



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

DIAGNÓSTICO DE HIPERADRENOCORTICISMO CANINO E TRATAMENTO COM  
TRILOSTANO - ESTUDO RETROSPECTIVO DE 20 CASOS CLÍNICOS

NUNO LUÍS BIZARRO NEVES LEITÃO

CONSTITUIÇÃO DO JURI

Doutora Maria Manuela Grave  
Rodeia Espada Niza  
Doutora Anabela Sousa Santos  
da Silva Moreira  
Doutora Maria Teresa da Costa  
Mendes Vítor Villa de Brito  
Dr.<sup>a</sup> Joana Vidal Pontes

ORIENTADOR

Doutora Maria Teresa da Costa  
Mendes Vítor Villa de Brito

CO-ORIENTADOR

Dr.<sup>a</sup> Joana Vidal Pontes

2011  
LISBOA

---





UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

DIAGNÓSTICO DE HIPERADRENOCORTICISMO CANINO E TRATAMENTO COM  
TRILOSTANO - ESTUDO RETROSPECTIVO DE 20 CASOS CLÍNICOS

NUNO LUÍS BIZARRO NEVES LEITÃO

CONSTITUIÇÃO DO JURI

Doutora Maria Manuela Grave  
Rodeia Espada Niza  
Doutora Anabela Sousa Santos  
da Silva Moreira  
Doutora Maria Teresa da Costa  
Mendes Vítor Villa de Brito  
Dr.<sup>a</sup> Joana Vidal Pontes

ORIENTADOR

Doutora Maria Teresa da Costa  
Mendes Vítor Villa de Brito

CO-ORIENTADOR

Dr.<sup>a</sup> Joana Vidal Pontes

2011  
LISBOA

---

*Ao meu Pai,  
Porque sem ti nada teria sido possível,  
pela vida que me proporcionaste, pelo orgulho do pai que tenho.  
Não há filhos nem pais perfeitos, mas foste, és, e sempre serás  
um pai perfeito para mim, a quem estarei eternamente grato*

*À minha avó Teresa,  
Pelo exemplo de vida que foste para mim,  
pelo amor incondicional que tenho por ti e pela saudade infinita,  
porque “o valor das coisas não está no tempo que elas duram  
mas na intensidade com que acontecem” (Fernando Pessoa),*

*À Miauza  
Pela promessa que fiz, pela saudade que permanece  
porque foste a “pessoa” com mais personalidade que já conheci*







## Agradecimentos

Como todos os esforços necessários para a elaboração desta dissertação não foram realizados apenas por mim, nunca é demais agradecer:

À minha orientadora, Professora Doutora Teresa Villa de Brito, pela disponibilidade e apoio, pela paciência, pelo carinho demonstrado, e pela formação que me transmitiu enquanto professora, médica veterinária, e orientadora.

À minha co-orientadora Dr.a Joana Vidal Pontes pela motivação, pelos conhecimentos transmitidos, pelo apoio, e pelo forte incentivo para não perder o gosto pela aprendizagem.

À equipa de médicos e auxiliares do Hospital Escolar da FMV-UTL pela amizade e apoio que demonstraram, e por tornarem o local de estágio num ambiente de companheirismo. Um agradecimento especial à Dr.a Marisa Ferreira, à Dr.a Alexandra Basso e ao Dr. Rodolfo Leal pelo incentivo para querer saber sempre mais, e pelas críticas construtivas que me fizeram crescer na minha formação profissional.

À equipa do Banco de Sangue Veterinário, pelo enorme carinho, pela confiança depositada, pela motivação que me transmitiram para a realização da dissertação e pelo apoio ao longo deste último ano.

Aos colegas estagiários e de curso pelas experiências que passamos em conjunto, pela amizade construída e partilhada e por terem sido parte activa na minha formação pessoal e profissional.

Aos meus amigos por me ouvirem veterinariamente falando, por se disponibilizarem incondicionalmente para ajudar na elaboração da dissertação, por nunca faltarem, nos bons e maus momentos. Um agradecimento especial à Sofia Camacho pela elaboração das imagens utilizadas na dissertação e à minha amiga Teresa Neves, não só pelo apoio e ajuda incondicional durante a realização da dissertação, mas também pela colega sempre presente, pelo ombro amigo, pela dedicação a 100%, pela disponibilidade e principalmente pela gigante amizade durante os 6 anos de curso.

À minha família, pelos valores que me têm transmitido por me receberem sempre de braços abertos e por me amparem sempre durante os meus anos de curso e durante a elaboração da dissertação.





## Resumo

### **Diagnóstico de Hiperadrenocorticismo Canino e Tratamento com Trilostano: Estudo Retrospectivo de 20 casos clínicos**

O hiperadrenocorticismo (HAC) é a endocrinopatia mais comum no cão e é devido a um excesso crônico de glucocorticóides no organismo. Esta dissertação tem como base a constatação das alterações presentes em 20 pacientes com HAC, tais como os sinais clínicos, o hemograma, as análises bioquímicas sanguíneas, os testes endócrinos e a ecografia abdominal, e ainda a constatação em 13 casos clínicos da evolução dos sinais clínicos, das bioquímicas sanguíneas e dos resultados do teste de estimulação com ACTH (TE-ACTH) durante o tratamento desta doença com trilostano até ao 150º dia.

Os sinais clínicos observados foram, a PU/PD (85%), o abdómen pendular (75%), problemas dermatológicos (60%) e polifagia (50%), entre outros. O hemograma não apresentou muitas alterações, ao contrário das análises bioquímicas, nas quais foi observado a FAS aumentada em 88% dos casos (N=17), a ALT em 56% (N=18), hipercolesterolemia em 12% (N=8) ureia aumentada em 18% (N=17), densidade urinária diminuída em 57% (N=7) e presença de proteinúria em 43% dos casos (N=7). O teste de supressão de dexametasona em dose baixa (TSDDB) diagnosticou positivamente todos os casos, dando também o diagnóstico etiológico de hiperadrenocorticismo hipofiso-dependente (HAC-HD) em 67% dos casos (N=9). Já o TE-ACTH deu um resultado falso negativo. A ecografia mostrou alterações compatíveis com HAC-HD em 32% dos casos que a realizaram (N=19). 13 animais foram submetidos a tratamento com trilostano. A dose foi de 1,25 a 4,48 mg/kg ( $2,45 \pm 0,89$  mg/kg). Os sinais clínicos melhoraram ao longo das monitorizações, principalmente a PU/PD. A concentração plasmática média da FAS ( $1203 \pm 1243$  UI/L) e da ALT ( $131 \pm 78$  UI/L) diminuíram, e o valor da creatinina ( $0,80 \pm 0,83$  mg/dl) aumentou ligeiramente. Os valores médios da ureia, do sódio e do potássio apresentaram flutuações mas com tendência para aumentar. O valor médio de cortisol sérico após o TE-ACTH apresentou diminuições logo aos 10-20 dias, e nas restantes monitorizações apresentou flutuações mas sem atingir os valores iniciais. Foram realizados ajustamentos na dose em 4 animais durante as monitorizações. A FAS não demonstrou vantagens para decisão de ajustamento de dose.

Administrações únicas diárias de trilostano em doses baixas permite um sucesso de 67% dos animais controlados aos 90-150 dias, sendo os sinais clínicos e o TE-ACTH bons parâmetros de monitorização, ao contrário da FAS.

**Palavras Chave:** hiperadrenocorticismo, cão, trilostano, FAS, teste de estimulação com ACTH, sinais clínicos.



## Abstract

### **Diagnosis of Canine Hyperadrenocorticism and treatment with trilostane: a retrospective study in 20 dogs**

Hyperadrenocorticism (HAC) is the most common endocrinopathy in dogs and it is due to a chronic excess of glucocorticoids. This study catalogs the changes found in 20 dogs with HAC, as their clinical signs, the hematologic, the biochemical and the endocrinological analysis, and also their adrenal ultrasonography alterations. Then, it was verified in 13 dogs the changes in clinical signs, biochemical analysis and results of ACTH stimulation test along the treatment with trilostane until the 150<sup>a</sup> day.

The clinical signs most observed were PU/PD (85%), pendulous abdomen (75%), dermatological alterations (60%) and polyphagy (50%). The most consistent haematological finding was eosinopenia (35%), In biochemical serum analysis, alkaline phosphatase (ALP) was high in 88% of 17 dogs and AST 56% of 18 dogs, 12% of 8 dogs had hypercholesterolaemia, 18% of 17 had high urea, 57% of 7 dogs had low urinary density and proteinuria was observed in 43% of 7 dogs. The low dose dexamethasone suppression (LDDS) test was positive in the 20 cases and it helped in the etiological diagnosis of pituitary-dependent hyperadrenocorticism (PDH) in 9 dogs (67%). There was a false-negative case on the ACTH stimulation test. In ultrasonography 32% of the cases had an increased in adrenal glands, which was compatible with the diagnosis of PDH (19 dogs). 13 dogs were treated with trilostane. The starting dose was from 1,25 mg/kg to 4,48 mg/kg SID ( $2,45 \pm 0,89$  mg/kg). The clinical signs improved along reevaluations, mainly PU/PD. The mean values of ALP ( $1203 \pm 1243$  UI/L) and ALT ( $131 \pm 78$  UI/L) decreased and the creatinine value ( $0,80 \pm 0,83$  mg/dl) increased. There were some variations along reevaluations in the mean values of urea, sodium and potassium concentrations, but they mostly increased. Serum cortisol concentrations after ACTH stimulation test decreased at 10-20 days and in the other reevaluations there were some variations without reach the pre-treatment values. No signs of overdose were observed during the study, but the dose was adjusted in 4 dogs. The ALP wasn't considered as an important parameter for monitoring the adjustments of dose because it presented different levels during the treatment.

The efficacy of trilostane in once daily administration was verified, even when used in lower doses. 67% of the animals were successfully controlled at 90 – 150 days. Clinical signs and ACTH stimulation test were considered good tests to be used in monitoring the treatment, as opposed to the ALP assay.

**Keywords:** Hyperadrenocorticism, dog, trilostane, Alkaline-phosphatase, clinical signs, ACTH stimulation test



# Índice

Dedicatória.....	i
Agradecimentos.....	ii
Resumo .....	iii
Abstract.....	iv
Índice de Figuras .....	x
Índice de Quadros .....	xi
Índice de Gráficos.....	xii
Índice de Abreviaturas .....	xiv
Actividades no Estágio Curricular.....	xvii
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>I. HIPÓFISE E ADRENAIS: Anatomia e Fisiologia.....</b>	<b>3</b>
<b>1. Hipófise: Morfologia .....</b>	<b>3</b>
1.1. Adenohipófise.....	3
1.2. Neurohipófise .....	4
<b>2. Adrenais: Morfologia.....</b>	<b>4</b>
2.1. Córtex Adrenal.....	5
2.2. Medula Adrenal .....	6
<b>3. Glucocorticóides e o Eixo Hipotalâmico-Hipofisário-Adrenal.....</b>	<b>6</b>
3.1. Regulação Hormonal.....	6
3.2. Síntese e Secreção de Glucocorticóides .....	8
3.3. Transporte, Distribuição e Eliminação de Glucocorticóides.....	9
3.4. Mecanismo de Acção dos Glucocorticóides.....	9
3.5. Mecanismo de Retrocontrolo Negativo .....	11
3.6. Os Mineralocorticóides .....	11
<b>II. HAC CANINO: Etiologia e Diagnóstico.....</b>	<b>12</b>
<b>1. Nota Histórica .....</b>	<b>12</b>
<b>2. Definição, Etiologia e Fisiopatologia.....</b>	<b>12</b>
2.1. Hiperadrenocorticismo Hipófise-Dependente (HAC-HD).....	12
2.2. Hiperadrenocorticismo Adrenal-Dependente (HAC-AD) .....	14
2.3. Hiperadrenocorticismo Iatrogénico (HAC-Ia).....	15
2.4. Outras Causas Potenciais de Hiperadrenocorticismo .....	15
<b>3. Epidemiologia .....</b>	<b>16</b>

3.1. Idade .....	16
3.2. Raça .....	16
3.3. Sexo .....	16
<b>4. História Progressiva e Exame Físico: Sinais Clínicos .....</b>	<b>16</b>
4.1. Poliúria/Polidipsia (PU/PD) .....	17
4.2. Polifagia (PF) .....	18
4.3. Abdómen Pendular .....	18
4.4. Hepatomegália .....	18
4.5. Fraqueza Muscular, Letargia e Claudicação .....	19
4.6. Sinais Dermatológicos .....	19
4.7. Calcificação Distrófica .....	20
4.8. Alterações Respiratórias: Dispneia .....	21
4.9. Alterações na Reprodução: Atrofia Testicular / Anestro .....	21
<b>5. Complicações no Hiperadrenocorticismismo .....</b>	<b>22</b>
5.1. Hipertensão Arterial .....	22
5.2. Estado de Hipercoagulabilidade: Tromboembolismo Pulmonar .....	22
5.3. Síndrome do Eutiroideu Doente .....	23
5.4. Diabetes Mellitus .....	23
5.5. Infecções Recorrentes do Trato Urinário (ITU), Urolitíase e Pielonefrites .....	24
5.6. Glomerulopatias .....	24
5.7. Alterações Neurológicas .....	24
5.8. Outras Complicações .....	25
<b>6. Exames Complementares de Diagnóstico .....</b>	<b>26</b>
6.1. Análises Laboratoriais .....	26
6.1.1. Hemograma .....	26
6.1.2. Bioquímicas Sanguíneas .....	26
6.1.3. Urinálise Tipo II .....	27
6.2. Diagnóstico Imagiológico .....	28
6.2.1. Radiografia Torácica e Abdominal .....	28
6.2.2. Ecografia Abdominal .....	29
6.2.3. Tomografia Axial Computorizada (TAC) e Ressonância Magnética (RM) ...	31
6.3. Testes Funcionais Endócrinos de Diagnóstico .....	32
6.3.1. Concentração Basal de Cortisol Endógeno .....	32
6.3.2. Rácio Cortisol/Creatinina Urinário (RCCU) .....	32
6.3.3. Teste de Estimulação com ACTH (TE-ACTH) .....	33
Medição da concentração de 17-hidroxiprogesterona com TE-ACTH .....	34
6.3.4. Teste de Supressão com Dexametasona em Dose Baixa (TSDDDB) .....	35

