos de SBDD e estimulação com ACTH. Foram incluídos ainda 16 cães com doenças não-adrenais submetidos aos testes de SBDD e de estimulação pelo ACTH com resultados dos valores normalidade, com o objetivo de analisar a especificidade dos testes hormonais. Os cães que possuíam registro de tratamento com glicocorticoides, fenobarbital, cetoconazol ou progestágenos foram excluídos da pesquisa a fim de evitar possíveis interferências na análise.

3.2.1 Aspectos Epidemiológicos

Para estabelecer quais foram as principais características encontradas na população amostral, foram analisados parâmetros como raça, peso (Kg), sexo (macho ou fêmea) e *status* reprodutivo (castrado e não-castrado). Também foi avaliada a prevalência do HAC nos cães em estudo.

3.2.2 Exames Laboratoriais

Para avaliar as principais alterações laboratoriais, foram utilizados resultados de hemograma (eritrograma e leucograma), perfil bioquímico sérico (ureia, creatinina, glicose, alanina aminotransferase [ALT], fosfatase alcalina [FA], gama glutamiltransferase [GGT], colesterol, triglicérides, cálcio, albumina, proteínas totais [PT], fósforo, potássio e sódio) e urinálise (densidade, proteína e relação proteína:creatinina urinária [UPC]).

As análises foram realizadas no laboratório de Patologia Clínica do HV-UEL (BC-2800Vet - Mindray®, Dimension EXL200 - Siemens®) e na clínica Espaço Vida Veterinária (ProCyte DX, Catalyst One - Idexx®). Os valores de referência foram fornecidos pelos laboratórios (KANEKO *et al.*, 2008; SCHALM *et al.*, 2003), exceto pelos valores de triglicérides e colesterol, que neste trabalho foram separados como leve, moderado e grave (JOHNSON, 2005).

A pressão arterial sistólica foi aferida no momento do atendimento por método não invasivo (Doppler®). O valor atribuído para cães considerados hipertensos foi ≥ 150 mmHg (BROWN *et al.*, 2007).

3.2.3 Avaliação Adrenal

Os 144 cães foram submetidos ao exame de ultrassonografia abdominal em modo-B com avaliação de ambas as adrenais. O exame foi realizado em modo-B e em alguns casos o Doppler foi utilizado para avaliação de fluxo sanguíneo e os grandes vasos que vascularizam as adrenais. O ultrassonografista visibilizou características como tamanho (largura e comprimento dos polos cranial e caudal), morfologia (contornos e margens), ecotextura do parênquima (homogênea ou heterogênea), ecogenicidade (hipoecóico, hiperecoica ou misto). O valor de 0,54 cm foi adotado como medida limítrofe para tamanho do polo caudal das adrenais e valores acima deste foram considerados como hiperplasia adrenal (SOULSBY *et al.*, 2015).

A partir dos resultados obtidos no ultrassom, as medidas das adrenais foram separadas em três grupos. O primeiro grupo classificado como adrenais normais (G1), corresponde cães que possuíam ambas as adrenais com valores inferiores ao valor de referência. O segundo grupo foi classificado como aumento unilateral (G2), no qual uma das adrenais possuía valor 50% maior que a glândula contralateral e acima do valor de referência, suspeitando-se de tumor adrenal e HAC adrenal-dependente (HAD). No terceiro grupo classificado como aumento bilateral (G3), as duas adrenais apresentavam valores acima do limite estabelecido e simetria, sugestivo de HAC de origem hipofisária (HPD).

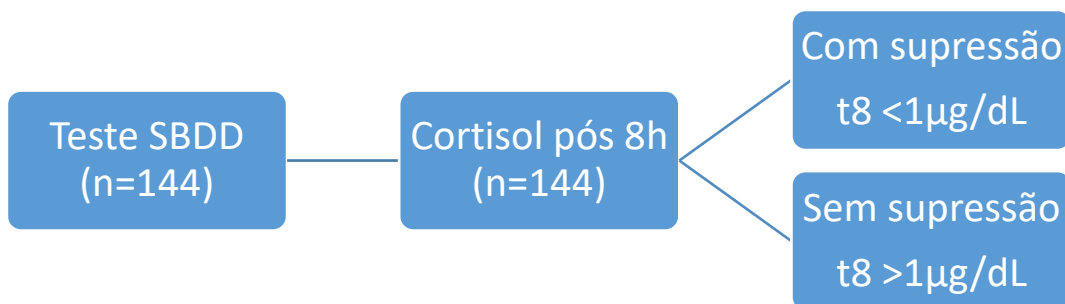
3.2.4 Testes endócrinos

O teste de supressão com baixa dose de dexametasona (SBBD) foi realizado nos 144 cães. O protocolo foi a administração de 0,01mg/kg de dexametasona por via intravenosa, com coletas de amostra sangue realizadas antes (t0, n=144), 4h (t4, n=120) e 8h (t8, n=144) após a aplicação da dexametasona para a mensuração do cortisol sérico. As amostras foram coletadas em tubos sem anticoagulante e com retrator de coágulo, centrifugadas e o soro congelado para posterior envio ao laboratório. As análises foram realizadas pelos laboratórios Provet® (Wizard 2, radioimunoensaio) e Idexx® (Immulite, quimioluminescência). Como padronização para este trabalho, foram adotados os valores de referência de

cortisol $\leq 1\mu\text{g/dL}$ (com supressão) e $>1\mu\text{g/dL}$ (sem supressão). A faixa de referência de 1 - 1,4 $\mu\text{g/dL}$ atribuída como sugestiva (NELSON, 2015) foi descartada, pois todos os animais possuíam sinais clínicos e foram confirmados para HAC.

Os 144 cães com a mensuração de cortisol após 8h da dexametasona foram categorizados como com supressão ($t8 < 1\mu\text{g/dL}$) e sem supressão ($t8 > 1\mu\text{g/dL}$) (figura 1).

Figura 1. Categorização dos 144 cães por meio da avaliação do cortisol sérico após 8h da aplicação com baixa dose de dexametasona.

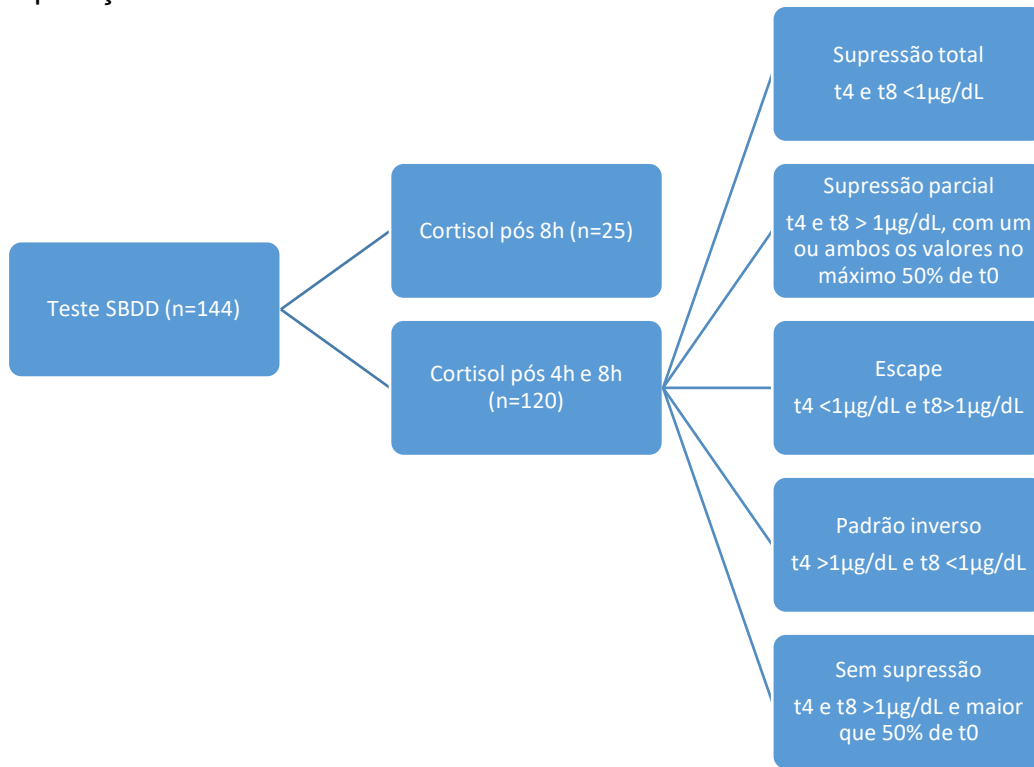


SBDD – Supressão em baixa dose de dexametasona.

Fonte: o próprio autor (2019).

A fim de avaliar as concentrações de cortisol dos cães submetidos ao teste de SBDD, foram categorizados cinco padrões: supressão total ($t4$ e $t8 < 1\mu\text{g/dL}$), supressão parcial ($t4$ e $t8 > 1\mu\text{g/dL}$, com um ou ambos os valores no máximo 50% de $t0$), escape ($t4 < 1\mu\text{g/dL}$ e $t8 > 1\mu\text{g/dL}$), padrão inverso ($t4 > 1\mu\text{g/dL}$ e $t8 < 1\mu\text{g/dL}$) e sem supressão ($t4$ e $t8 > 1\mu\text{g/dL}$ e maior que 50% de $t0$), sendo aplicados apenas nos animais que tiveram a mensuração de cortisol pós 4h e 8h da dexametasona (BENNAIM *et al.*, 2018) (figura 2).

Figura 2. Padrões definidos para avaliação da mensuração do cortisol após 4h e 8h da aplicação da dexametasona.