6.3.5. Teste de Supressão com Dexametasona em Dose Baixa + Rácio Cortisol/Creatinina Urinário.....	36
6.3.6. Teste de Supressão com Dexametasona em Dose Alta (TSDDA).....	37
6.3.7. Teste de Supressão com Dexametasona em Dose Alta + Rácio Cortisol/Creatinina Urinário.....	37
6.3.8. Teste de Supressão com Dexametasona em Dose Alta + Teste de Estimulação com ACTH.....	38
6.3.9. Concentração Basal de ACTH Endógena.....	38
6.3.10. Teste de Estimulação com CRH ou AVP.....	39
<b>III. HAC CANINO: Tratamento.....</b>	<b>40</b>
<b>1. Introdução.....</b>	<b>40</b>
<b>2. Tratamento Médico.....</b>	<b>41</b>
2.1. Trilostano (Vetoryl®).....	41
2.1.1. Mecanismo de Acção.....	41
2.1.2. Farmacocinética.....	42
2.1.3. Uso no Hiperadrenocorticismos Hipofise-Dependente.....	42
i) Dose de Indução.....	43
ii) Frequência.....	44
iii) Monitorização.....	44
iv) Ajustamento de Dose.....	46
2.1.4. Uso no Hiperadrenocorticismos Adrenal-Dependente.....	47
2.1.5. Prognóstico.....	47
2.1.6. Efeitos Adversos.....	47
2.2. Mitotano, O.p'-DDD (Lysodren®).....	48
2.2.1. Mecanismo de Acção e Farmacologia.....	48
2.2.2. Uso no Hiperadrenocorticismos Hipofise-Dependente.....	49
i) Adrenocorticolise Selectiva.....	49
ii) Adrenocorticolise Não Selectiva.....	50
2.2.3. Uso no hiperadrenocorticismos Adrenal-Dependente.....	50
2.2.4. Prognóstico.....	50
2.2.5. Efeitos Adversos e Recorrências.....	50
2.3. Cetoconazole.....	51
2.4. Hidroclorido de Selegilina (L-Denepryl).....	51
2.5. Outras Hipóteses Terapeuticas.....	51
<b>3. Tratamento Cirúrgico.....</b>	<b>52</b>
3.1. Hipofisectomia Transfenoidal para tratamento de Hiperadrenocorticismos Hipófise-Dependente.....	52



3.2. Adrenalectomia para o tratamento de Hiperadrenocorticismo Adrenal-Dependente.....	53
<b>IV. Estudo Retrospectivo: HAC canino e o Trilostano .....</b>	<b>54</b>
<b>1. Material e Métodos.....</b>	<b>54</b>
1.1. Estudo 1 .....	54
1.1.1. Animais e Sinais Clínicos.....	54
1.1.2. Análise Hematológica e Bioquímica.....	54
1.1.3. Testes Funcionais Endócrinos .....	55
1.1.4. Ecografia Abdominal.....	55
1.2. Estudos 2.....	55
1.2.1. Animais e Monitorizações .....	55
1.2.2. Sinais Clínicos .....	55
1.2.3. Parâmetros Bioquímicos.....	56
1.2.4. Teste de Estimulação com ACTH para Monitorização .....	56
1.3. Análise Estatística .....	56
<b>2. Resultados .....</b>	<b>57</b>
2.1. Estudo 1 .....	57
2.1.1. Animais e Sinais Clínicos.....	57
2.1.2. Hemograma.....	58
2.1.3. Análises Bioquímicas.....	59
2.1.4. Testes Funcionais Endócrinos e Ecografia Abdominal.....	61
2.2. Estudo 2 .....	63
2.2.1. Resultados Pré-tratamento .....	63
2.2.2. Após 10 a 20 Dias de Tratamento (15±3 dias).....	64
i) Sinais Clínicos.....	64
ii) Parâmetros Bioquímicos.....	64
iii) Parâmetros Endócrinos .....	65
2.2.3. Após 30 a 47 Dias de Tratamento (40±6 dias).....	66
i) Sinais Clínicos.....	66
ii) Parâmetros Bioquímicos.....	66
iii) Parâmetros Endócrinos .....	67
2.2.4. Após 90-150 Dias de Tratamento (113±18 dias).....	68
i) Sinais Clínicos.....	68
ii) Parâmetros Bioquímicos.....	68
iii) Parâmetros Endócrinos .....	69
2.2.5. Comparação Entre Monitorizações .....	70
i) Sinais Clínicos.....	70

ii) Parâmetros Bioquímicos.....	71
iii) Parâmetros Endócrinos .....	72
2.2.6. Resultados do Ionograma.....	75
2.2.7. Ajustamentos na Dose de Trilostano .....	76
2.2.8. FAS a 37°C Como Parâmetro de Monitorização .....	78
<b>3. Discussão de Resultados .....</b>	<b>81</b>
<b>Conclusão.....</b>	<b>95</b>
<b>Bibliografia.....</b>	<b>97</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>105</b>

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> - Fixador externo colocado por fractura femural .....	xviii
<b>Figura 2</b> – Radiografia coxo-femural, ventrodorsal (VD) evidenciando displasia da anca....	xix
<b>Figura 3</b> – Radiografia torácica, laterolateral (LL) direita evidenciando megaesofago.....	xix
<b>Figura 4</b> - Preparação de um felídeo, já sedado, para dádiva de sangue.....	xx
<b>Figura 5</b> - Esquema representativo da hipófise de um canídeo.....	4
<b>Figura 6</b> – Esquema representativo da adrenal de um canídeo.....	6
<b>Figura 7</b> – Esquema representativo da esteroidogénese.....	9
<b>Figura 8</b> – Esquema representativo da classificação etiológica do hiperadrenocorticismismo canino.....	12
<b>Figura 9</b> – Esquema representativo da fisiopatologia do hiperadrenocorticismismo hipófise-dependente.....	14
<b>Figura 10</b> – Esquema representativo da fisiopatologia do hiperadrenocorticismismo adrenal-dependente.....	15
<b>Figura 11</b> – Fotografia de um Schitzu com abdómen pendular e alopecia abdominal .....	18
<b>Figura 12</b> – Fotografia de um caniche com alopecia e hipotricose generalizada, não afectando os membros e a cabeça .....	20
<b>Figura 13</b> – Radiografia latero-lateral direita de um canídeo suspeito de HAC .....	29
<b>Figura 14</b> – <b>A)</b> Ecografia abdominal de um canídeo onde foi evidenciado um aumento da glândula adrenal esquerda <b>B)</b> Ecografia abdominal de um canídeo com fígado aumentado e hiperecogénico. ....	31
<b>Figura 15</b> - Esquema representativo das opções terapêuticas para o hiperadrenocorticismismo canino .....	40
<b>Figura 16</b> - Estrutura molecular do Trilostano.....	41
<b>Figura 17</b> - Esquema representativo da esteroidogénese (Church, 2008).....	42
<b>Figura 18</b> - Diagrama ilustrativo do diagnóstico de HAC na amostra.....	62
<b>Figura 19</b> - Diagrama ilustrativo da decisão de alteração da dose após 30-47 dias de tratamento com trilostano.....	76
<b>Figura 20</b> - Diagrama ilustrativo da decisão de alteração da dose após 90-150 dias de tratamento com trilostano.....	77

## Índice de Quadros

<b>Quadro 1</b> - Hormonas secretadas pela adenohipófise.....	4
<b>Quadro 2</b> - Acções dos fragmentos da POMC.....	7
<b>Quadro 3</b> – Incidência dos sinais clínicos observados no hiperadrenocorticismismo canino. ...	17
<b>Quadro 4</b> – Incidência das laterações laboratoriais observadas no hiperadrenocorticismismo canino.....	28
<b>Quadro 5</b> - Exames para diagnóstico de hiperadrenocorticismismo .....	32
<b>Quadro 6</b> - Interpretação dos resultados do teste de estimulação com ACTH.....	34
<b>Quadro 7</b> - Interpretação dos resultados do teste de supressão com dexametasona em dose baixa.....	36
<b>Quadro 8</b> - Comparação entre sensibilidade e especificidade dos principais testes funcionais endócrinos para diagnóstico de hiperadrenocorticismismo.....	37
<b>Quadro 9</b> - Intrepretação dos resultados do doseamento da concentração endógena de ACTH.....	39
<b>Quadro 10</b> - Doses iniciais de Vetoryl® (trilostano) recomendadas.....	43
<b>Quadro 11</b> - Alterações esperadas no perfil hematológico e bioquímico durante o tratamento de hiperadrenocorticismismo canino com trilostano .....	45
<b>Quadro 12</b> – Descrição estatística dos valores obtidos no hemograma. ....	58
<b>Quadro 13</b> - Descrição estatística dos valores obtidos nas bioquímicas sanguíneas .....	59
<b>Quadro 14</b> - Alterações nos parâmetros bioquímicos 30-47 dias após o início do tratamento com trilostano .....	67
<b>Quadro 15</b> - Alterações nos parâmetros bioquímicos 90-150 dias após o início do tratamento com trilostano. ....	69
<b>Quadro 16</b> - Alterações nos parâmetros bioquímicos 30-47 dias e 90-150 dias após o início do tratamento com trilostano.....	72
<b>Quadro 17</b> – Alterações nas concentrações de sódio e potássio durante o tratamento com trilostano. ....	75
<b>Quadro 18</b> - Comportamento da FAS e evolução dos sinais clínicos entre os 30-47 dias e os 90-150 após o início do tratamento com trilostano. ....	80

## Índice de Gráficos

<b>Gráfico 1</b> – Distribuição dos sinais clínicos da amostra, em percentagens.....	57
<b>Gráfico 2</b> – Distribuição das alterações sanguíneas da amostra compatíveis com hiperadrenocorticismismo, em percentagem. ....	59
<b>Gráfico 3</b> – Distribuição das alterações bioquímicas da amostra compatíveis com hiperadrenocorticismismo, em percentagem .....	60
<b>Gráfico 4</b> - Caixa de bigódes considerando os valores séricos de cortisol após teste de estimulação com ACTH, tendo em conta a apresentação ecográfica das adrenais. ....	62
<b>Gráfico 5</b> - Variações na quantidade de trilostano tendo em conta o peso.....	63
<b>Gráfico 6</b> - Frequência de melhorias nos sinais clínicos aos 10-20 dias após o início do tratamento com trilostano.....	64
<b>Gráfico 7</b> - Caixa de bigódes evidenciando as diferenças encontradas nos parâmetros bioquímicos antes do tratamento e 10-20 dias após o início do tratamento com trilostano...	65
<b>Gráfico 8</b> - Valores séricos de cortisol após estimulação com ACTH dos animais que realizaram monitorização antes do tratamento e dos animais que realizaram 10-20 dias após o início do tratamento com trilostano.....	66
<b>Gráfico 9</b> - Valores séricos de cortisol após estimulação com ACTH dos animais que realizaram monitorização antes do tratamento e dos animais que realizaram 30-47 dias após o início do tratamento com trilostano.....	68
<b>Gráfico 10</b> - Valores séricos de cortisol após estimulação com ACTH dos animais que realizaram monitorização antes do tratamento e dos animais que realizaram 90-150 dias após o início do tratamento com trilostano .....	70
<b>Gráfico 11</b> - Evolução dos principais sinais clínicos ao longo das monitorizações. ....	71
<b>Gráfico 12</b> - Valores séricos de cortisol após estimulação com ACTH dos animais que realizaram monitorização após 10-20 dias e dos animais que realizaram 30-47 dias após o início do tratamento com trilostano.....	73
<b>Gráfico 13</b> - Valores séricos de cortisol após estimulação com ACTH dos animais que realizaram monitorização após 30-47 dias e dos animais que realizaram 90-150 dias após o início do tratamento com trilostano.....	73
<b>Gráfico 14</b> - Caixa de bigódes evidenciando as diferenças encontradas nos valores de cortisol após estimulação com ACTH aos 30-47 dias e aos 90-150 dias após o início do tratamento com trilostano.....	74
<b>Gráfico 15</b> - Média dos valores séricos de cortisol antes ( $T_0$ ) e após ( $T_1$ ) a administração de ACTH durante as monitorizações .....	75
<b>Gráfico 16</b> – Gráficos de dispersão indicando a evolução da FAS tendo em conta o valor sérico de cortisol após estimulação com ACTH apresentado aos 30-47 dias ( <b>16-A</b> ) e aos 90-150 dias de tratamento com trilostano ( <b>16-B</b> ) .....	78

<b>Gráfico 17</b> - Caixa de bigódes evidenciando os valores de cortisol após estimulação com ACTH aos 90-150 dias tendo em conta a evolução da FAS dos 30-47 dias para os 90-150 dias após o início do tratamento com trilostano.....	79
<b>Gráfico 18</b> - caixa de bigódes evidenciando os valores da FAS tendo em conta a evolução dos sinais clínicos aos 30-47 dias ( <b>18-A</b> ) e aos 90-150 dias ( <b>18-B</b> ) após o início do tratamento com trilostano .....	80

## Índice de Abreviaturas

- ACTH: Hormona adrenocorticotrófica ou corticotrofina (*Adrenocorticotropic Hormone*)
- Acetil-CoA: Acetil-Coenzima A
- AEFMV: Associação de Estudantes da FMV-UTL
- ALT: Alanina aminotransferase
- AMPc: Adenosina-Monofosfato ciclico
- AST: Aspartato-amino-transferase
- AVP: Hormona Arginina-vasopressina
- BSV: Banco de Sangue Veterinario
- CBG: transcortina (*Corticosteroid Binding Globulin*)
- COX-2: Cicloxigenase 2
- CRH: Hormona libertadora da corticotrofina (*Corticotropin releasing hormone*)
- cm: centímetros
- DHEA: dehidroepiandrosterona
- DVP: *Dechra Veterinary Products*
- EDTA: acido etileno diaminotetracetico
- Eixo H-H-A: Eixo hipotálamo – hipófise – adrenal
- FAS: Fosfatase Alcalina Serica
- S-FAS: Isoenzima da fosfatase alcalina sérica estimulada por esteróides
- FMV: Faculdade de Medicina Veterinaria
- FSH: Hormona Foliculo-estimulante (*Follicle Stimulating Hormone*)
- ft<sub>3</sub>– triiodotironina livre
- GH: Hormona do Crescimento (*Growth Hormone*)
- GHRH: hormona libertadora da hormona do crescimento (*Growth Hormone Releasing Hormone*)
- GnRH: hormona libertadora de gonadotrofinas (*Gonadotropin Releasing Hormone*)
- GR: Receptores citosólicos de tipo II (para glucocorticoides)
- HAC: Hiperadrenocorticismo
- HAC-AD: Hiperadrenocorticismo adreno-dependente
- HAC-HD: Hiperadrenocorticismo hipofiso-dependente
- HAC-Ia: Hiperadrenocorticismo iatrogénico
- IECA: Inibidor da enzima conversora da angiotensina
- IL: interleucina
- ITU: Infecções Recorrentes do Trato Urinário
- IV: via de administração endovenosa
- LDL: Lipoproteinas de baixa densidade (*Low Density Lipoproteins*)
- LH: Hormona Luteinizante (*Luteinizing hormone*)

LTH: Prolactina  
MR: Receptores citosolicos de tipo I (para minelarcorticoides)  
mg/dl: miligrama / decilitro  
mml/l: milimol / litro  
OVH: Ovariohisterectomia  
PF: Polifagia  
PGF<sub>2</sub>: Prostaglandinas F2  
POMC: Pre-opiomelanocortina  
PRA:PAC: rácio concentração plasmática de aldosterona:actividade plasmática de renina  
PTH: Paratormona  
PU/PD: Poliuria e Polidipsia  
Racio P/B: rácio da altura da hipófise pela área do cérebro (*Ratio Pituitary/Brain*)  
RM: Ressonância Magnética  
RNAm: RNA mensageiro  
RNa:K: Rácio Sódio/Potássio  
RCCU: Rácio Cortisol/Creatinina Urinário  
RPCU: Racio Proteína/Creatinina Urinário  
S-ALP: Fosfatase alcalina induzida por esteroides (*Steroid Induced Alkaline Phosphatase*)  
SARDS: Síndrome da degenerescência aguda adquirida da retina (*Sudden Acquired Retinal Degeneration Syndrome*)  
SNC: Sistema Nervoso Central  
SRD: Sem raça determinada  
T<sub>3</sub>: Triiodotironina  
T<sub>4</sub>: Tiroxina  
tT<sub>3</sub> – triiodotironina total  
TAC: Tomografia Axial Computorizada  
TE-ACTH: Teste de Estimulação com ACTH  
TRH: Hormona libertadora da tireotrofina (*Thyrotropin releasing hormone*)  
TSDDA: Teste de supressão com dexametasona em dose alta  
TSDDB: Teste de supressão com dexametasona em dose baixa  
TSH: Tirotrófina (*Thyroid Stimulating Hormone*)  
UTL: Universidade Tecnica de Lisboa  
UI/L: Unidades internacionais / litro  
 $\alpha$ -MSH: Hormona melanocito-estimulante tipo  $\alpha$  ( $\alpha$  – *Melanocyte Stimulating Hormone*)  
 $\beta$  -MSH: Hormona melanocito-estimulante tipo  $\beta$  ( $\beta$  – *Melanocyte Stimulating Hormone*)  
 $\beta$ -LPH: beta lipotrofina ( $\beta$ -*Lipotrophin Hormone*)  
 $\mu$ g/dL: picograma / decilitro  
3- $\beta$ -HSD: 3- $\beta$ -hidroxiesteroide-desidrogenase



11 $\beta$ -HSD: 11 $\beta$ -hidroxisteróide desidrogenase

## Actividades no Estágio Curricular

O autor da presente dissertação realizou o estágio curricular no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa (FMV-UTL) sob a orientação da Professora Doutora Maria Teresa da Costa Mendes Vítor Villa de Brito e a co-orientação da Doutora Joana Vidal Pontes. O estágio teve início no dia 28 de Setembro de 2009 e terminou no dia 2 de Abril de 2010.

Durante o tempo de estágio, o aluno teve a oportunidade de executar tarefas nas várias áreas do referido Hospital, nomeadamente na medicina interna, na cirurgia, no internamento, na imagiologia e no serviço do Banco de Sangue Veterinário, tendo atingido a carga horária de aproximadamente 1094 horas.

Os principais interesses do aluno foram as consultas de endocrinologia e a medicina transfusional praticada pelo serviço do Banco de Sangue Veterinário, e ainda a prática de ecografia abdominal, sob a orientação da Dr.<sup>a</sup> Joana Vidal Pontes.

### ➤ **Medicina Interna**

Na medicina interna, o aluno participou activamente nas consultas externas, realizando a história pregressa e o exame físico do animal juntamente com o clínico. Posteriormente eram discutidos quais os exames complementares de diagnóstico e o tratamento mais acertado para cada caso clínico. Entre os tipos de consulta externa, o autor assistiu a consultas de animais jovens e consultas de vacinação (15%), consultas de urgência (10%), consultas de especialidades e consultas de seguimento (75%). Dentro das consultas de especialidades assistiu a consultas de oftalmologia, dermatologia, cardiologia, neurologia, ortopedia, comportamento animal e consultas de animais exóticos. O autor ocupou 630 horas da carga horária total na medicina interna.

Nas consultas de endocrinologia assistiu a 20 casos de hiperadrenocorticismismo canino, 17 casos de Diabetes Mellitus canino (12) e felino (5), 1 de hipertiroidismo felino e 7 casos de hipotiroidismo canino.

### ➤ **Cirurgia**

Nesta área, o aluno assistiu durante 100 horas da carga horária total a diversos procedimentos cirúrgicos, tendo desempenhado diversas funções: preparação cirúrgica do animal, anestesia, controlo da anestesia e como ajudante cirúrgico. Sobre a supervisão dos cirurgiões executou suturas epidérmicas, orquiectomias de gatos, e ovariohisterectomias a cadelas. Das cirurgias assistidas destacam-se duas cesarianas caninas e uma felina, uma esplenectomia canina, remoção cirúrgica de cadeias mamárias felinas e caninas, devido a neoplasia mamária, resolução de hérnias discais, destartarizações, resolução de ruptura da

vesícula biliar, resolução de fracturas no fémur com placa e parafusos e com fixadores externos (figura 1), resolução de ruptura de ligamento cruzado cranial de um cão, amputação de membro anterior de um gato devido a osteossarcoma, mandibulectomia de um cão consequente de osteossarcoma, entre outras.

Durante o pós-operatório, o aluno realizou pensos e acompanhou os pacientes durante o recobro. Posteriormente acompanhou consultas de seguimento onde foi avaliada a evolução da cicatrização, e realizada a mudança de pensos e remoção pontos quando necessário.

**Figura 1** - Fixador externo colocado por fractura femural. Foto original



#### ➤ Internamento

Durante o tempo de internamento, foram realizados turnos de 12 horas e de 24 horas, num total de 190 horas. Durante o internamento foram realizadas actividades como monitorização dos sinais clínicos dos animais, administrações orais, intravenosas (IV) e intramusculares (IM) de medicamentos, mudanças de cateter, colheitas de sangue para análise, passeio dos pacientes e alimentação dos mesmos, por vezes através de tubos naso-gástricos quando assim o exigiam, e ainda manutenção da higiene de cada um. As mudanças de pensos, a oxigenoterapia e a fisioterapia foram outros procedimentos realizados.

#### ➤ Imagiologia

Nesta área o aluno ocupou 140 horas da carga horária total e desempenhou actividades na radiografia, na Tomografia Axial Computorizada (TAC) e na ecografia, sendo a última onde adquiriu mais prática pelo tempo que aí dispensou. Na radiografia avaliou várias radiografias, tendo verificado a importância deste exame como meio complementar de diagnóstico. Foram observadas radiografias torácicas e abdominais nas projecções ventrodorsais, dorsoventrais e laterolaterais esquerdas e direitas, radiografias cervicais laterolaterais com papa baritada para diagnóstico de megaesófago (figura 2), radiografias vertebrais cervicais, torácicas e lombares laterolaterais com anestesia e injeção de meio de contraste para diagnóstico de hénias discas (mielografias), radiografias ortopédicas,

nomeadamente coxo-fémurais ventrodorsais com sedação para despiste de displasia da anca (figura 3) e de membros para averiguar a presença de fracturas ou luxações. Observou também radiografias pré e pós-cirúrgicas destas patologias para verificar a eficácia da cirurgia quando foi necessária.

Na prática da ecografia, o aluno obteve prática com o acompanhamento da Co-orientadora Dr.<sup>a</sup> Joana Vidal Pontes, discutindo com a mesma os dados ecográficos em cada caso e o possível diagnóstico. Durante o tempo aí dispendido, observou torções e rupturas de baço, linfonodos mesentéricos aumentados sugestivos de linfoma, punção ecoguiada de linfonodos, quistos prostáticos sugestivos de neoplasia, adrenais aumentadas sugestivas de hiperadrenocorticismismo hipófiso-dependente, invaginação intestinal, dados ecográficos compatíveis com hiperadrenocorticismismo, obsevação ecográfica das glândulas tiróides para diagnóstico de hipotiroidismo, dados ecográficos compatíveis com ruptura de vesícula biliar ou de bexiga, entre outros.

Na TAC, o aluno participou activamente na preparação do animal e na monitorização da anestesia durante o exame. A película era depois interpretada com o apoio do clínico de serviço, tendo em conta as manifestações clínicas do animal.

**Figura 2** – Radiografia coxo-femural, ventrodorsal (VD), evidenciando um animal com displasia da anca. Película cedida pelo Hospital Escolar da FMV-UTL.



**Figura 3** – Radiografia torácica, laterolateral (LL) direita, de um animal com megaesófago. Película cedida pelo Hospital Escolar da FMV-UTL.



Legendas: **figura 2** – trata-se de um animal, sem raça definida (SRD), com 1 ano, macho, que se apresentou à consulta com dificuldades locomotoras, principalmente dos membros posteriores. Note-se que a radiografia é compatível com displasia da anca pois nenhuma das cabeças femurais se encontra devidamente articulada com acetábulo correspondente. Existe algum grau de luxação; **Figura 3** – animal com 5 meses, de raça Pug, que surgiu à consulta por apresentar regurgitação após ingestão de sólidos ou líquidos. Após raio x, verificou-se presença de um esófago dilatado com ingesta no seu interior.

### ➤ Serviço no Banco de Sangue Veterinário (BSV)

Além das áreas descritas, o aluno mostrou interesse pela medicina transfusional e pelas dádivas de sangue, passando a auxiliar a equipa do BSV do Hospital Escolar. Neste serviço, o autor recebeu casos clínicos felinos e caninos, realizou a história pregressa e o exame físico dos mesmos e efectuou a sedação e posterior colheita de sangue dos animais (figura 4). Para além dos dadores voluntários, caninos e felinos, adquiridos no Hospital Escolar, o autor teve o privilégio de seguir animais dadores da Força Aérea e de instituições de acolhimento, como a associação São Francisco de Assis, deslocando-se até lá para a realização das colheitas. Colheitas a equinos da FMV-UTL foram também realizadas durante o tempo de estágio do aluno.

No laboratório do BSV, o aluno realizou tipificações sanguíneas em gatos e em cães, realizou testes rápidos para o despiste de doenças infecto-contagiosas e processou unidades de sangue de modo a obter concentrados de eritrócitos e plasmas de gato, de cão e de equino.

**Figura 4** - Preparação de um felídeo, já sedado, para dádiva de sangue. Foto original



### ➤ Outras Actividades durante o Estágio Curricular

Nas XXXIII Jornadas da Associação de Estudantes da FMV-UTL (AEFMV), subordinada ao tema “Gastroenterologia e Endocrinologia”, o autor auxiliou o workshop de “Ecografia Abdominal em Animais de Companhia”. No “VI Congresso Hospital Veterinário Montenegro – Emergências Veterinárias” realizou um poster juntamente com a colega Diana Ferreira e os Doutores Rodrigo Bom, Rodolfo Leal, Cristina Almeida e Joana Pontes. O tema foi “Ruptura de Vesícula Biliar em canídeo: uma urgência rara. o qual foi premiado com o 1º lugar no concurso de Posters cujo tema era referente ao tema do congresso (Anexo 1). Realizou ainda um panfleto informativo sobre o hiperadrenocorticismismo canino (Anexo 2). Pelo BSV, o aluno participou na apresentação do serviço no mês de Fevereiro durante uma visita de estudo de várias escolas do ensino secundário, incluídas no projecto “À Descoberta das Rotas Matemáticas na UTL”. Participou também no artigo “*Frequency of blood type A, B,*

*and AB in 515 domestic shorthair cats from the Lisbon area*” por publicar na “Veterinary Clinical Pathology”. Em 2010 participou ainda com a equipa do BSV no workshop “Medicina transfusional em cães e gatos” incluído nas “XXXIV Jornadas da AEFMV-UTL”.