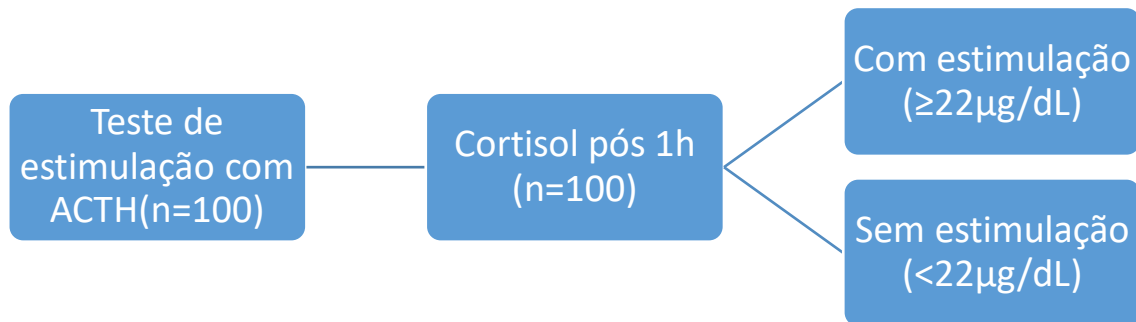


SBDD - Supressão em baixa dose de dexametasona.

Fonte: o próprio autor (2019).

O teste de estimulação com ACTH foi realizado em 100 dos 144 cães. Foi administrado 5 µg/kg de ACTH sintético (Synacthen®) por via intravenosa e as amostras foram coletadas antes e 1 hora após a administração do hormônio, em tubos sem anticoagulante e com retrator de coágulo, centrifugadas e o soro congelado para posterior envio ao laboratório. As análises foram realizadas pelos laboratórios Provet® (Wizard 2, radioimunoensaio) e Idexx® (Immulite, quimioluminescência). Os valores de referência atribuídos foram de < 22µg/dL (sem estimulação) e ≥ 22µg/dL (com estimulação), padronizados pelos laboratórios referenciados (figura 3).

Figura 3. Categorização dos 100 cães por meio da avaliação do cortisol após 1 hora da estimulação com o ACTH.



ACTH = Hôrmônio adrenocorticotrófico.

Fonte: o próprio autor (2019).

O melhor teste para diagnosticar o HAC foi determinado por meio da sensibilidade, calculadas a partir dos resultados dos 144 cães submetidos ao teste de SBDD e dos 100 cães submetidos ao teste de estimulação pelo ACTH. Foram incluídos 16 cães com doenças não-adrenais submetidos aos testes de SBDD e estimulação pelo ACTH a fim de estabelecer a especificidade.

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As concentrações de cortisol foram analisadas pelo modelo linear generalizado (GLM), incluindo o tempo, a raça, o sexo, o *status* reprodutivo (castrado ou não castrado), a idade e o peso como efeitos do modelo estatístico. O tempo foi considerado como efeito aleatório, sendo analisado como medida repetida no tempo por ANOVA.

A raça, o sexo e o *status* reprodutivo foram considerados como efeitos fixos e a idade e o peso como covariáveis do modelo. Na presença de um efeito significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. A frequência de ocorrência entre as raças, o sexo, o *status* reprodutivo e as diferentes categorias de idade e peso foram analisadas pelo Teste de Qui-quadrado ou pelo Teste exato de Fisher. A sensibilidade e a especificidade dos testes, bem como a frequência de ocorrência das diferentes fontes de variação foram calculadas no programa Epi Info™ versão 7.2.3.0.

As análises das concentrações hormonais, bem como a estatística descritiva de outros dados apresentados no estudo foram realizadas no programa estatístico Minitab®, versão 18.1. Para análise descritiva, os dados quantitativos

estão apresentados como média (M) e erro padrão (SE) e os dados qualitativos como porcentagem (%). Em todas as análises adotou-se um valor de $p \leq 0,05$ para ser considerado como significativo.

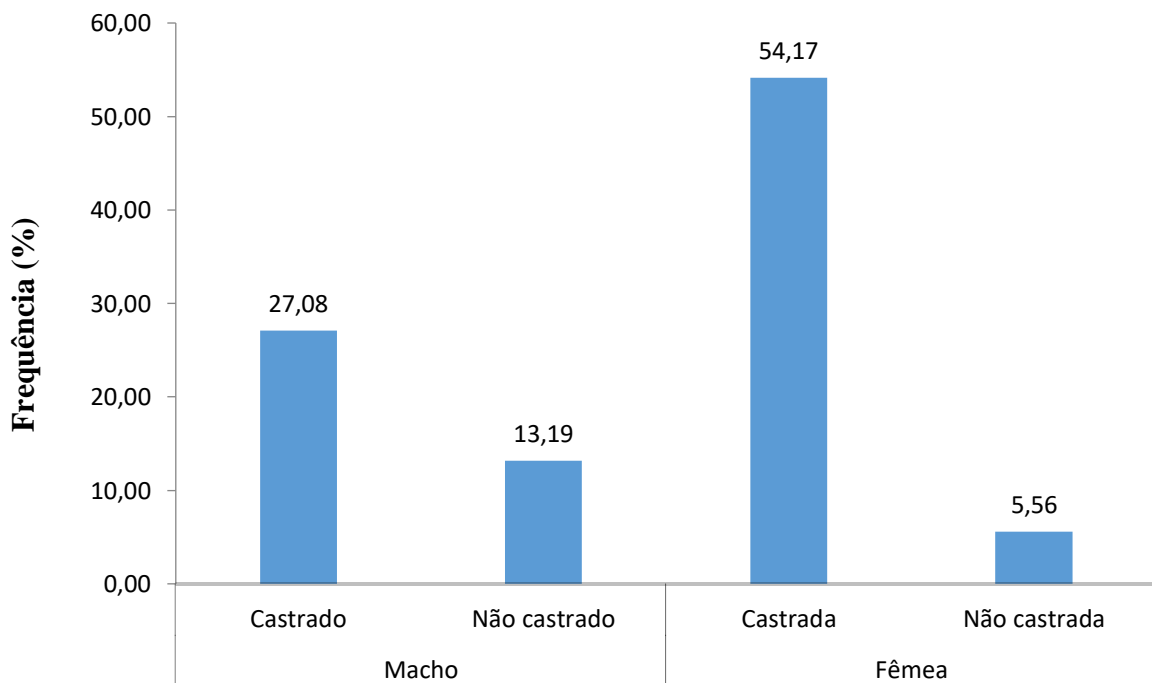
3.4 RESULTADOS

3.4.1 Epidemiologia

A prevalência do HAC nos cães do estudo foi de 0,4%. Dos 144 cães com HAC, as fêmeas castradas foram mais frequentes ($p < 0,0001$), sendo 90,6% ($n=78$) do total de 86 cães. Os machos corresponderam a 58 cães (40,3%), dos quais 39 eram castrados (67,2%) (figura 4).

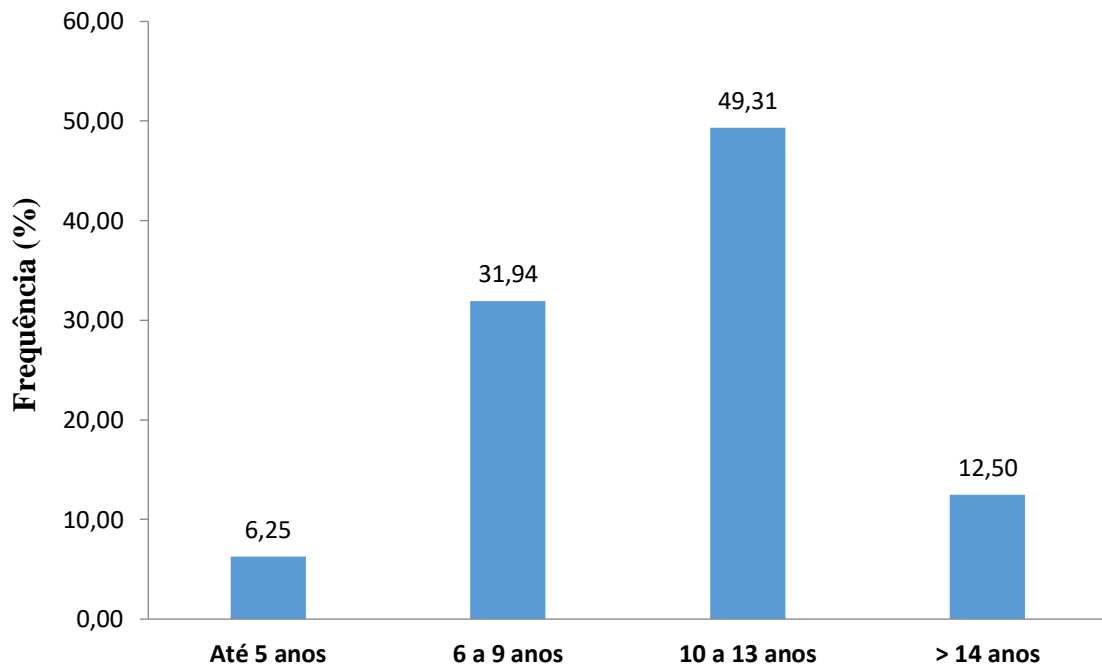
A média de idade foi de 10,3 anos ($\pm 2,93$), com a idade mínima de três anos e máxima de 18 anos e a faixa etária mais frequente de 10 a 13 anos ($p < 0,0001$) (figura 5).

Figura 4. Frequência relativa do *status* reprodutivo dos 144 pacientes com hiperadrenocorticismo de acordo com o sexo estudados no período de 2013 a 2018.



Fonte: o próprio autor (2019).