## INTRODUÇÃO

A Síndrome de Cushing, denominada também de Hiperadrenocorticismo (HAC), é uma doença que engloba um conjunto de manifestações clínicas muito características resultantes da exposição crónica do organismo a concentrações circulantes elevadas de glucocorticoides. Esta alteração endócrina foi descrita pela primeira vez em humanos (Cushing, 1932. Citado por Grossman, 2004), e posteriormente também foi descrita em animais domésticos, como o cão.

Em Medicina Veterinária, o HAC é uma das afecções endócrinas mais frequente em canídeos (Capen & Martin, 1975). Em analogia aos humanos, a espécie canina sofre igualmente alterações fisiológicas que podem ser verificadas através dos vários exames complementares de diagnóstico, nomeadamente o hemograma, as bioquímicas sanguíneas e a ecografia abdominal, visto que o excesso circulante de glucocorticoides provoca alterações fisiopatológicas em vários compartimentos orgânicos. O diagnóstico definitivo é apenas possível com a realização de testes funcionais endócrinos (Behrend & Kemppainen, 2001).

O tratamento de Hiperadrenocorticismo deve ser ponderado e baseado na etiologia e nos sinais clínicos apresentados pelos pacientes, assim como nos resultados dos exames de diagnóstico. A terapêutica pode ser cirúrgica ou médica. Como opção cirúrgica existe a hipofisectomia, apesar de não ser praticada em Portugal. É uma escolha eficiente na medida em que é curativa, eliminando a causa do hiperadrenocorticismo hipofise-dependente (HAC-HD), mas tem as suas desvantagens. Também a adrenalectomia é uma opção terapêutica cirúrgica para os pacientes com hiperadrenocorticismo adrenal-dependente (HAC-AD), mas também pouco praticada em Portugal. Ao se optar pelo tratamento médico, existem várias opções à disposição. São exemplo o Mitotano, em tempos uma das principais escolhas e, recentemente, o Trilostano. Este composto é um esteróide sintético, antagonista competitivo da enzima  $3\beta$ -hidroxisteróide desidrogenase ( $3\beta$ -HSD), a qual é imprescindível para a transformação de pregnenolona em progesterona (Ramsey, 2010; Church, 2006). O trilostano foi descrito pela primeira vez em 1970 (Neumann, Potts, Rayan, & Stonner, 1970. Citado por Ramsey, 2010), num estudo sobre componentes com acção inibitória na actividade adrenal. Posteriormente foi experimentado no tratamento de algumas doenças em Medicina Humana, como a Síndrome de Cushing. Contudo, devido à existência de melhores escolhas terapêuticas, e à necessidade de uma dose elevada para causar efeito, não é a opção mais adequada actualmente (Dewis, Anderson, Bu'lock, Earnshaw, & Kelly, 1983). Tem-se mostrado eficaz no tratamento de hiperadrenocorticismo canino, tendo aumentado a sua utilização em medicina veterinária desde 1998 (Hurley, Sturgess, Cauvin, & Kuipers, 1998). No Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa o



trilostano é, actualmente, a escolha de primeira linha para o tratamento desta endocrinopatia.

A presente Dissertação tem como base uma abordagem global ao diagnóstico do hiperadrenocorticismismo canino, e uma abordagem aos efeitos do uso do trilostano no seu tratamento, de modo a verificar a sua eficácia. Trata-se de um estudo retrospectivo que engloba 20 casos clínicos do Hospital Escolar da F.M.V.-U.T.L., diagnosticados com hiperadrenocorticismismo através de testes funcionais endócrinos. Na primeira parte do trabalho, foi realizada uma caracterização da amostra incidindo sobre os sinais clínicos, sobre as análises hematológicas e bioquímicas, sobre as imagens ecográficas dos cães suspeitos de hiperadrenocorticismismo e ainda sobre os resultados dos testes endócrinos. Numa segunda fase avaliou-se a evolução de 13 pacientes que iniciaram tratamento com trilostano e foram monitorizados através da avaliação dos sinais clínicos, de algumas análises bioquímicas e do teste de estimulação com ACTH.

# I. HIPÓFISE E ADRENAIS: Anatomia e Fisiologia

## 1. Hipófise: Morfologia

A hipófise é uma glândula endócrina que, num cão de tamanho médio, mede cerca de 1cmx0,75cmx0,5cm, e está situada na fossa hipofisária da *sella turcica* (Getty, 2000; Dyce, Sach, & Wensing, 2004). Este órgão encontra-se unido anatomicamente, mas diferencia-se em dois lobos, funcionalmente diferentes, devido à sua origem embriológica dupla (Bacha Jr. & Bacha, 2000; Rijnberk, 1996): O lobo anterior (ou adenohipófise), que tem origem na bolsa de Rathke, a qual se origina a partir da ectoderme do tecto da boca primitiva, e o lobo posterior (ou neurohipófise), que se origina a partir de uma evaginação ventral da ectoderme neural do assoalho do diencéfalo.

### 1.1. Adenohipófise

A adenohipófise é a porção hipofisária mais importante na regulação hormonal e encontra-se dividida estrutural e funcionalmente em 3 partes distintas, de acordo com a zona da Bolsa de Rathke da qual provêm (Jones, Hunt, & King, 1997; Junqueira & Carneiro, 2004) (figura 5):

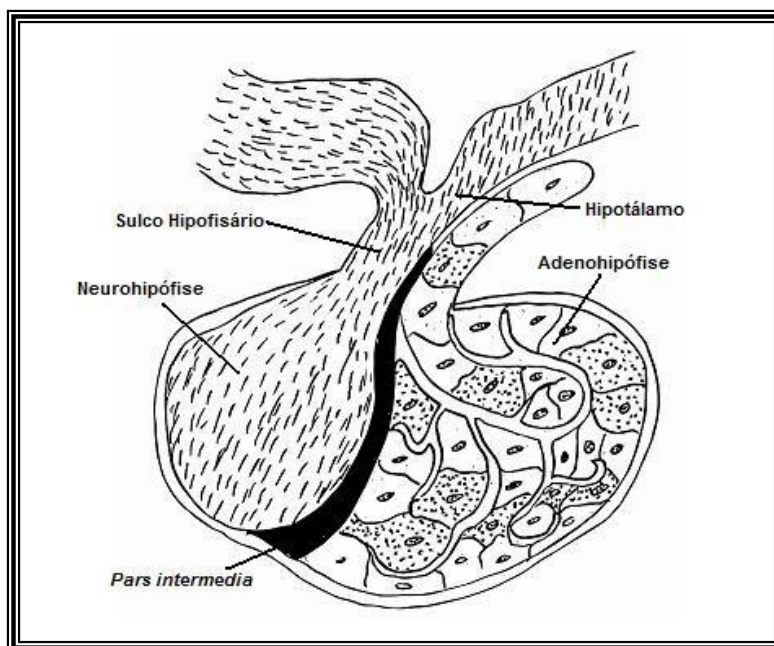
- *Pars Distalis*: desenvolve-se a partir da parede anterior da Bolsa de Rathke e é a parte maioritária da adenohipófise. É composta por células parenquimatosas que podem ser acidófilas, basófilas e cromóforas, dispostas em grupos irregulares separados por capilares e tecido conjuntivo. Numa classificação imunohistoquímica existem cinco subtipos de células, cada um classificado de acordo com a sua síntese e secreção (quadro 1).
- *Pars Intermedia*: encontra-se em contacto directo com a neurohipófise e está separada da *pars distalis* por um sulco remanescente da bolsa de Rathke – a cavidade hipofisária. A *pars intermedia* tem origem na parte posterior da bolsa de Rathke e possui células melanotróficas tipo A e B. Ambas sintetizam o precursor pró-opiomelanocortina (POMC), mas diferenciam-se de acordo com a sua secreção final (ver 3.1 – Regulação hormonal).
- *Pars Tuberalis*: É uma porção mínima que provém de uma extensão dorsal da *pars distalis* e encontra-se a rodear o sulco hipofisário (infundíbulo). É composta por células justapostas com receptores para a melatonina, que pode ocasionalmente apresentar cavidades quísticas.

**Quadro 1** - Hormonas secretadas pela adenohipófise.

Tipo Celular	Hormona Secretada
<b>Lactotróficas (acidófilas)</b>	LTH
<b>Gonadotróficas (basófilas)</b>	FSH LH
<b>Corticotróficas (Basófilas)</b>	ACTH
<b>Somatotróficas (acidófilas)</b>	GH
<b>Tiroidotróficas (basófilas)</b>	TSH

Legenda: ACTH: Corticotrofina; FSH: Hormona Estimuladora do Folículo; GH: Hormona do Crescimento LH: Hormona Luteinizante; LTH: Prolactina; TSH: Hormona Estimuladora da Tiróide. Adaptado de Jones *et al* (1997)

**Figura 5** - Esquema representativo da Hipófise de um canídeo.



## 1.2. Neurohipófise

É a parte da hipófise envolvida no sistema hipotalâmico-neurohipofisário, sendo constituída pelos axónios dos neurónios hipotalâmicos e por células gliais (pituicitos). Está subdividida no infundíbulo, na fossa hipofisária e no lobo nervoso. A sua função é apenas de armazenamento e transferência de oxitocina (OT) e arginina-vasopressina (AVP) do hipotálamo para os axónios neurosecretores (Jones *et al*, 1997).

## 2. Adrenais: Morfologia

Contrariamente ao termo Suprarrenais comumente utilizado em Medicina humana, nos animais quadrúpedes é preferencialmente utilizado o termo adrenais, devido à sua posição anatómica (Getty, 2000). As glândulas adrenais têm uma cápsula de tecido conjuntivo e geralmente estão envoltas por tecido retroperitoneal. Cada uma das glândulas apresenta-se numa localização craniomedial ao rim correspondente. Nos caninos medem em média 2,0 a 3,0 cm de comprimento, 1,0 cm de largura e 0,5 cm de espessura (Dyce *et al*, 2004).

A glândula adrenal esquerda é a maior anatomicamente e tem forma bilobada. Mantém relações anatómicas com a aorta ao nível do bordo medial, com a superfície medial do rim ao nível do bordo lateral, com a parede abdominal ao nível da superfície dorsal e com a extremidade esquerda do pâncreas ao nível da superfície ventral (Nayland, Mattoon & Wisner, 2002; Dyce *et al*, 2004).

A glândula adrenal direita apresenta forma triangular, também bilobada. Tal como o rim correspondente, encontra-se mais cranial que a adrenal esquerda. Situa-se junto ao bordo medial do rim, cranialmente ao hilo renal e com o seu ápice direccionado caudalmente.

Contacta ainda anatomicamente com a veia frénico-abdominal dorsolateralmente (Dyce *et al*, 2004).

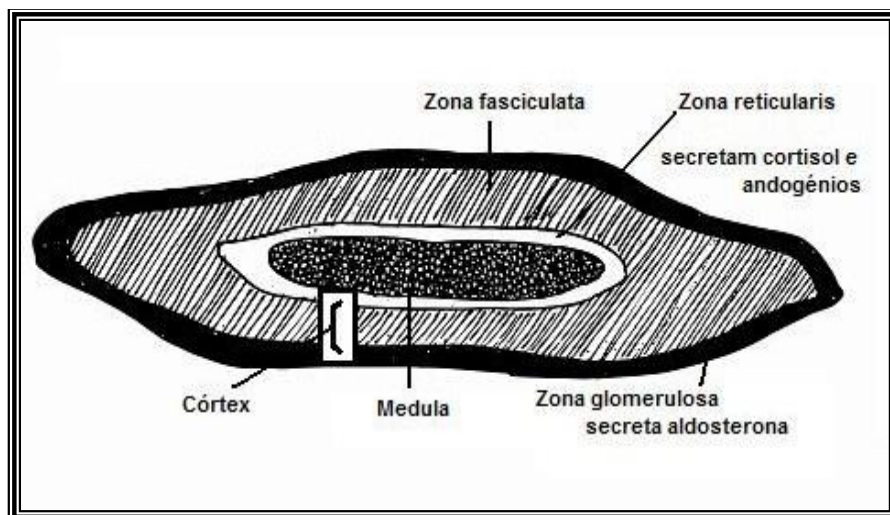
As adrenais dividem-se histologicamente numa camada cortical e numa camada medular. O córtex tem origem embrionária na mesoderme, a partir do epitélio celomático, e a medula na neuroectoderme, a partir de células da crista neural. As camadas têm morfologia e funções diferentes, podendo mesmo ser consideradas órgãos endócrinos independentes (Rijnberk, 1996; Junqueira & Carneiro, 2004).

## 2.1. Córtex Adrenal

O córtex da adrenal é responsável pela secreção de glucocorticóides, mineralocorticóides e androgénios, e encontra-se subdividido histológica e fisiologicamente em três zonas distintas (figura 6) (Jones *et al*, 1997; Getty, 2000; Junqueira & Carneiro, 2004):

- *Zona glomerulosa*: representa aproximadamente 15% do córtex, situa-se logo abaixo da cápsula e as células que a constituem apresentam forma piramidal ou colunar. É a única camada que possui as enzimas necessárias para a desidrogenação de 18-desoxicorticosterona, permitindo a síntese de mineralocorticóides, sendo o principal a aldosterona. Por outro lado, não possui a capacidade de síntese de esteróides, por ausência da enzima 17 $\alpha$ -hidroxilase;
- *Zona fasciculata*: segue-se à anterior, e as suas células secretoras estão agrupadas em forma de cordões dispostos perpendicularmente à superfície da glândula e intercalados por capilares sanguíneos. Esta camada, juntamente com a *Zona Reticularis*, tem como função a secreção de glucocorticóides como o cortisol (principal), pois ambas possuem a enzima 17 $\alpha$ -hidroxilase, permitindo sintetizar 17 $\alpha$ -hidroxipregnanolona e 17 $\alpha$ -hidroxiprogesterona, que são os componentes precursores do cortisol e androgéneos. A sua área ocupa aproximadamente 70% do córtex adrenal;
- *Zona Reticularis*: trata-se da zona mais interna e é a mais pequena comparativamente às outras camadas, representando menos de 15% do córtex. As células secretoras que a constituem são menores mas semelhantes às encontradas na *zona fasciculata*, estando dispostas em pequenos grupos rodeados por capilares. Os seus produtos são também glucocorticoides (cortisol) e ainda alguns esteróides sexuais (androgénios).