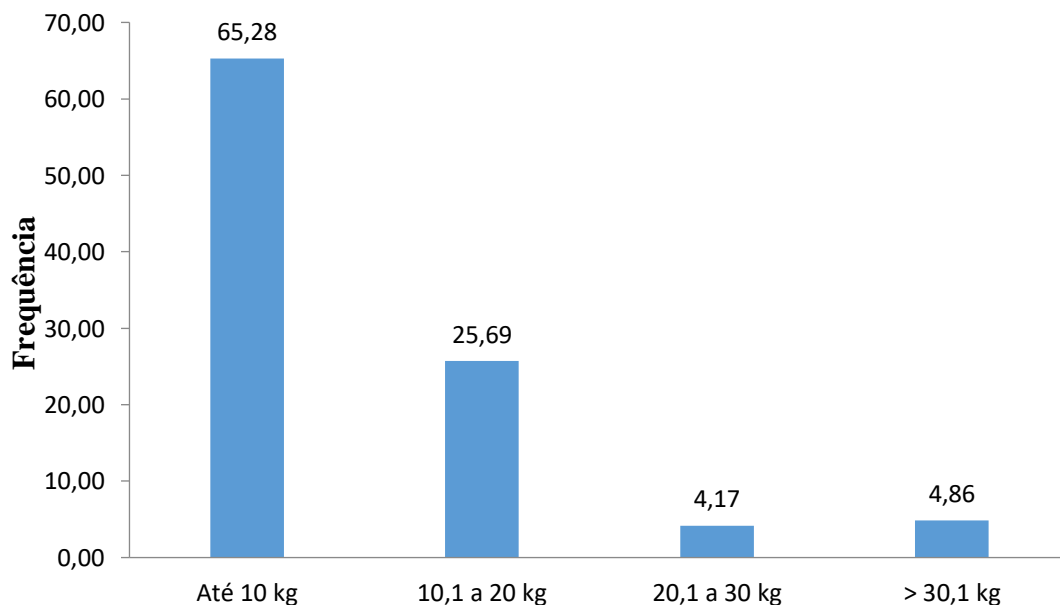
Figura 5. Faixa etária dos 144 cães com hiperadrenocorticismo estudados no período de 2013 a 2018.



Fonte: o próprio autor (2019).

A média de peso foi de 10,6 kg ($\pm 8,01$), com variação de peso mínimo de 2 kg a peso máximo de 47,1 kg, sendo os cães com peso até 10 kg os mais frequentes ($p < 0,0001$) (figura 6).

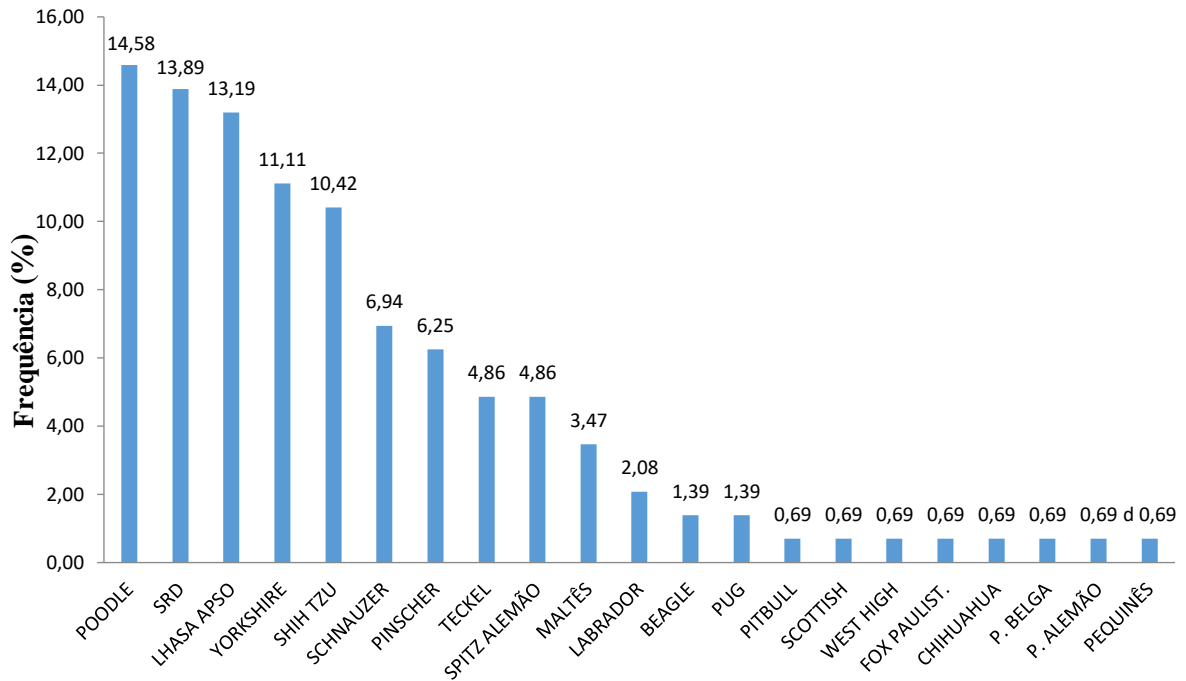
Figura 6. Variação de peso nos 144 pacientes com hiperadrenocorticismo estudados entre 2013 e 2018.



Fonte: o próprio autor (2019).

Vinte raças foram categorizadas e os demais cães foram considerados como sem raça definida (SRD) (figura 7).

Figura 7. Frequência relativa de todas as raças com hiperadrenocorticismo presentes no estudo.

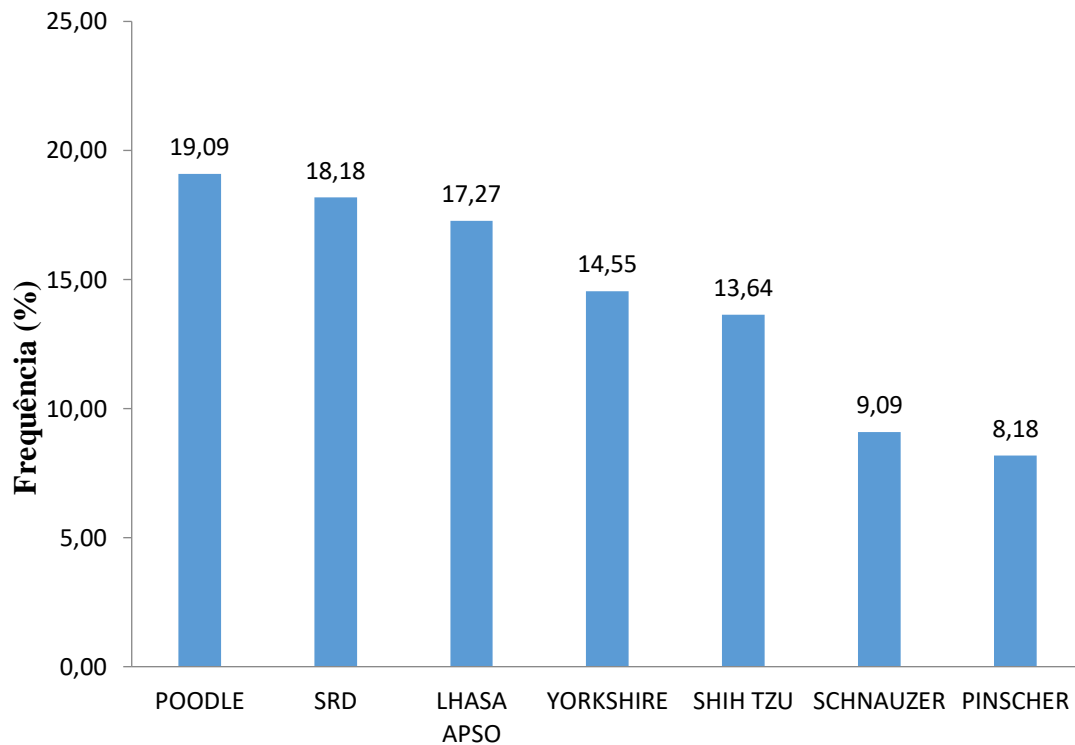


P. = Pastor.

Fonte: o próprio autor (2019).

Na população avaliada, os cães Poodle (14,6%), SRD (13,89%) e Lhasa apso (13,19%) foram os mais frequentes, seguidas pelo Yorkshire (11,11%), Shih-tzu (10,42%), Schnauzer (6,94%) e Pinscher (6,25%) ($p < 0,05$ para todas as raças) (figura 8).

Figura 8. Frequência relativa dos principais padrões raciais com hiperadrenocorticismo presentes no estudo.



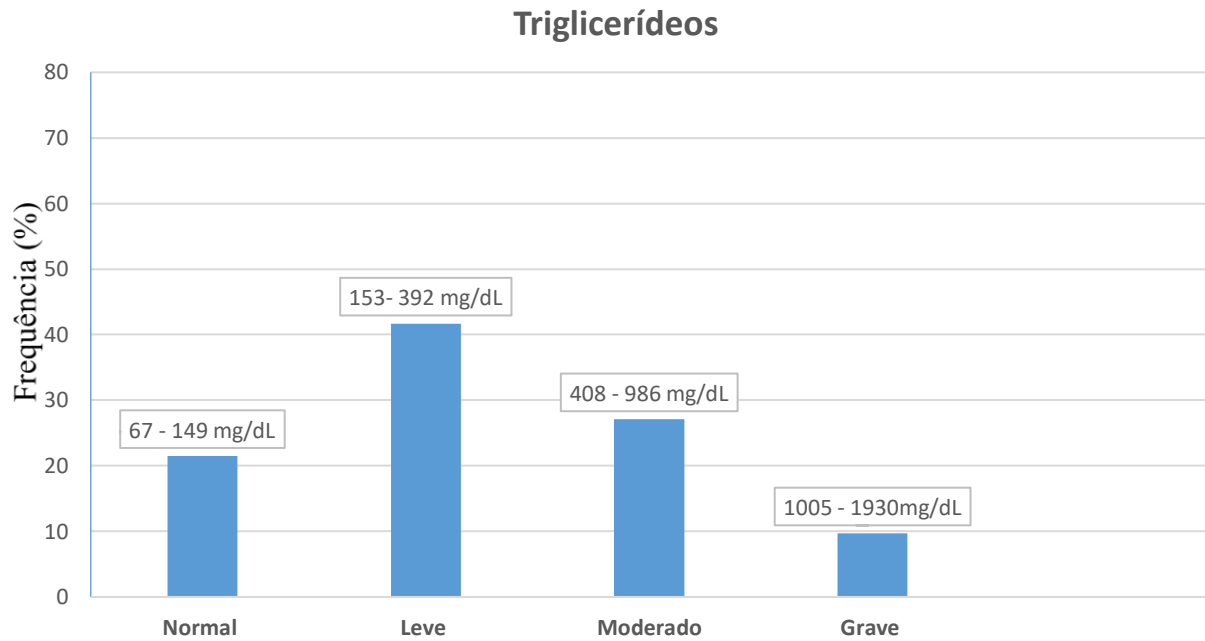
Fonte: o próprio autor (2019).

3.4.2 Exames Laboratoriais

Na bioquímica sérica, o aumento de triglicerídeos foi identificado em 78,5% (113/144) cães, sendo que 60 (53,1%) apresentaram leve aumento, 39 (34,5%) moderado aumento e 14 (12,4%) grave aumento (figura 9).

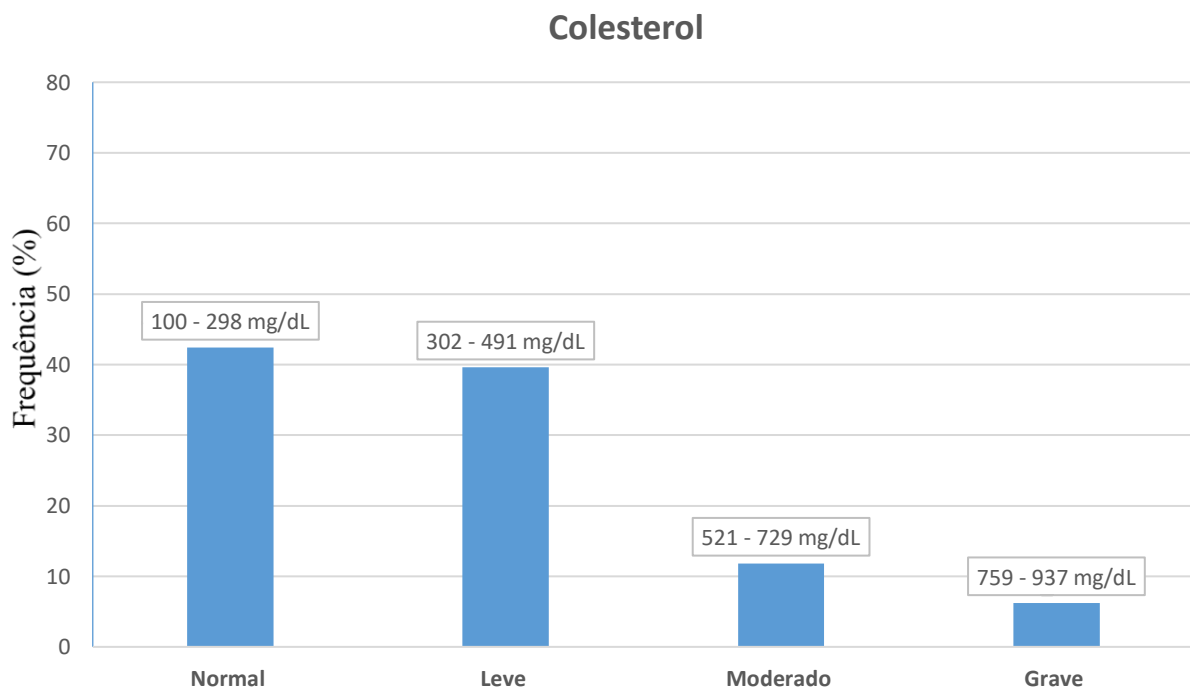
O colesterol esteve aumentado em 57,8% (83/144) dos cães. Destes, 57 (68,6%) apresentaram leve aumento, 17 (20,5%) moderado aumento e nove (10,9%) grave aumento (figura 10).

Figura 9. Alterações na concentração de triglicerídeos observadas nos 144 cães com hiperadrenocorticismo estudados entre 2013 e 2018.



Fonte: o próprio autor (2019).

Figura 10. Alterações na concentração de colesterol observadas nos 144 cães com hiperadrenocorticismo estudados entre 2013 e 2018.



Fonte: o próprio autor (2019).

Nas enzimas hepáticas, a FA esteve aumentada em 95,8% dos cães (138/144), a ALT em 70,1% (101/144) e GGT em 58% (83/143). A hiperglicemia esteve presente em 60,4% (87/144) dos pacientes.

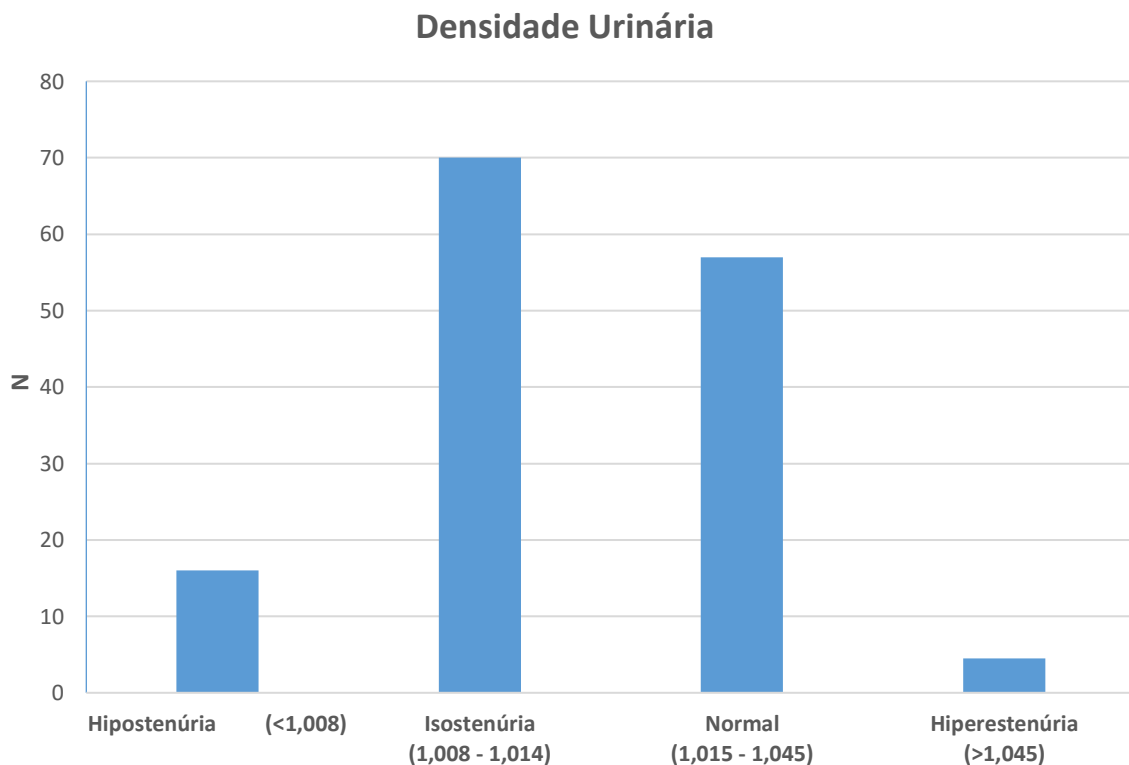
O aumento de ureia ocorreu em 19,4% (28/144) dos cães, enquanto 18% (26/144) apresentaram valores abaixo da referência. O aumento da creatinina correspondeu a 16,6% (24/144).

Em 73,6% (106/144) dos cães, a proteína total estava acima do valor de referência e a albumina em 59,8% (86/144).

Nos eletrólitos, a hipercalcemia ocorreu em 20,9% (19/91) dos cães e a hipocalcemia em 2,2% (2/91). A hipernatremia esteve presente em 19,8% (31/104) dos casos, a hipocalemia 65% (67/103) e hiperfosfatemia em 7,8% (7/89).

Em 59,7% (86/144) dos cães com diagnóstico de HAC possuíam isostenúria ou hipostenúria (figura 11). A proteinúria prevaleceu em 49,6% (70/141) dos pacientes e o aumento da UPC ocorreu em 32,5% (40/123) (tabela 1).

Figura 11. Alterações observadas na densidade urinária dos 144 cães com hiperadrenocorticismismo estudados entre 2013 e 2018.



N = número de cães.

Fonte: o próprio autor (2019).

Tabela 1. Alterações laboratoriais observadas nos 144 cães com diagnóstico de hiperadrenocorticismo estudados entre 2013 e 2018.