**Figura 6** – Esquema representativo da adrenal de um canídeo.



## 2.2. Medula Adrenal

A medula das adrenais encontra-se internamente dentro do órgão, contactando com a veia frênico-abdominal que passa no seu interior. É composta por células poliédricas, cromafins, organizadas em cordões que são sustentados por uma camada de fibras reticulares. São equiparadas aos neurónios pós-ganglionares devido à origem comum na crista neural, mas durante o desenvolvimento embrionário tornam-se células secretoras. Estas células têm como função a secreção de catecolaminas, sendo a principal a adrenalina (ou epinefrina), e ainda a noradrenalina (ou norepinefrina). Há evidências de que há dois tipos de células na medula adrenal, tendo em conta o produto final de secreção, adrenalina ou noradrenalina (Getty, 2000).

## 3. Glucocorticóides e o Eixo Hipotalâmico-Hipofisário-Adrenal

### 3.1. Regulação Hormonal

O Hipotálamo e a Hipófise são dois órgãos intimamente unidos não só anatomicamente, mas também funcionalmente, formando uma entidade que ao agir sobre o córtex adrenal, regula a síntese e libertação de hormonas esteróides, tais como os glucocorticóides. As principais hormonas envolvidas neste eixo são a hormona libertadora de corticotrofina (CRH, *Corticotropin Releasing Hormone*), a hormona adrenocorticotrófica (ACTH, *Adrenocorticotropic Hormone*) e as hormonas esteróides, nomeadamente glucocorticóides, e menos influenciados, mineralocorticóides e androgéneos (Rijnberk, 1996).

A adenohipófise mantém contacto com o hipotálamo através de um sistema porta hipofisário e do tracto tuberoinfundibular (Jones *et al*, 1997). Com efeito, os neurotransmissores produzidos no hipotálamo e no SNC (Sistema Nervoso Central), tais como a AVP e a CRH estimulam a adenohipófise a secretar a ACTH.

A ACTH é uma hormona peptídica de cadeia única com 39 aminoácidos, que tem origem na clivagem da sua precursora, a Pro-Opiomelanocortina (POMC), e a sua síntese tem lugar na *pars distalis* e na *pars intermedia* (Jones *et al*, 1997; Melián, Pérez-Alenza, & Peterson, 2010). A POMC dá também origem a outros fragmentos biologicamente activos (quadro 2). Tanto a *pars distalis* como a *pars intermedia* sintetizam a POMC, mas os produtos finais e a regulação da secreção de ACTH difere nestas duas porções. Apenas as células da *pars distalis* e as células B da *pars intermedia* libertam ACTH. A libertação de ACTH pela *pars distalis* é regulada principalmente pela estimulação de CRH e pelo mecanismo de feedback negativo efectuado pelos glucocorticoides (cortisol). Na *pars intermedia*, a regulação da libertação é levada a cabo pela inibição dopaminérgica. Contudo pode ocorrer estimulação das células B pela CRH (Zerbe, 1999).

A *pars distalis* é a zona hipofisária que mais influencia a quantidade de ACTH circulante. No entanto, Zerbe (1999) refere que a ACTH proveniente da *pars intermedia* pode ser relevante nalguns tumores hipofisários, e num estudo de Kooistra, Greven, Mol e Rijnberk (1997) verificou-se que a *pars intermedia* contribui para a ACTH circulante.

Após a sua secreção, a ACTH entra em circulação até atingir o córtex adrenal. Aí, estimula as células das zonas *fasciculata* e *reticularis* a produzirem glucocorticóides.

**Quadro 2** - Acções dos fragmentos da POMC. Adaptado de Rijnberk, 1996; Cunningham, 1999.

<b>Fragmentos da Pro-Opiomelanocortina</b>	<b>Origem</b>	<b>Acção Biológica</b>
<b>ACTH</b>	<i>Pars distalis</i> e células B da <i>pars intermedia</i>	Estimula as adrenais a produzir glucocorticóides
<b>β – Lipoproteína</b>	<i>Pars distalis</i> e células B da <i>pars intermedia</i>	Não conhecida
<b>β – Endorfina</b>	<i>Pars distalis</i> e células B da <i>pars intermedia</i>	Não conhecida
<b>α – Melanocito-Estimulante</b>	Células A da <i>pars intermedia</i>	Estimula a produção de melanina pelos melanócitos da pele e cabelo
<b>β – Melanocito-Estimulante</b>	Células A da <i>pars intermedia</i>	Estimula a produção de melanina pelos melanócitos da pele e cabelo
<b>Fragmento N-terminal</b>	Células A da <i>pars intermedia</i>	Estimula a mitogénese adrenocortical

### 3.2. Síntese e Secreção de Glucocorticóides

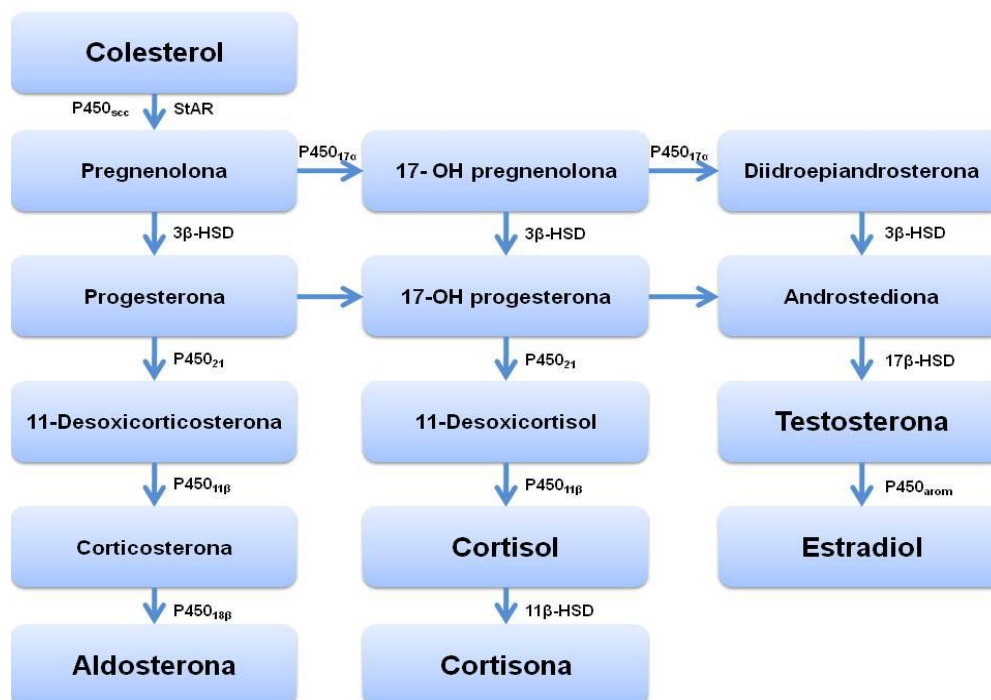
Os glucocorticóides são hormonas esteróides, portanto lipofílicas. São exemplos a corticosterona e o cortisol, o qual é o mais importante, tanto no homem como no cão. Os seus efeitos são vários, entrando no metabolismo proteico, glucido e lipídico.

Como todas as hormonas esteróides, os glucocorticóides derivam principalmente do colesterol. As lipoproteínas de baixa densidade (LDL, *Low Density Lipoprotein*) entram nas células adrenocorticais através de receptores de membrana existentes nestas, e a partir da catabolização das LDL, o colesterol é libertado, podendo ser utilizado directamente na esteroidogénese ou armazenado na forma de éster no interior da célula. Os esteróides podem também ser sintetizados *de novo* a partir do acetato, mas em menor quantidade (Cunningham, 1999).

A síntese e secreção de cortisol depende directamente das concentrações plasmáticas de ACTH. Esta liga-se a um receptor de membrana específico – proteína G – existente nas células adrenocorticais, activando a enzima Adenosil-ciclase, que aumenta os níveis de Adenosina-Monofosfato cíclico (AMP-c). Este activa a proteína cinase A, que cataliza a fosforilação de determinadas proteínas, modificando a sua acção no sentido de promover a síntese de glucocorticóides: 1) estimula a captação de LDL e a hidrólise dos ésteres de colesterol, permitindo o aumento de colesterol livre para utilização, 2) estimula a proteína StAR, a qual potencia a disponibilidade de colesterol, e 3) promove o transporte de colesterol para o interior da mitocôndria e a sua ligação à enzima hidroxilase C-21. Relativamente à esteroidogénese, as enzimas envolvidas pertencem à família das citocromo P-450 oxigenases, entrando em todas as tranformações enzimáticas até ao cortisol. A primeira fase da síntese de glucocorticóides e dos restantes esteróides ocorre no interior da mitocôndria e consiste na clivagem enzimática do colesterol num esteróide de 21 átomos de carbono, a pregnenolona, a qual é um precursor comum a todos os esteróides. Esta pode seguir diferentes vias esteroidogénicas para dar origem aos diferentes esteróides. Nas células das zonas *fasciculata* e *reticularis*, a pregnenolona sofre uma acção de hidroxilação pela 17 $\alpha$ -hidroxilase (P450<sub>17 $\alpha$</sub> ), dando origem à 17 $\alpha$ -hidroxipregnenolona, precursor comum aos androgéneos adrenais e aos glucocorticóides (Rijnberk, 1996; Cunningham, 1999;) (figura 7).

Tanto o cortisol como os outros estrogénios adrenais são sintetizados e libertados simultaneamente após a estimulação pela ACTH, não havendo níveis de armazenamento nas células produtoras (Cunningham, 1999; Goodman, 2003).

**Figura 7** – Esquema representativo da esteroidogênese. Adaptado de Herrtage, 2004; Ramsey, 2010



Legenda: P450 - Enzimas da família do citocromo P450 intervenientes na esteroidogênese: P450<sub>scc</sub> – enzima clivadora da cadeia principal de colesterol (*Side Chain Clivage*); P450<sub>17α</sub> - 17α hidroxilase; P450<sub>21</sub> – 21 hidroxilase; P450<sub>11β</sub> - 11β hidroxilase; P450<sub>18β</sub> - 18β hidroxilase; 3β, 11β e 17β-HSD – Sistemas 3β, 11β e 17β-hidroxisteróide desidrogenase/isomerase.

### 3.3. Transporte, Distribuição e Eliminação de Glucocorticóides

Após a sua secreção, os glucocorticóides necessitam de se ligar a proteínas plasmáticas, devido à sua lipofilia. Cerca de 75% do cortisol encontra-se ligado a uma globulina específica – transcortina (*Corticosteroid Binding globulin, CBG*) e cerca de 15% estão ligados à albumina e também a alguns eritrócitos. No cão, 5% a 12% dos glucocorticóides totais encontram-se na forma livre, ou seja, com acção biológica (Rijnberk, 1996). Estas proteínas plasmáticas têm uma função importante na medida em que condicionam a disponibilidade de cortisol a ser utilizado e evitam a sua depleção total, mantendo o equilíbrio sanguíneo.

O tempo de semi-vida dos glucocorticóides é longo, aproximadamente 60 minutos, devido à sua ligação às proteínas. O fígado, principal órgão envolvido no metabolismo destas hormonas, promove glucurono- e sulfo-conjugações, reduzindo a acção biológica dos glucocorticóides e tornando-os hidrossolúveis. Estes são assim facilmente filtrados pelos glomerulos renais e eliminados na urina (Cunningham, 1999).

### 3.4. Mecanismo de Acção dos Glucocorticóides

São vários os compartimentos orgânicos nos quais as hormonas glucocorticóides têm efeito. Como hormonas lipofílicas, têm a capacidade de penetrar a membrana plasmática das células-alvo. No citoplasma interagem com receptores citosólicos específicos do tipo I (MR) para mineralocorticóides e receptores do tipo II (GR) para glucocorticóides (Rijnberk, 1996).



Ambos têm afinidade para o cortisol, mas este só tem efeito quando ligado a receptores GR. O complexo cortisol-receptor é transportado até ao núcleo, onde promove a transcrição de genes e proteínas específicas capazes de efectuar assim a sua acção biológica. Como já referido, o cortisol tem efeito metabólico sobre os lípidos, glúcidos e proteínas, afectando em particular também as células sanguíneas e as funções imunológicas (Capen, 1993).

A nível dos glúcidos, o cortisol tem efeito estimulante na gluconeogénese hepática, aumentando a actividade de algumas enzimas. Por outro lado promove também resistência à insulina, o que leva a uma diminuição da captação e do metabolismo da glucose no tecido adiposo, no tecido linfóide e nos fibroblastos. Consequentemente há um aumento do catabolismo glucídico, principalmente no tecido adiposo e muscular. O seu efeito hiperglicemiante, quando em excesso, pode mesmo levar a glicosúria (Herrtage, 2004).