		N	INTERVALO	MÉDIA ± DP	ENTRE O VR (%)	ABAIXO DO VR (%)	ACIMA DO VR (%)	REFERÊNCIA
Bioquímico	Glicose	144	85 – 682	179,26 (±115,98)	39,6	0	60,4	65 – 118 mg/dL
	FA	144	38 – 7044	879,14 (±901,39)	4,2	0	95,8	20 – 156 U/L
	GGT	143	2,4 – 100	12,07 (±12,94)	42	0	58	1,2 – 6,4 U/L
	ALT	144	12 – 691	209,96 (±148,82)	29,2	0,7	70,1	21 – 102 U/L
	Uréia	142	5 – 194	44,51 (±37,61)	62	18,3	19,7	21 – 60 mg/dL
	Creatinina	144	0,19 – 4,9	1,16 (±0,82)	77,1	6,3	16,6	0,5 – 1,5 mg/dL
	Cálcio	91	6,9 – 13	10,56 (±1,04)	76,9	2,2	20,9	9 – 11,3 mg/dL
	Albumina	144	2,5 – 4,3	3,49 (±0,35)	39,6	0,7	59,7	2,6 – 3,3 g/dL
	PT	144	5,2 – 9,6	7,60 (±0,86)	25	1,4	73,6	5,4 – 7,1 g/dL
	Potássio	103	3,05 – 5,8	4,21 (±0,64)	30,1	65	4,9	4,37 – 5,35 mEq/L
	Fósforo	89	3,18 – 7,9	5,20 (±0,77)	92,1	0	7,9	2,6 – 6,2 mg/dL
	Sódio	104	138 – 159	149,52 (±5,81)	64,4	5,8	29,8	141 – 152 mEq/L
	URINÁLISE	Densidade urinária	144	1004 – 1055	1014,72 (±8,12)	39,6	59,7	0,7
Proteína urinária		141	NA*	NA*	50,4	NA*	49,6	NA*
UPC		123	0,1 – 3,26	0,50 (±0,50)	67,5	NA*	32,5	<0,5

FA = fosfatase alcalina; GGT = gama glutamil transferase; ALT = alanina aminotransferase; PT = proteína total; UPC = relação proteína:creatinina urinária; DP = desvio padrão; *NA = não se aplica, VR = valor de referência.

Fonte: o próprio autor (2019).

Nos parâmetros hematológicos, a presença de trombocitose esteve presente em 63,2% (91/144) e a policitemia em 38,2% (55/144) dos casos. No leucograma, a leucocitose foi observada em 82,5% (80/97) dos cães, a neutrofilia em 83,3% (80/96), a linfopenia em 35,4% (51/144), eosinopenia em 90,5% (76/84) e monocitose em 54,3% (50/92) dos casos (tabela 2).

Tabela 2. Alterações hematológicas observadas nos cães com hiperadrenocorticismos estudados entre 2013 e 2018.

	N	ENTRE VR (%)	ACIMA DO VR (%)	ABAIXO DO VR (%)	VR
Hematócrito	144	52,8	38,2	9	37-55%
Leucócitos	97	17,5	82,5	0	6-17x10 ³ µl
Neutrófilos	96	16,7	83,3	0	3000-11500 µl
Monócitos	92	26,1	54,3	19,6	150-1350 µl
Eosinófilos	84	9,5	0	90,5	100-1250 µl
Linfócitos	144	64,6	0	35,4	1000-4800 µl
Plaquetas	144	36,1	63,2	0,7	200.000-500.000/mm ³

N = número de cães; VR = valor de referência.

Fonte: o próprio autor (2019).

Os valores de pressão arterial sistólica variaram de 112 a 250mmHg e a hipertensão arterial foi observada em 54,9% (78/142) dos cães, média de 160mmHg ($\pm 30,5$).

3.4.3 Glândulas Adrenais

Na avaliação ultrassonográfica dos 144 cães do estudo, o grupo adrenais normais (G1) correspondeu a cinco cães (3,5%) e o grupo aumento unilateral (G2) a 38 (26,4%). O grupo aumento bilateral (G3) foi o mais frequente com 101 cães (70,1%) ($p < 0,0001$) (tabela 3).

Tabela 3. Valores de intervalo, média e desvio-padrão nos grupos classificados de acordo com o tamanho das adrenais (cm) dos 144 cães com hiperadrenocorticismos.

	Significância	Direita	Esquerda	
ADRENAIS NORMAIS (N=5)	c	Intervalo	0,32 – 0,54	0,38 – 0,5
		Média \pm DP	0,45 ($\pm 0,09$)	0,46 ($\pm 0,05$)
AUMENTO UNILATERAL (N = 38)	b	Intervalo	0,12 – 6,07	0,12 – 4,18
		Média \pm DP	1,62 ($\pm 1,62$)	1,36 ($\pm 1,23$)
AUMENTO BILATERAL (N = 101)	a	Intervalo	0,45 – 2,34	0,55 – 2,38
		Média \pm DP	0,98 ($\pm 0,40$)	1,01 ($\pm 0,40$)

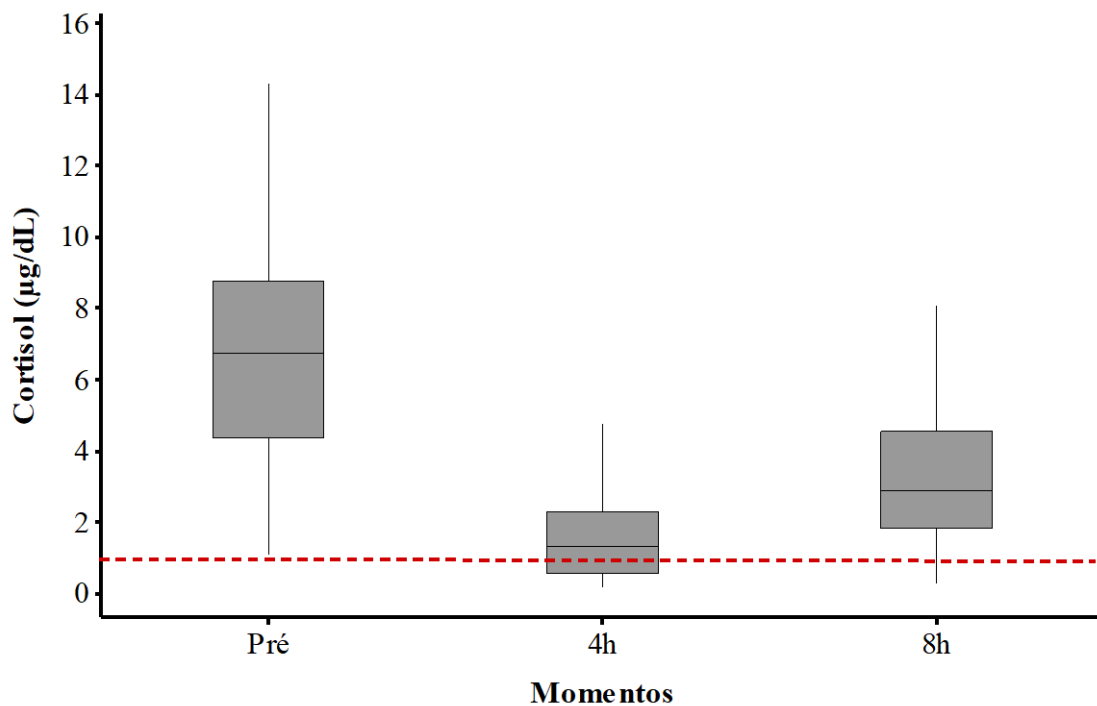
N = número de cães; DP = desvio padrão.

Fonte: o próprio autor (2019).

3.4.4 Testes Endócrinos

Cento e quarenta e quatro cães foram submetidos ao teste SBBD com dosagem de cortisol basal e após 8 horas. Em 120 destes, também foi realizada a mensuração após 4 horas (figura 9).

Figura 12. Concentração de cortisol nos momentos pré, após 4 horas e após 8 horas da aplicação da dexametasona.



Fonte: o próprio autor (2019).

Dentre os 144 cães que foram avaliados com mensuração de cortisol em t8, 135 (93,8%) apresentavam valores de cortisol acima do valor de referência e foram considerados sem supressão, positivos para o diagnóstico de hiperadrenocorticismo. Em nove cães (6,2%) constataram-se valores de cortisol abaixo do valor de referência e foram considerados com supressão, negativos para o diagnóstico de HAC (tabela 4).

Tabela 4. Frequência das alterações ultrassonográficas nas adrenais dos 144 pacientes submetidos a teste de supressão com baixa dose de dexametasona com mensuração do cortisol após 8 horas.

PADRÃO	N°	%	G1	G2	G3
COM SUPRESSÃO	9	6,2	1	3	5
SEM SUPRESSÃO	135	93,8	4	35	96
TOTAL	144	100	5	38	101

N° = frequência absoluta, % = frequência relativa, G1 = adrenais normais, G2 = aumento unilateral, G3 = aumento bilateral.

Fonte: o próprio autor (2019).

Nos padrões descritos a partir da mensuração do cortisol em t4 e t8, em seis (5%) cães ocorreu supressão total, em 51 (42,5%) ocorreu supressão parcial, em 44 (36,7%) ocorreu o padrão escape, em um (0,8%) ocorreu padrão inverso e em 18 (15%) não ocorreu supressão (tabela 5).

Tabela 5. Distribuição dos 120 cães conforme o padrão de resposta ao teste de supressão com baixa dose de dexametasona em t4 e t8 e alterações em adrenais avaliada por ultrassom no período de 2013 a 2018.