No que respeita ao metabolismo lipídico, o cortisol estimula a lipólise, potenciando a acção das hormonas activadoras da lipase, como a glucagina, a adrenalina e a hormona do crescimento (*Growth Hormone*, GH). Há um aumento dos ácidos gordos livres, que sofrem oxidação, e aumenta a Acetil-Coenzima A (Acetil-CoA), a qual aumenta a enzima piruvato carboxilase, necessária no ciclo da gluconeogénese. Além destas alterações, pode haver uma redistribuição de gordura para o fígado e abdómen (Cunningham, 1999; Silva, 2005).

O catabolismo proteico é estimulado pelo cortisol. Consequentemente aumentam os aminoácidos livres, que são usados como substrato na gluconeogénese hepática. A mobilização e incorporação dos aminoácidos para formar glicogénio conduz a uma elevação de compostos azotados na urina e a um aumento da concentração plasmática de ureia (Herrtage, 2004; Silva, 2005).

Além da interferência no metabolismo intermediário dos referidos compostos, o cortisol age sobre a resposta inflamatória e imunológica. Bloqueia a resposta inflamatória primária, diminuindo a hiperémia, a resposta celular, a exsudação, a desmarginação de neutrófilos e macrófagos, a formação de fibroblastos e ainda a libertação de histamina. Têm acção estabilizadora sobre a membrana celular dos lisossomas, podendo haver acumulação de antigénios nos macrófagos e bloqueio na libertação de enzimas hidrolíticas envolvidas na digestão intracelular. Estes efeitos comprometem a eliminação de partículas do sangue e da linfa (Cunningham, 1999; Faure, 2006).

As células sanguíneas são também afectadas pela cortisolémia. Com efeito, o cortisol aumenta a eritropoiese por estimulação da medula óssea, assim como aumenta uma desmarginação dos neutrófilos do pool marginal para o pool circulante, e ainda um aumento da sua libertação pela medula óssea. Por sequestro na medula, a cortisolémia influencia negativamente a quantidade de eosinófilos. O cortisol inibe também a proliferação e multiplicação de linfócitos e despoletam a redistribuição destes do espaço intravascular para os tecidos. Por outro lado podem possivelmente induzir também a apoptose destas células (Faure, 2006). A diminuição das células linfóides referidas, juntamente com a capacidade do

cortisol para inibir a síntese de algumas citocinas, como as interleucinas 1 ou 2 (IL-1 ou IL-2), pode levar a um efeito imunossupressor numa situação de hipercortisolémia, reduzindo as resistências contra infecções bacterianas, virais ou fúngicas (Tizard, 2004).

Além das principais acções bem conhecidas, os glucocorticóides ainda influenciam outros tecidos e compartimentos orgânicos: na pele e tecido conjuntivo, inibem a síntese de DNA e a divisão celular e no musculo reduzem a síntese proteica. Podem influenciar o metabolismo dos ossos e do cálcio, e o equilíbrio entre fósforo e cálcio. Têm acção no tubo digestivo aumentando a secreção de ácido clorídrico, de pepsina e de tripsina pancreática, e diminui a secreção de muco. (Capen, 1993; Cunningham, 1999; Silva, 2005). Por fim, é importante referir que o cortisol, assim como outros glucocorticóides, apresentam também alguma acção mineralocorticóide, se bem que a sua acção glucocorticóide prevalece (Cunningham, 1999).

### **3.5. Mecanismo de Retrocontrolo Negativo**

---

As acções mencionadas dos glucocorticóides pode ainda juntar-se a sua capacidade de interferir no eixo hipotalamo-hipofisário-adrenal, através de um mecanismo de retrocontrolo negativo. Os neurónios que secretam CRH e AVP e as células corticotróficas da adeno-hipófise possuem receptores específicos para a ligação dos corticoesteróides: tipo I (MR) para os mineralocorticóides e tipo II (GR) para os glucocorticóides. Ambos têm afinidade para os glucocorticóides, no entanto são os recptores GR os mais importantes para o efeito de retrocontrolo. A nível do hipotálamo, inibem a síntese e secreção de RNA mensageiro (RNAm) da CRH e da AVP, e na hipófise inibem a transcrição do gene da POMC e consequentemente a síntese de ACTH (Rijnberk, 1996). Além do mecanismo de retrocontrolo negativo pelos glucocorticoides, a ACTH tem também algum efeito de retrocontrolo negativo no hipotálamo, diminuindo a secreção de CRH e AVP. Este é de menor relevância que a inibição glucocorticóide (Feldman, 1995; Herrtage, 2004).

### **3.6. Os Mineralocorticóides**

---

Ao contrário dos glucocorticóides, a secreção de mineralocorticóides encontra-se regulada principalmente por factores extra-pituitários, nomeadamente pela concentração de potássio no organismo e pelo sistema renina-angiotensina. Outros factores como a ACTH, a concentração de sódio, o péptido natriurético atrial, a somatostatina, a dopamina e a vasopressina podem influenciar as concentrações de aldosterona, no entanto não o suficiente para alterar consideravelmente as suas concentrações séricas (Javadi, Kooistra, Mol, Boer, & Rijnberk, 2003).

## II. HIPERADRENOCORTICISMO CANINO: Etiologia e Diagnóstico

### 1. Nota Histórica

Em 1932, Harvey William Cushing (1869-1939), médico neurocirurgião, descreveu clinicamente pela primeira vez, após um estudo das manifestações clínicas em 12 humanos que apresentavam adenoma basofílico na hipófise, a doença que se viria a chamar posteriormente de Síndrome de Cushing (Grossman, 2004).

Na espécie canina, a Síndrome de Cushing foi descrita em 1939 num estudo análogo ao dos humanos, que consistiu em avaliar as manifestações clínicas apresentadas por cães diagnosticados com adenoma basofílico hipofisário. Só posteriormente a estes estudos é que foi concluído que os tumores hipofisários provocavam um aumento da hormona adrenocorticotrófica (ACTH) com conseqüente aumento hiperplásico das glândulas adrenais (Nicolas, 2004).

### 2. Definição, Etiologia e Fisiopatologia

De acordo com a maioria dos autores, a Síndrome de Cushing ou hiperadrenocorticismismo canino pode ser definido como o conjunto de alterações físicas e bioquímicas que resultam de um excesso crónico de glucocorticóides circulantes. Estes níveis séricos aumentados, capazes de provocar tais alterações, podem ser conseqüência de um de três mecanismos fisiopatológicos principais, dois deles de causa endógena ou natural, e outro de causa exógena (figura 8).

**Figura 8** – Esquema representativo da classificação etiológica do hiperadrenocorticismismo canino.



#### 2.1. Hiperadrenocorticismismo Hipófise-Dependente (HAC-HD)

O HAC-HD é o tipo mais comum no cão e afecta cerca de 80 a 85% dos casos (Kooistra & Galac, 2010). É devido à existência de um adenoma, a um hiperplasia das células corticotróficas ou, mais raramente, a um adenocarcinoma da hipófise (Peterson, 2007).

Estas neoplasias produzem uma maior secreção de ACTH o que leva à estimulação das adrenais e conseqüentemente à sua hiperplasia e hipertrofia. O resultado é uma maior secreção de glucocorticóides (Melián *et al*, 2010) (figura 9).

Os adenomas das células corticotróficas são a causa mais comum de HAC-HD canino. O adenoma pode existir tanto nas células da *pars distalis* como da *pars intermedia*. Apenas 30% dos adenomas têm origem na *pars intermedia*, e os restantes 70% surgem na *pars distalis* (Nelson, 2006). No entanto, na *pars intermedia*, os adenomas tendem a ser maiores porque, por um lado, a capacidade de crescimento de um tumor hipofisário é menor quanto maior o grau de sensibilidade ao mecanismo de retrocontrolo negativo exercido pelos glucocorticóides e por outro, as células A e B da *pars intermedia* estão principalmente reguladas pela inibição dopaminérgica suprimindo a expressão dos receptores de glucocorticóides (Melián *et al*, 2010; Kooistra & Galac, 2010).

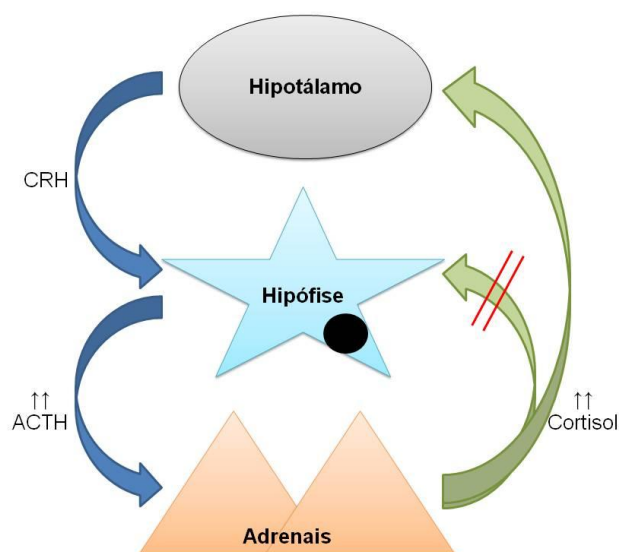
Os adenomas hipofisários estão classificados em microadenomas e macroadenomas, conforme se apresentem menores ou maiores que 10 mm, respectivamente. Os macroadenomas estão muitas vezes associados a prognósticos mais reservados, envolvendo sinais clínicos do SNC, pois tendem a expandir-se dorsalmente por ausência de osso esfenóide completo, podendo comprimir o hipotálamo e o tálamo. No entanto, são raros os cães que apresentam tumores maiores que 10 mm (aproximadamente 10 a 15%) devido ao crescimento lento dos adenomas hipofisários e a rara origem na *pars intermedia* (Peterson, 2007; Fornel, Delisle & Devauchelle, 2007). Os microadenomas são mais comumente diagnosticados e a maior parte dos cães apresenta adenomas menores que 3 mm (Nelson, 2006).

A hiperplasia das células corticotróficas da hipófise é uma causa de HAC-HD rara, tendo uma incidência em menos de 15% dos casos. A sua etiologia é ainda desconhecida mas crê-se que a sua causa principal possa ter sede no hipotálamo ou no SNC, provocando um aumento de CRH, o qual por sua vez vai estimular as células corticotróficas provocando a sua hiperplasia. No entanto, discute-se também o facto de poder existir um microadenoma imperceptível e que não tenha sido identificado no exame histológico (Nelson, 2006; Melián *et al*, 2010).

Apesar de já diagnosticados, os adenocarcinomas são uma causa extremamente rara deste tipo de hiperadrenocorticismismo (Peterson, 2007).

Na medida em que a ACTH tem ligeiro tropismo para a *zona glomerulosa*, no HAC-HD existe um aumento dos valores da aldosterona após um teste de estimulação com ACTH (TE-ACTH). Contudo, a aldosterona apresenta valores mais baixos no HAC-HD comparativamente a animais saudáveis, não sendo as concentrações desta significativamente alteradas pelo excesso de ACTH observado no HAC-HD (Goy-Thollot, Péchereau, Kéroack, Dezempte & Bonnet, 2002).

**Figura 9** – Esquema representativo da fisiopatologia do hiperadrenocorticismo canino hipófise-dependente.



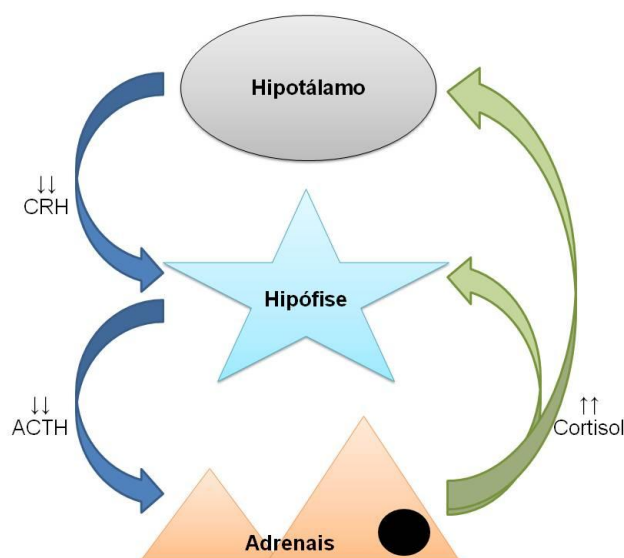
Legenda: ↓ - diminuição; ↑ - aumento; ● - indicação de neoplasia; // - indica a falha no efeito de retrocontrolo negativo; setas azuis - indicam o local de estimulação das hormonas; setas verdes - indicam o efeito de retrocontrolo negativo.

## 2.2. Hiperadrenocorticismo Adrenal-Dependente (HAC-AD)

Este tipo de hiperadrenocorticismo é apresentado em 15% a 20% dos casos e está relacionado com uma neoplasia adrenocortical, a qual leva directamente a excesso de produção de glucocorticóides. A neoplasia é classificada como adenoma ou adenocarcinoma, a qual surge, na maioria das vezes, apenas numa adrenal, mas mais raramente pode afectar ambas. A incidência de adenoma ou de adenocarcinoma adrenal parece ser semelhante, apesar de ser difícil distingui-los histologicamente. No entanto, a presença de um tumor maior que 2 cm, a invasão de tecidos vizinhos e as metástases são características indicativas mais prováveis de carcinomas adrenais (Labelle, Kyles, Farver & Cock, 2004). Não existe tendência sobre em qual a adrenal, direita ou esquerda, surge a neoplasia. Os carcinomas, especialmente os da adrenal direita, invadem frequentemente a veia frenico-abdominal e a veia cava caudal, e podem metastizar no fígado, pulmão e rim (Peterson, 2007). Fisiopatologicamente, as células neoplásicas aumentam a secreção de cortisol. A hipercortisolémia suprime a secreção de CRH e de ACTH através mecanismo de retrocontrolo negativo. Sendo as neoplasias adrenais maioritariamente unilaterais, a glândula contralateral normal e as células normais da glândula neoplásica podem sofrer atrofia devido à ausência de estimulação pela ACTH (Melián *et al*, 2010) (figura 10).