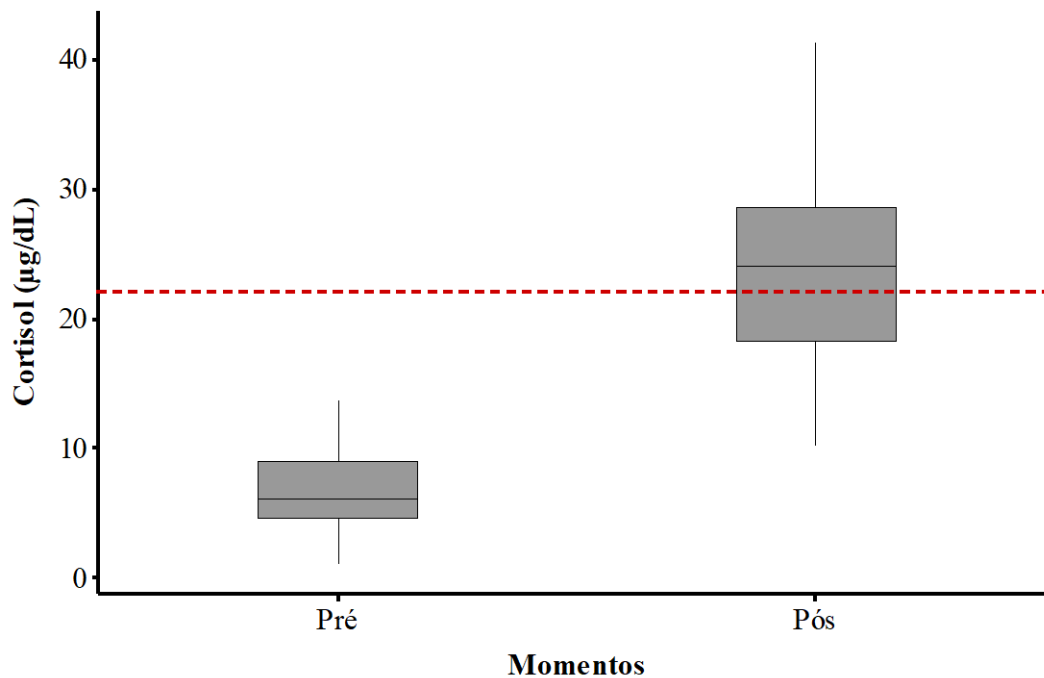
PADRÃO	N°	%	G1	G2	G3
SUPRESSÃO TOTAL	6	5	1	2	3
SUPRESSÃO PARCIAL	51	42,5	1	14	36
ESCAPE	44	36,7	1	9	34
PADRÃO INVERSO	1	0,8	0	0	1
SEM SUPRESSÃO	18	15	0	7	11
TOTAL	120	100	3	32	85

N° = frequência absoluta, % = frequência relativa, G1 = adrenais normais, G2 = aumento unilateral, G3 = aumento bilateral.

Fonte: o próprio autor (2019).

Dos 144 cães testados com SBB, 100 foram submetidos ao teste de estimulação pelo ACTH (figura 10).

Figura 13. Concentração do cortisol nos momentos pré e pós-estimulação com o ACTH.



Fonte: o próprio autor (2019).

Dos 100 cães, 65 (65%) apresentaram valores de cortisol acima do valor de referência, confirmando o diagnóstico positivo para HAC. Destes 65 (3 G1, 16 G2 e 46 G3), 59 cães foram positivos no teste de SBDD e seis confirmaram o diagnóstico com o teste de estimulação (tabela 6).

Tabela 6. Frequência das alterações adrenais observados nos 100 cães submetidos ao teste de estimulação com ACTH.

ESTIMULAÇÃO	N°	%	AN	HU	HB
SEM ESTIMULAÇÃO	35	35	2	6	27
COM ESTIMULAÇÃO	65	65	3	16	46
TOTAL	100	100	5	22	73

N = número de cães; AN = adrenais normais; HU = hiperplasia unilateral; HB = hiperplasia bilateral.

Fonte: o próprio autor (2019).

A sensibilidade e especificidade obtidas no teste de SBDD corresponderam a 93,7% e 100%, respectivamente. O teste de estimulação pelo ACTH apresentou sensibilidade de 65% e a especificidade de 100%.

3.5 DISCUSSÃO

O HAC espontâneo canino tem sido relatado com frequência nos últimos anos e está entre as endocrinopatias com maior incidência entre as espécies (RIJNBERK *et al.*, 2003). Um estudo norte americano relatou que prevalência da doença chega a 2,1% dos cães (HOFFMAN *et al.*, 2018), enquanto na Inglaterra a taxa é 0,28%, sendo a terceira doença endócrina mais prevalente no país, atrás apenas do hipotireoidismo e do diabetes melito (O'NEILL *et al.*, 2016). Neste trabalho, a prevalência obtida assemelha-se à reportada pelos ingleses.

Os testes de SBDD e estimulação pelo ACTH são indicados para diagnosticar pacientes com HAC, entretanto, o teste de SBDD é recomendado como teste de eleição (BEHREND *et al.*, 2013). A sensibilidade reportada para o teste de SBDD e estimulação pelo ACTH é de 85-100% e 57-95%, respectivamente. A alta sensibilidade do exame de SBDD encontrada no presente estudo foi similar às citadas anteriormente (FELDMAN, 1983; KAPLAN *et al.*, 1993; VAN LIEW *et al.*, 1997; BEHREND *et al.*, 2013; BENNAIM *et al.*, 2018) e superior à sensibilidade do teste de estimulação pelo ACTH, provando ser um teste associado à alta probabilidade de o paciente ser realmente positivo para a doença, tornando-o mais útil na prática clínica (GILOR; GRAVES, 2011).

A escolha do teste de estimulação pelo ACTH como exame de triagem é questionável devido à sua baixa sensibilidade em pacientes com HAC, no qual um terço pode apresentar resultados falso-negativos (GILOR; GRAVES, 2011). No entanto, um estudo relatou que 95% dos diagnósticos de HAC foram realizados por meio do teste de estimulação justificados por sua rápida realização e conveniência para o proprietário, enquanto outro estudo apresenta vantagens como simplicidade, alta especificidade e alto valor preditivo positivo (O'NEILL *et al.*, 2016; NIVY *et al.*, 2018). Neste trabalho, o teste apresentou baixa sensibilidade e uma taxa de 35% de casos falso-negativos, corroborando a indicação do teste de SBDD como teste de eleição. Supõe-se que nestes casos a baixa sensibilidade no teste de estimulação possa estar relacionada a erro de manipulação, acondicionamento ou transporte da amostra. Além disso, prováveis erros analíticos nos métodos de mensuração do cortisol nos laboratórios de referência devem ser considerados já que os valores de referência foram estabelecidos utilizando diferentes ensaios de

análise e podem apresentar picos de cortisol diferente entre eles (SIEBER-RUCKSTUHL *et al.*, 2015)

A especificidade para os testes de SBDD e estimulação pelo ACTH é muito variável entres os trabalhos publicados dependendo dos animais avaliados (GILOR; GRAVES, 2011). Em pacientes críticos ou que apresentavam doenças crônicas descompensadas, os valores de especificidade do SBDD e da estimulação pelo ACTH corresponderam a 44% e 64% respectivamente (KAPLAN *et al.*, 1995; CHASTIAN *et al.*, 1986). Em contraste, um trabalho que testou a estimulação pelo ACTH em cães com DM compensado apresentou 100% de especificidade (ZERBE *et al.*, 1988). O valor da especificidade neste estudo foi superior à maioria dos relatados, atingindo 100% em ambos os testes podendo ser atribuído ao fato dos cães selecionados e testados possuírem doença não-adrenal.

O HHD é a causa mais comum de HAC espontâneo, responsável por 80% a 85% dos casos (FELDMAN, 2007; KOOISTRA; GALAC, 2010; HERTAGE; RAMSEY, 2015; NELSON, 2015) enquanto o HAD ocorre em 10% a 20% dos casos (REUSCH; FELDMAN, 1991; RISTIC; RAMSEY, 2007; BEHREND, 2015). Estes dados se aproximam dos valores obtidos na população de cães estudada, no qual a etiologia do HAC foi majoritariamente de origem hipofisária, com 70,1% dos casos, enquanto os tumores adrenais foram responsáveis por 26,4% dos casos e apenas 3,5% não apresentavam alterações em adrenais.

Os padrões de supressão atribuídos neste trabalho fornecem informações adicionais a respeito da etiologia do HAC nos cães avaliados e aproximadamente 48 – 60% com HHD podem ser diagnosticados a partir da mensuração do cortisol sérico após 4 horas e 8 horas da administração da dexametasona (FELDMAN *et al.*, 1996; BENNAIM *et al.*, 2018). Neste estudo, os padrões de supressão auxiliaram na identificação de qual era o padrão mais recorrente entre os animais testados, mas sem avalia-los individualmente. Entre os cinco padrões, o padrão supressão parcial apresentou o maior número de cães, no qual 51 animais apresentaram provável tumor hipofisário ou adrenal. Nestes casos, a ultrassonografia foi indispensável para auxiliar a diferenciação da origem do HAC, sendo 36 destes cães classificados com hiperplasia bilateral e provável tumor hipofisário, 14 possuíam hiperplasia unilateral sugerindo a presença tumor adrenal e um apresentava adrenais com tamanhos normais.

O segundo padrão mais frequente foi o escape com 44 cães, diferindo significativamente daqueles apresentados por Bennaim *et al.* (2018). O autor defende que os resultados de cortisol obtidos nesse grupo apresentaram baixo VPP e conseqüentemente promovem suporte limitado para o diagnóstico de HAC, sugerindo que isto pode estar associado ao pequeno número de animais apresentando padrão escape. No entanto, por expressar número significativo neste trabalho e confirmar o HAC nestes cães, o padrão mostrou-se válido.

Apenas um cão apresentou o padrão inverso e foi classificado com adrenais bilateralmente hiperplásicas, sugerindo que este padrão está relacionado a tumores hipofisários (MUELLER *et al.*, 2006; BENNAIM *et al.*, 2018). Embora o cão tenha sido considerado negativo para o HAC na avaliação da concentração do cortisol após 8 h, o padrão inverso mostrou-se efetivo na confirmação do HAC sem a necessidade de outros testes hormonais. Entretanto, isto ocorreu com o resultado da estimulação pelo ACTH. A realização de exames complementares como tomografia computadorizada e a mensuração do ACTH endógeno auxiliariam na melhor elucidação deste caso, no entanto, houve limitações por se tratar de estudo retrospectivo. Para melhor avaliação e predição se é um padrão válido no diagnóstico do HAC, mais estudos são recomendados (MUELLER *et al.*, 2006; BENNAIM *et al.*, 2018).

O padrão supressão total foi apresentado por seis cães e estão entre os 5% de falsos-negativos do teste SBDD. É mais comum que o teste de SBDD apresente resultados falso-positivos (BEHREND *et al.*, 2013) em consequência de doenças crônicas ou estresse agudo que podem anular os efeitos supressivos da dexametasona (GILOR; GRAVES, 2011). Os resultados falso-negativos neste caso podem ser associados a maior sensibilidade dos cães ao efeito da dexametasona e conseqüentemente ao efeito de *feedback* negativo no eixo HHA.

Como foi hipotetizado no trabalho, o HAC foi mais frequente nas fêmeas do que nos machos, no entanto, mais estudos são necessários para confirmar se o sexo é um fator predisponente para a doença (O'NEILL *et al.*, 2016). Quanto ao *status* reprodutivo, um estudo demonstrou que a alta concentração de progesterona durante o diestro em cadelas aumenta a secreção de cortisol nas adrenais, podendo predispor ou agravar o HAC, porém ainda não existem estudos sobre o efeito dos hormônios gonadais na adrenal de cães machos (REIMERS *et al.*,

1990; VOORWALD *et al.*, 2013). Em contradição, este trabalho apresentou que 90,6% das fêmeas e 67,2% dos machos eram castrados, demonstrando que fêmeas castradas tiveram maior frequência na população avaliada. Não é possível afirmar que cadelas castradas possuem maior probabilidade de ter HAC, pois a castração é um procedimento padrão em alguns países, seja para controle de natalidade ou evitar outras doenças (HOFFMAN *et al.*, 2018). Todavia, neste estudo pode-se inferir que os animais esterilizados apresentaram maior tendência a doença.

Os cães mais velhos foram mais frequentes entre os animais com HAC. A média de idade dos cães avaliados foi de 10,3 anos, condizendo com outros estudos (PETERSON, 2007; BEHREND *et al.*, 2013; O'NEILL *et al.*, 2016). O desenvolvimento do HAC associado a neoplasias nessa faixa etária já foi reportado (GALLELLI *et al.*, 2010) e pode estar relacionado com prováveis mutações somáticas espontâneas, conforme sugerido na medicina humana (KENNEDY *et al.*, 2012). Os cães de pequeno porte mostraram-se mais frequentes e apresentaram maior tendência em desenvolver o HAC. Sete dos 144 cães apresentaram peso superior a 30 kg, o que explica a grande variação no desvio-padrão. Trabalhos prévios sugerem que cães com alto escore de condição corporal tem maior chance de desenvolver HAC do que cães normais ou baixo escore de condição corporal, e que sobrepeso ou obesidade podem estar diretamente relacionados à endocrinopatia (LUND *et al.*, 2006; O'NEILL, 2016). Contudo, o objetivo deste trabalho não foi avaliar especificamente o escore de condição corporal dos animais.

Entre as 21 raças afetadas, o Poodle foi a mais frequente no estudo, confirmando que a raça pode possuir maior predisposição em desenvolver o HAC (PETERSON, 2007; PINZON, 2009; PöPPL *et al.*, 2016; HOFFMAN *et al.*, 2018). O grupo de SRD foi o segundo mais frequente. Ao comparar estudos nacionais (SCHNOBEL *et al.*, 2006; PINZON, 2009; PöPPL *et al.*, 2016) com trabalhos internacionais (O'NEILL *et al.*, 2016; HOFFMAN *et al.*, 2018), nota-se que o Brasil possui uma população maior de cães sem raça definida do que raças puras. Dessa forma, o que aumentaria os casos de HAC no país seria a população total de cães SRD e não sua predisposição a ter a doença. Em seguida, o Lhasa apso, Yorkshire e Shih-tzu foram as raças mais frequentes, o que pode ser atribuído a grande popularidade destas raças na população local.

As alterações laboratoriais encontradas neste estudo são semelhantes aos descritos por Behrend *et al.* (2013), Herrtage e Ramsey (2015) e Nelson (2015). Na bioquímica sérica, o aumento das enzimas hepáticas (FA, ALT e GGT) foi o mais frequente. A média da FA apresentou valor quase sete vezes acima do limite superior de referência, corroborando os relatos do seu aumento na maioria dos casos de HAC (PETERSON, 2007; PINZON, 2009; BEHREND *et al.*, 2013, GILOR; GRAVES, 2011; BEHREND, 2015). O fato pode ser atribuído à doença hepática causada pelo excesso de cortisol, mas também a hepatopatias de outra causa, uma vez que foi dosada a FA total e não a corticoide-induzida.

Diferente do relato que a hipercolesterolemia é mais frequente (BEHREND, 2015), este estudo observou maior frequência de cães com aumento de triglicérides. É essencial diferenciar a lipemia pós-prandial induzida por quilomícrons da hipertrigliceridemia gerada por lipoproteínas de baixa densidade (VLDL), porque a primeira é geralmente de curta duração e normalmente não indica presença de um distúrbio lipídico (JOHNSON, 2005). No entanto, por se tratar de um estudo retrospectivo, não há garantia que em todos os cães nos quais os triglicérides foram mensurados estivessem em jejum. Ainda assim, pode-se afirmar que nos cães que apresentaram moderado e grave aumento, a hipertrigliceridemia era um problema metabólico primário ou secundário ao HAC. Os cães que tiveram leve aumento podem corresponder aos que foram alimentados nas 12 horas que antecederam o exame.

A hiperglicemia esteve presente em 60,4% dos pacientes. Isto indica que eles podem desenvolver resistência insulínica e/ou aumentar a gliconeogênese decorrente do hipercortisolismo (BEHREND *et al.*, 2013; MICELI *et al.*, 2017). A dislipidemia associada a hiperglicemia foram as principais alterações metabólicas observadas, confirmando que desordens no metabolismo de lipídios e glicose tem aumentado nos últimos anos e são fatores de risco para o desenvolvimento da síndrome metabólica e outras doenças metabólicas mais severas (KAWASUMI *et al.*, 2012).

Nos eletrólitos, a presença de hipernatremia e hipocalemia foram as mais relevantes. Apesar da pouca significância clínica e diagnóstica, essas alterações podem ser encontradas no HAC (BEHREND, 2015) e requerem maiores estudos que confirmem sua importância.

A hiperproteinemia pode estar associada a processos inflamatórios de origem crônica ou estimulação antigênica (ALLISON, 2015). Neste estudo, o hipercortisolismo pode ser apontado como principal causa inflamatória levando ao aumento das PTs em 73,6% dos cães.

Nas alterações hematológicas obtidas no eritrograma, a trombocitose foi o achado mais consistente conforme os relatos (PARK *et al.*, 2013; BEHREND, 2015; NELSON, 2015). No leucograma, a presença de leucocitose, neutrofilia, linfopenia, eosinopenia e monocitose foram compatíveis com o leucograma de estresse, caracterizado pela indução esteroide na circulação (PETERSON, 2007; BEHREND, 2015).

Outra alteração bem relatada é a diminuição da densidade específica da urina (DEU) (PETERSON, 2007; SMETS *et al.*, 2012; BEHREND *et al.*, 2013; BENNAIM *et al.*, 2018). Na urinálise, a DEU demonstrou que 59,7% dos cães possuíam isostenúria ou hipostenúria. A proteinúria foi semelhante à reportada por Goy-Thollot *et al.* (2012).

A hipertensão arterial sistêmica foi observada em 54,9% dos animais, faixa similar a publicada por Arenas *et al.* (2014) mas menor que relatado por SMETS *et al.* (2002) chegando a 86% dos animais. Essa diferença pode ser explicada pela diversidade dos métodos de mensuração (BEHREND, 2015).

Este estudo apresentou limitações por ser tratar de uma pesquisa retrospectiva. Entre elas, a falta de dados para completa avaliação dos parâmetros analisados e realização de outros exames complementares que auxiliariam na condução de alguns casos clínicos. Em relação às mensurações do cortisol, possíveis diferenças podem ter ocorrido já que as análises foram realizadas em dois laboratórios que adotam métodos distintos para análise do cortisol. Além disso, avaliação dos sinais clínicos e possíveis doenças prévias ou concomitantes com HAC poderiam auxiliar na interpretação dos resultados hormonais.

CONCLUSÃO

Em conclusão, este estudo retrospectivo foi capaz de confirmar que na população de cães avaliados, o teste de supressão em baixa dose de dexametasona foi o melhor para diagnosticar o hiperadrenocorticismismo, dada sua alta sensibilidade. Portanto, seu uso é encorajado como teste de triagem de eleição.

O peso e status reprodutivo foram fatores que apresentaram tendência para o desenvolvimento do hiperadrenocorticismismo. Ademais, cães com faixa etária média de 10 anos, peso médio até 10 kg e fêmeas foram mais frequentes, assim como as raças Poodle e SRD na população em estudo.

As alterações clinicopatológicas foram semelhantes à maioria das relatadas previamente e são importantes para que o clínico investigue outros parâmetros que confirmem a doença.

A mensuração do cortisol após 4h da dexametasona pode fornecer informações adicionais sobre a origem do hiperadrenocorticismismo e ajudar em casos que a doença seja suspeita.