Muito raramente, as neoplasias adrenais podem igualmente influenciar a libertação de aldosterona, aumentando também os seus valores séricos (Martínez, Panciera, Abbott, & Ward, 2005; Machida *et al*, 2008). Os precursores como a dihidroepiandrosterona, a androstenediona, a 17-hidroxiprogesterona e a pregnenolona estão frequentemente aumentados enquanto a testosterona, os estrogénios e a progesterona podem também surgir aumentados, mas mais raramente.

**Figura 10** – Esquema representativo do hiperadrenocorticismo canino adrenal-dependente.



Legenda: ↓ - diminuição; ↑ - aumento; ● - indicação de neoplasia. As setas azuis indicam o local de estimulação das hormonas; as setas verdes indicam o efeito de retrocontrolo negativo.

### 2.3. Hiperadrenocorticismo Iatrogénico (HAC-Ia)

Um animal que seja medicado com glucocorticóides em doses altas ou em doses baixas prolongadamente surge com os sinais clínicos semelhantes aos pacientes com hiperadrenocorticismo espontâneo. (Peterson, 2007). Nestes casos os glucocorticóides exógenos provocam o efeito de retrocontrolo negativo sobre o hipotálamo e a hipófise, diminuindo os níveis séricos de CRH e ACTH, e consequentemente o córtex de ambas as adrenais sofre atrofia (Nelson, 2006).

Apesar de rara, esta forma pode ocorrer e é importante em clínica veterinária diferenciá-la das restantes causas. As administrações de ACTH podem também despoletar os sinais de HAC, mas são raras (Melián *et al*, 2010).

### 2.4. Outras Causas Potenciais de Hiperadrenocorticismo

Existem outras possibilidades que levam a hipercortisolémia. É exemplo a coexistência de neoplasias na hipófise e nas adrenais, havendo concomitante hiperadrenocorticismo hipófise- e adrenal-dependente. Também a hiperplasia nodular da adrenal pode causar aumento de cortisol sanguíneo. Esta pode ocorrer devido a uma estimulação crónica pela ACTH.

No homem, uma outra causa de hiperadrenocorticismo é a secreção ectópica de ACTH. Recentemente foram documentados dois casos de suspeita de secreção ectópica de ACTH em medicina veterinária devido a metástases de tumor neuroendócrino (Churcher, 1999; Galac *et al*, 2005).

Existe ainda o chamado hiperadrenocorticismo atípico, no qual o animal apresenta os sinais clínicos característicos desta endocrinopatia mas, no entanto, tem os níveis de cortisol dentro dos valores de referência, assim como testes funcionais endócrinos normais. Os

sinais clínicos são atribuídos ao aumento dos esteróides intermediários, sobretudo os esteróides sexuais. (Greco, 2007; Oliver, 2007; Behrend & Kennis, 2010).

### 3. Epidemiologia

#### 3.1. Idade

O hiperadrenocorticismo espontâneo atinge principalmente cães de meia idade a geriátricos. Contudo já foi observado em cães jovens, mas nunca com menos de 6 meses. A maior parte dos pacientes tem mais de 6 anos sendo que 75% dos casos de HAC-HD e 90% dos casos de HAC-AD apresentam idades superiores a 9 anos. A idade média é de 11 anos (Feldman & Nelson, 2004; Peterson, 2007; Melián *et al*, 2010). Os cães com HAC-AD tendem a ser ligeiramente mais velhos, com média de idades compreendida entre 11 e 12 anos (Peterson, 2007).

#### 3.2. Raça

Qualquer cão, com ou sem raça definida, pode apresentar hiperadrenocorticismo. No entanto vários autores descrevem algumas raças mais predispostas. Com efeito as raças mais pequenas são tendencialmente as mais atingidas, como Caniches, Dachshunds e várias raças de Terrier. Outras como os Beagles, os Pastores Alemães, os Labradores Retriever e mais recentemente os Boxers são também raças com tendência para desenvolver esta Síndrome (Feldman & Nelson, 2004; Melián *et al*, 2010).

O HAC-HD desenvolve-se mais frequentemente em raças pequenas, com pesos inferiores a 20 kg (Feldman & Nelson, 2004). Já o HAC-AD parece afectar igualmente raças com peso superior ou inferior a 20 kg (Peterson, 2007).

#### 3.3. Sexo

De acordo com a maioria dos autores não há predisposição sexual significativa, principalmente no HAC-HD. As cadelas aparentam estar mais predispostas para o desenvolvimento de HAC-AD que os cães machos (Feldman & Nelson, 2004).

### 4. História Progressiva e Exame Físico: Sinais Clínicos

O excesso crónico de glucocorticóides leva ao desenvolvimento de sinais clínicos característicos que não são mais do que o resultado das alterações metabólicas nos vários compartimentos orgânicos. O hiperadrenocorticismo surge de forma insidiosa e progressiva ao longo de meses, ou até anos (Herrtage, 2000). A frequência e a gravidade com que surgem os sintomas têm algumas variações entre indivíduos. Por exemplo, as raças maiores podem apresentar apenas um ou dois dos sinais clínicos característicos e as raças menores mais do que dois sinais clínicos (Ramsey & Ristic, 2007). Devido à sua forma insidiosa, o

proprietário poderá atribuir determinados sinais clínicos a um comportamento normal do animal. Como consequência, a tendência é a apresentação do animal à consulta numa fase menos precoce.

Uma história pregressa bem conseguida permite desvendar sinais clínicos imperceptíveis durante a consulta ou sinais que podem ser retidos como comportamento normal pelo proprietário. Por outro lado, é extremamente importante obter a informação se o paciente esteve sob algum tratamento recente com glucocorticoides, o que permite diferenciar um hiperadrenocorticismos espontâneo de um iatrogénico (Ramsey & Ristic, 2007). Os principais sinais clínicos que mais comumente surgem nos pacientes são a poliúria e polidipsia, a polifagia, a letargia, a obesidade com abdómen pendular, a claudicação, a fraqueza muscular e as manifestações dermatológicas (Peterson, 2007; Ramsey & Ristic, 2007) (quadro 3).

**Quadro 3** – Incidência dos sinais clínicos observados no hiperadrenocorticismos canino. Adaptado de Melián *et al* (2010)

<b>Sinais Clínicos</b>	
<b>PU/PD</b>	> 90%
<b>PF</b>	46-57%
<b>Abdómen Pendular</b>	67-73%
<b>Fraqueza Muscular</b>	35%
<b>Dispneia</b>	30%
<b>Alopécia</b>	60-74%
<b>Comedões</b>	25-34%
<b>Hiperpigmentação</b>	23-30%
<b>Anestro</b>	54%
<b>Atrofia Testicular</b>	29%

#### **4.1. Poliúria/Polidipsia (PU/PD)**

A PU/PD surge em mais de 90% dos cães com hiperadrenocorticismos e é, por vezes, o estímulo iatrotópico (Melián *et al*, 2010). Os glucocorticóides, para além de inibirem a acção da vasopressina a nível dos túbulos contornados distais aumentam a filtração glomerular e o fluxo sanguíneo renal, o que despoleta a poliúria e conseqüentemente uma polidipsia compensatória (Feldman, 1995; Rijnberk, 1996). Por outro lado, a PU/PD pode dever-se a uma *Diabetes insipida* devido a compressão por um macroadenoma hipofisário (Peterson & Nichols, 2004).



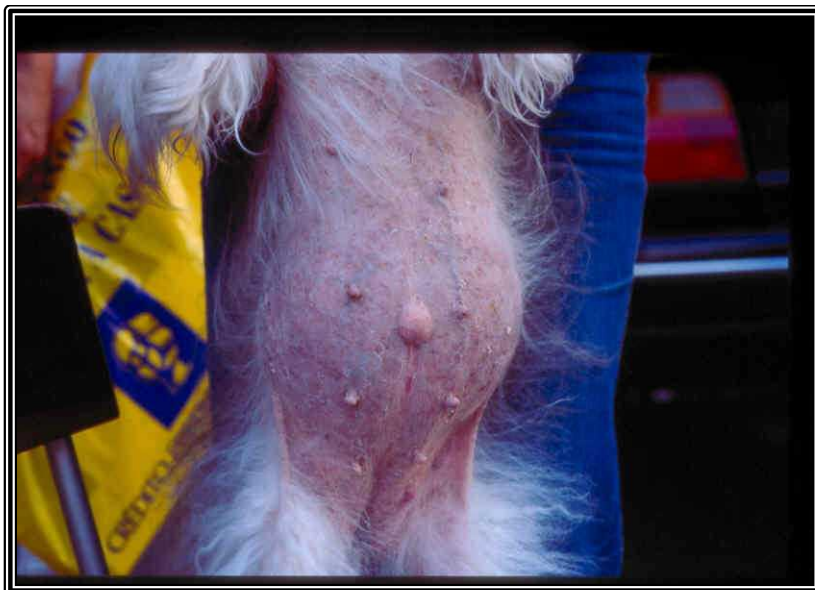
## 4.2. Polifagia (PF)

A PF ocorre em 46 a 57% dos animais com hiperadrenocorticismismo (Melián *et al*, 2010). É um sinal clínico muitas vezes interpretado pelos proprietários como sendo um bom indicativo de saúde. Este sinal clínico deve-se ao efeito anti-insulínico do cortisol que provoca estimulação ao nível do centro da fome no S.N.C (Herrtage, 2004).

## 4.3. Abdómen Pendular

O abdómen pendular desenvolve-se devido a vários factores. Os glucocorticóides influenciam o metabolismo lipídico. Por mecanismos não bem conhecidos existe uma redistribuição de gordura que se deposita centriptamente no abdómen (figura 11). Entretanto há um aumento do fígado por deposição de gordura e da bexiga devido à poliúria. Estes factores associados à fraqueza muscular levam ao aparecimento do abdómen pendular em cerca de 67 a 73% dos pacientes com hiperadrenocorticismismo (figura 11), situação por vezes atribuída à polifagia pelos proprietários (Spearman & Little, 1978; Feldman, 1995; Melián *et al*, 2010).

**Figura 11** – Fotografia de um Schitzu com abdómen pendular e alopecia abdominal. Note-se a pele fina, estando facilmente visíveis os capilares sanguíneos subcutâneos. Fotografia gentilmente cedida pela professora doutora Teresa Villa de Brito.



## 4.4. Hepatomegália

Devido à influência dos glucocorticóides no metabolismo lipídico e glucídico há acumulação de gordura e carboidratos no fígado, promovendo a hepatomegália em 51-67% dos animais com hiperadrenocorticismismo. Esta alteração contribui para a distensão abdominal característica destes pacientes (Feldman, 1995).

#### **4.5. Fraqueza Muscular, Letargia e Claudicação**

---

A fraqueza muscular ocorre secundariamente a atrofia muscular principalmente devido aos efeitos catabólicos do cortisol. O excesso crónico de glucocorticóides está associado a uma diminuição da bomba sódio-potássio ATPase, o que pode contribuir para a diminuição da resistência do músculo-esquelético (Schotanus, Meij, Vos, Kooistra, & Everts, 2006). É um sinal clínico frequente em cerca de 14 a 57% dos pacientes com HAC. Juntamente com a acumulação de gordura, esta afecção pode levar a letargia. Por vezes os cães afectados têm intolerância ao exercício, dificuldade em subir escadas e em situações mais graves, claudicação, que pode ocorrer em 30% dos casos. No entanto, são sinais clínicos que podem ser interpretados pelos donos como sendo factores da idade (Nelson, 2006; Melián *et al*, 2010).

Mais raramente, os pacientes estão susceptíveis ao aparecimento de sinais locomotores mais graves, tais como incapacidade de se levantarem ou de se manterem muito tempo em estação. Nestes casos os cães, sobretudo as raças de grande porte podem surgir com escaras de decúbito Outra situação extremamente rara associada ao HAC (< 1%) é o desenvolvimento de miotonia ou pseudomiotonia, caracterizado por rigidez dos membros, principalmente nos membros pélvicos. Apesar de não se conhecer a sua fisiopatologia, pensa-se que a mesma será genética (Rijnberk, 1996; Laurenson, 2010).

#### **4.6. Sinais Dermatológicos**

---

Os problemas dermatológicos são dos principais estímulos iatrotópicos, sendo reconhecidos facilmente pelo proprietário numa fase recente da doença em causa (Bond, 2004). Os principais sinais clínicos dermatológicos observados no hiperadrenocorticismos são: a alopecia simétrica bilateral, os comedões, a hipotricose, a pele fina e hipotónica, a hiperpigmentação, a piодermite, as alterações seborreicas e a calcinose cutânea (Frank, 2006).

A alopecia é de desenvolvimento lento e progressivo, começando normalmente pelo tronco e pode posteriormente atingir os flancos, a zona perineal e o abdómen. Raramente a cabeça e os membros estão afectados (Feldman, 1995; Frank, 2006) (figura 12). Ela resulta da alteração das fases do ciclo de crescimento do pêlo pois o cortisol tem efeito de encurtamento da anagénesse, aumentando a fase da telogénese. O crescimento do pêlo também se encontra retardado (Bond, 2004). Geralmente não é acompanhada de prurido, se bem que em 25% dos casos pode ser pruriginosa, provavelmente devido a outros factores como seborreia, calcinose cutânea, piодermite secundária ou dermatite a malassezia (Feldman, 1995). o efeito anti-inflamatório do cortisol pode debelar as referidas infecções (Faure, 2006).