REFERÊNCIAS

- ALDRIGDE, C. *et al.* Comparison of 2 doses for ACTH stimulation testing in dogs suspected or treated for hyperadrenocorticism. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.30 (5). p.1637-1641, Sep/Oct 2016.
- ALLISON, R. W. Avaliação laboratorial das proteínas do plasma e do soro sanguíneo. In: THRALL, M.A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. p. 398-411.
- ARENAS, C. *et al.* Long-term survival of dogs with adrenal-dependent hyperadrenocorticism: a comparison between mitotane and twice daily trilostane treatment. **Journal of veterinary internal medicine**, v.27(6), p.1292-1304, Nov/Dec 2013.
- BEHREND, E. N.; KEMPPAINEN, R. J. Diagnosis of hyperadrenocorticism. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**. v.31 (5), 985-1003, Sep 2001.
- BEHREND, E. N. *et al.* Diagnosis of spontaneous canine hyperadrenocorticism: 2012 ACVIM Consensus Statement (Small Animal). **Journal of veterinary internal medicine**, v.27 (6), p.1292-1304, Nov/Dec 2013.
- BEHREND, E. N. Canine hyperadrenocorticism. In: FELDMAN, E. C.; NELSON, R. W.; REUSCH, C.E; SCOTT-MONCRIEFF, J.C.R. **Canine and feline endocrinology**. 4.ed. Saunders, 2015.
- BENNAIM, M. *et al.* Evaluation of individual low-dose dexamethasone suppression test patterns in naturally occurring hyperadrenocorticism in dogs. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.32 (3), p.967-977, May/Jun 2018.
- BROWN, S. *et al.* Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. **Journal of veterinary internal medicine**. USA, v.21 (3), p.542-558, May/Jun 2007.
- CHASTIAN, C. B. *et al.* Evaluation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in clinically stressed dogs. **Journal of the american animal hospital association**, v.22 (4), p.435-442, 1986.
- FELDMAN, E. C. Comparison of ACTH response and dexamethasone suppression as screening tests in canine hyperadrenocorticism. **Journal of the american animal hospital association**, v.182 (5), p.596-510, Mar 1983.
- GALLELLI, M. F. *et al.* A comparative study by age and gender of the pituitary adenoma and ACTH and alpha-MSH secretion in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. **Research in veterinary science**. v.88 (1), p-33-40, Feb 2010.
- GILOR, C.; GRAVES, T. K. Interpretation of laboratory tests for canine Cushing's syndrome. **Topics in companion animal medicine**, v.26 (2), p.98-108, May 2011.

GOY-THOLLOT, I. *et al.* Investigation of the role of aldosterone in hypertension associated with spontaneous pituitary-dependent hyperadrenocorticism in dogs. **Journal of small animal practice**. n.43 (11), p.489-492, Nov 2002.

GRECO, D. S. Hyperadrenocorticism associated with sex steroid excess. **Small animal practice**. v.22 (1), p.12-17, Feb 2007.

HERRTAGE, Michael E., RAMSEY, Ian K. Hiperadrenocorticism em cães. In: MOONEY, Carmel T.; PETERSON, Mark E. **Manual de endocrinologia em cães e gatos**. 4.ed. São Paulo: Roca, 2015. p. 201-226.

HOFFMAN, J.M. *et al.* Canine hyperadrenocorticism associations with signalment, selected comorbidities and mortality within Morth American veterinary teaching hospitals. **Journal small animal practice**, v.59, p.681-690, May 2018.

HOFFROGGE, S. *et al.* Duration of blood plasma cortisol supression after low-dose dexamethasone supression test in dogs. **Comparative Clinical Pathology**. v.25, p.299-303, 2016.

JOHNSON, M. C. Hyperlipidemia Disorders in Dogs. **Compendium on continuing education for the practicing veterinarian**. v.27, p.361-370, May 2005.

KANECO, J.; HARVEY, J.; BRUSS, M. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6.ed. Academic Press, 2008.

KAPLAN, A. J. *et al.* Effects of disease on the results of diagnostic tests for use in detecting hyperadrenocorticism in dogs. **Journal of the american veterinary medical association**. v.207 (4), p.445-451, 1995.

KAWASUMI, K. *et al.* New criteria of hyperlipidemia with insulin resistance in dogs. **Journal of animal and veterinary advances**. v.11 (21), p.3950-3952, 2012.

KENNEDY, S. R. *et al.* Somatic mutations in aging, cancer and neurodegeneration. **Mechanisms of Ageing and Development**. v.133 (4), p-118-26, Apr 2012.

KIM, K. *et al.* Clinical relationship between cholestatic disease and pituitary-dependent hyperadrenocorticism in dogs: A Retrospective Case Series. **Journal of the american veterinary medical association**. v.31 (4), p.335-342, 2017.

KOOISTRA, H.S.; GALAC, S. Recent advances in the diagnosis of Cushing's syndrome in dogs. **Topics in animal companion animal medicine**. n.27 (1), p.21-24, Feb 2012.

LUND, E. Prevalence and risk factors for obesity in adult dogs from private US veterinary practices. **The journal of applied research in veterinary medicine**, v.4 (2), p.177-186, 2006.

MICELI, D. D. *et al.* Concurrent hyperadrenocorticism and diabetes mellitus in dogs. **Research in veterinary science**. V.115, p.425-431, Dec 2017.

MUELLER, C. *et al.* Low-dose dexamethasone test with “inverse” results: a possible new pattern of cortisol response. **The veterinary record**. v.159 (15), p.489-491, Oct 2006.

NELSON, Richard. Doenças da adrenal. In: COUTO, Guillermo; NELSON, Richard. **Medicina interna de pequenos animais**. 5.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. p. 824-844.

NIVY, R. *et al.* The interpretive contribution of the baseline serum cortisol concentration of the ACTH stimulation in the diagnosis of pituitary dependent hyperadrenocorticism in dogs. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.32 (6), p.1897-1902, Nov/Dec 2018.

O'NEILL, D.G. *et al.* Epidemiology of hyperadrenocorticism among 210,824 dogs attending primary-care veterinary practice in the UK from 2009 to 2014. **Journal small animal practice**, v.57, p.365-373, Jul 2016.

PARK, F.M *et al.* Hypercoagulability and ACTH-dependent hyperadrenocorticism in dogs. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.27 (5), p.1136-1142, Sep/Oct 2013.

PETERSON, M.E. Diagnosis of hyperadrenocorticism in dogs. **Clinical techniques in small animals practice**. USA, v.22 (1), p.2-11, Feb 2007.

PINZON, Y. Z. **Hiperadrenocorticismo em cães: principais sinais clínicos, alterações na patologia clínica e doenças concomitantes mais comuns - estudo retrospectivo**. 2009. 51f. Monografia (Especialização em Análises Clínicas Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de veterinária Veterinárias, Porto Alegre, 2009.

PöPPL, A. G. *et al.* Frequency of endocrinopathies and characteristics of affected dogs and cats in Southern Brazil (2004-2014). **Acta Scientiae Veterinariae**. v.44, p.1-9, Jun 2016.

RAMSEY, Ian; RISTIC, Jelena. Diagnosis of canine hyperadrenocorticism. **In practice**, v. 28(9), p.446-454, Sep 2007.

REIMERS, T, J. *et al.* Effects of age, sex, and body size on serum concentrations of thyroid and adrenocortical hormones in dogs. **American journal veterinary research**. USA, V.51 (3), p.454-457, Mar 1990.

REUSCH, C. E.; FELDMAN, E. C. Canine hyperadrenocorticism due to adrenocortical neoplasia: pretreatment evaluation of 41 dogs. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.5 (1), p.3-10, Jan/Feb 1991.

RIJNBEEK, A. *et al.* Endocrine diseases in dogs and cats: similarities and differences with endocrine diseases in humans. **Growth Hormone IGF Research**, v.13, p.158-164, Aug 2003.

SCHALM, O.W.; WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. **Schalm's veterinary hematology**. 6.ed. Ames, Iowa : Wiley-Blackwell, 2010.

SCHNOBEL, A.M. *et al.* Aspectos epidemiológicos das endocrinopatias em cães atendidas no Hospital Veterinário da Universidade de Guarulhos (UNG) entre agosto 2004 à abril 2006. In: **Anais 6° Congresso Paulista de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais**. (São Paulo, Brasil). p.185.

SIEBER-RUCKSTUHL, N. S. *et al.* Cortisol response in health and diseased dogs after stimulation with a depot formulation of synthetic ACTH. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.29 (6), p.1541-1546, Nov/Dec 2015.

SMETS, P. M. Long-term follow-up of renal function in dogs after treatment for ACTH-dependent hyperadrenocorticism. **Journal of veterinary internal medicine**, USA, v.26 (3), p. 565-574, May/June 2012.

SOLTER, P. F. Assessment of corticosteroid-induced alkaline phosphatase isoenzyme as a screening test for hyperadrenocorticism in dogs. **Journal of the American veterinary medical association**. V.203 (4), p.534-538, Aug 1993.

SOULSBY, S.N. *et al.* Ultrasonographic evaluation of adrenal gland size compared to body weight in normal dogs. **Veterinary Radiology & Ultrasound**. V.56 (3), p.317-326, May/June 2015.

VAN LIEW, C.H. *et al.* Comparison os results of adrenocorticotrophic hormone stimulation and low-dose dexamethasone suppression tests with necropsy findings in dogs: 81 cases (1985-1995). **Journal of American veterinary medical association**. v.211, p.322-325, 1997.

VOORWALD *et al.*, 2013 Gonadectomy pré-puberal em cães e gatos. **Ciência Rural** [online]. v.43(6), p.1082-1091. Epub May 2013.

ZERBE, C. A. *et al.* Adrenal function in 15 dogs with insulin-dependent diabetes *mellitus*. **Journal of American veterinary medical association**. v.193 (4), p.454-456, Aug 1988.

ZUR, G.; WHITE, S.D. Hyperadrenocorticism in 10 dogs with skin lesions as the only presenting clinical signs. **Journal of American animal hospital association**. v.47 (6), p.419-427, 2011.