**Figura 12** – Fotografia de um caniche com alopecia e hipotricose generalizada excepto nos membros e na cabeça. Foto original



Uma pele fina, hipotónica e pouco elástica deve-se também ao cortisol que inibe a mitose celular epidérmica, a multiplicação e migração dos fibroblastos, e o colagénio, principalmente de tipo III. Por vezes observam-se os vasos sanguíneos subcutâneos, especialmente no abdómen ventral. Por outro lado, a falta de colagénio e fibroblastos diminui o tecido cicatricial, o que retarda a cicatrização (Feldman, 1995; Faure, 2006). A fragilidade da pele predispõe o desenvolvimento de feridas e escoriações (Kintzer & Peterson, 2006). A parede dos capilares sanguíneos pode romper e dar origem a petéquias e equimoses (Baker, 1993). Os comedões surgem em 25 a 34% dos casos e são devidos à degenerescência folicular e localizam-se principalmente em torno dos mamilos.

A hiperpigmentação é apresentada em aproximadamente 23 a 30% dos pacientes com Síndrome de Cushing (Herrtage, 2004; Melián *et al*, 2010). Também a seborreia pode surgir associada aos factores já descritos (Frank, 2006).

A calcinose cutânea (*Calcinosis cutis*) encontra-se presente em aproximadamente 8 a 15% dos cães com HAC. Pode observar-se deposição de cálcio na derme ou tecido subcutâneo principalmente na zona dorsal do pescoço, nas axilas, no abdómen ventral, nas áreas inguinais ou na área temporal do pescoço. Contudo pode ser generalizada. As áreas afectadas apresentam placas irregulares e firmes, podendo estar associada uma piodermite local. A calcinose cutânea só pode ser confirmada através de biopsia de pele (Feldman, 1995; Frank, 2006). Os mecanismos do seu desenvolvimento não estão bem compreendidos, mas possivelmente deve-se à acção catabólica dos glucocorticóides sobre as proteínas e envolve uma transformação dos iões de cálcio e de fósforo num agregado cristalino que se deposita nas matrizes dérmicas de colagénio e elastina (Melián *et al*, 2010).

#### **4.7. Calcificação Distrófica**

Existem locais orgânicos que podem sofrer calcificação para além dos depósitos de cálcio no tecido subcutâneo e na derme. Com efeito, os anéis traqueais, as paredes brônquicas, a

mucosa gástrica, o fígado, o tecido muscular e a aorta abdominal são locais susceptíveis de apresentar mineralização no hiperadrenocorticismismo (Blois, Caron & Mitchell, 2009).

#### **4.8. Alterações Respiratórias: Dispneia**

É um sinal clínico pouco específico, no entanto surge com frequência nos pacientes com HAC. A diminuição da complacência pulmonar, a fraqueza dos músculos respiratórios, a hipertensão pulmonar e ainda os efeitos directos do cortisol sobre a função respiratória são as principais causas de alterações respiratórias no hiperadrenocorticismismo (Kintzer & Peterson, 2006).

O tromboembolismo pulmonar é uma complicação por vezes presente nos pacientes com HAC e pode provocar dispneia aguda grave (Rijnberk, 1996).

#### **4.9. Alterações na Reprodução: Atrofia Testicular / Anestro**

No HAC-HD, apesar da produção de ACTH pela hipófise ser de certa forma refractária ao efeito de retrocontrolo negativo pelos glucocorticóides, outras hormonas do eixo hipotalâmico-hipofisário são afectadas, tais como a GnRH, a FSH e a LH. Consequentemente a produção de hormonas pelas gónadas sexuais está diminuída. O resultado é a atrofia testicular no macho e anestro na fêmea (Herrtage, 2004).

A atrofia testicular é verificada em 29% dos casos. Os cães apresentam também diminuição da libido e têm concentrações baixas de testosterona, aproximadamente 1,2 ng/ml (Valor de referência: 4,7 ng/ml). À palpação, os testículos estão pequenos, moles e esponjosos (Feldman, 1995).

O anestro pode estar presente em 54% dos casos. Além da diminuída secreção de estrogénios pelas gónadas sexuais, há excessiva produção de androgénios pelo córtex, pelo que as cadelas podem sofrer o fenómeno de virilização. De facto, as concentrações de testosterona na fêmea com hiperadrenocorticismismo rondam os 30 pg/ml, quando deveriam estar em valores perto de 20 pg/ml (Feldman, 1995; Herrtage, 2004; Melián *et al*, 2010).

No hiperadrenocorticismismo atípico a sintomatologia é ligeiramente diferente, mas esta pode estar sobreposta num animal com hiperadrenocorticismismo espontâneo, quando há concorrente excesso de cortisol e de esteróides sexuais. Os adenomas perianais nos cães castrados e nas fêmeas é a manifestação clínica mais comum no hiperadrenocorticismismo atípico. Os machos podem ainda apresentar comportamentos que reflectem o excesso de androgénios produzidos pelo córtex, como o acto de montar. Nas fêmeas, a sintomatologia também é diferente da do HAC convencional, na medida em que têm comportamentos éstricos resultantes do possível excesso de estrogénios e podem apresentar hipertrofia do clítoris (Greco, 2007).

## 5. Complicações no Hiperadrenocorticismo

Os glucocorticóides, para além dos seus efeitos directos, tornam o organismo susceptível de desenvolver doenças concomitantes e graves complicações, especialmente se não for diagnosticado e efectuado o tratamento precocemente.

### 5.1. Hipertensão Arterial

A hipertensão arterial é uma complicação bastante comum, afectando cerca de 31 a 50% da população canina com hiperadrenocorticismo, (Kallet & Cowgill, 1992. Citado por Goy-Thollot *et al*, 2002; Lien, Hsiang & Huang, 2010). Ortega, Feldman, Nelson, Willits & Cowgill (1996) descreveram 81% de casos de HAC-HD e virtualmente 100% de casos de HAC-AD com hipertensão.

No Homem, há estudos que suportam que o mecanismo principal de causa de hipertensão no hiperadrenocorticismo é a elevada sensibilidade causada pelos glucocorticóides aos vasopressores endógenos (Martínez *et al*, 2005). O mecanismo exacto em cães não está bem esclarecido, mas existem possibilidades propostas: 1) o efeito mineralocorticóide dos glucocorticóides, que se encontra exacerbado, devido à hipercortisolémia, pode resultar em retenção de sódio e água e conseqüentemente num aumento da volémia e do débito cardíaco; 2) pode haver estimulação do sistema renina-angiotensina que aumenta a resistência vascular (Javadi, Kooistra, Mol, Boer, Boer, & Rijnberk, 2003; Brown, 2010); 3) pode ainda existir elevada sensibilidade aos vasopressores, causada pelo hiperadrenocorticismo, tal como nos humanos, o que aumenta a pressão arterial (Martínez *et al*, 2005).

A Aldosterona não parece ter um papel importante na hipertensão arterial, na medida em que o seu valor sérico se encontra baixo nos pacientes com HAC-HD (Goy-Thollot *et al*, 2002; Javadi *et al*, 2003; Martínez *et al*, 2005).

A Insuficiência cardíaca congestiva é por vezes diagnosticada nos pacientes com HAC, podendo advir da hipertensão arterial (Feldman, 1995).

### 5.2. Estado de Hipercoagulabilidade: Tromboembolismo Pulmonar

A incidência de trombose num paciente com hiperadrenocorticismo é quatro vezes maior que num indivíduo saudável, e é uma complicação que contribui para o aumento da mortalidade nesta doença (Teshima *et al*, 2008). Apesar de não estar demonstrada a correlação, o tromboembolismo pulmonar surge mais frequentemente em cães que receberam tratamento médico para HAC-HD ou realizaram adrenalectomia para HAC-AD (Nelson, 2006).

O estado de hipercoagulabilidade está relacionado com o tromboembolismo pulmonar. Com efeito, vários estudos em humanos mostraram um aumento dos factores de coagulação no HAC. Em cães, os factores II, V, VII, IX, X e XII e ainda o fibrinogénio e o complexo

trombina-antitrombina mostraram-se aumentados em pacientes com HAC relativamente a pacientes saudáveis. Por outro lado, a anti-trombina III está diminuída (Jacoby, Owings, Ortega, Gosselin, & Feldman, 2001). Outros factores comuns no HAC, como a obesidade, a hemoconcentração, a hipertensão arterial e as glomerulopatias, também podem predispor a tromboembolismo (Nelson, 2006). O stress respiratório agudo, a ortopneia e, mais raramente, o pulso jugular são sinais clínicos suspeitos da existência desta afecção (Feldman, 1995).

### **5.3. Síndrome do Eutiroideu Doente**

---

Denomina-se Síndrome do Eutiroideu Doente quando um animal apresenta valores séricos diminuídos de tiroxina ( $T_4$ ) sem ter origem na tiróide.

No hiperadrenocorticismo, as secreções de TRH e TSH estão comprometidas pelo efeito de retrocontrolo negativo do cortisol. Para além da inibição da secreção da TSH, a hipercortisolémia interfere com a ligação da  $T_4$  às proteínas transportadoras e inibe a desiodação da  $T_4$  a triiodotironina ( $T_3$ ) a nível periférico (Ferguson & Peterson, 1992. Citado por Seita, 2009). Com efeito, 70% dos animais com hiperadrenocorticismo espontâneo apresentam valores séricos de triiodotironina total ( $tT_3$ ), triiodotironina livre ( $ft_3$ ) e/ou tiroxina ( $T_4$ ) inferiores ao normal (Feldman, 1995).

Esta síndrome é difícil de diagnosticar visto que os seus sinais clínicos são semelhantes aos que surgem no hiperadrenocorticismo (Ramsey, 2010).

### **5.4. Diabetes Mellitus**

---

Devido à resistência à insulina provocada pelos glucocorticóides, os cães com hiperadrenocorticismo não tratado podem desenvolver *Diabetes mellitus*.

Os glucocorticóides aumentam a gluconeogénese e antagonizam a acção da insulina a nível celular modificando a sua ligação aos receptores e interferindo com a resposta intracelular à insulina. A sua acção antagonizadora leva as células  $\beta$  pancreáticas à exaustão diminuindo a produção de insulina. Contudo, nem todos os cães com hiperadrenocorticismo que tenham hiperglicémia apresentam *Diabetes mellitus*. Não obstante, 30 a 60% dos pacientes com hiperadrenocorticismo têm glicémia aumentada e apenas cerca de 10 a 15% desenvolve *Diabetes mellitus*. A resistência à insulina é caracterizada pela hiperglicémia persistente a qual é refractária a administrações de insulina maiores que 2UI/Kg acompanhada por glicosúria e/ou cetonúria (Zwicker, Bain, Rakich, & Latimer, 2003; Kintzer & Peterson, 2006; Melián *et al*, 2010).

O diagnóstico desta doença num paciente com HAC não é simples, devido às manifestações clínicas semelhantes apresentadas nas duas endocrinopatias. A polifagia, a perda de peso e a PU/PD exuberantes são sintomas que podem ser vistos num animal com HAC e *Diabetes mellitus* concomitante (Zwicker *et al*, 2003).

### **5.5. Infecções Recorrentes do Trato Urinário (ITU), urolitíase e pielonefrites**

---

Cerca de 40 a 50% dos casos de HAC podem desenvolver infecções urinárias. Há um conjunto de alterações no HAC que predispõe o animal ao desenvolvimento de ITU tais como o efeito imunossupressivo do cortisol, a diminuição da densidade urinária devido à PU/PD que torna a urina menos bactericida e ainda as retenções urinárias pelos animais que vivem no interior de casa. O efeito anti-inflamatório do cortisol pode mascarar os achados comuns numa urianálise tipo II de um cão com ITU (Melián *et al*, 2010; Herrtage, 2004). As doenças concomitantes com o hiperadrenocorticismo também podem predispor a ITU, tais como a *Diabetes mellitus*, a urolitíase e a idade avançada. A ocorrência desta afecção aumenta quanto maior for a cronicidade da hipercortisolémia (Forrester, Martinez, Panciera, Moon, Picket, & Ward, 2003).

As pielonefrites são por vezes observadas. Com efeito, as ITUs podem ascender até ao rim por passarem despercebidas devido ao efeito anti-inflamatório glucocorticóide ou até mesmo depois do diagnóstico e do tratamento com antibioterapia. Cerca de 40 a 50% dos casos de hiperadrenocorticismo pode ainda apresentar cálculos urinários. Os mecanismos reponsáveis incluem ITU recorrentes e maior excreção de cálcio devido ao efeito glucocorticóide no metabolismo do cálcio (Feldman, 1995).

### **5.6. Glomerulopatias**

---

As glomerulopatias podem ocorrer em mais de 50% dos casos de HAC não tratado. A hipertensão sistémica juntamente com os efeitos hemodinâmicos dos glucocorticóides pode levar a um aumento da pressão hidrostática e a uma hiperfiltração glomerular, o que resulta em proteinúria e glomerulosclerose. A perda de proteína pode levar a hipoalbuminémia, apesar de não estarem descritos casos de edema, ascite ou derrame pleural no HAC canino (Feldman, 1995; Smets, Meyer, Maddens, & Daminet, 2010).

### **5.7. Alterações Neurológicas**

---

Os macroadenomas hipofisários podem provocar alterações neurológicas pela expansão dorsal do tumor devido ao incompleto diafragma da sela túrcica. Os sinais clínicos desenvolvem-se caracteristicamente alguns meses após o estabelecimento do diagnóstico e do início do tratamento com mitotano ou trilostano, pois a inibição total do retrocontrolo negativo dos glucocorticóides promovida pelo tratamento permite o crescimento rápido do tumor.

Em cerca de 10 a 15% dos macroadenomas hipofisários, os sinais clínicos neurológicos desenvolvem-se juntamente com os sinais característicos de hiperadrenocorticismo ou podem mesmo ser os primeiros a serem manifestados (Teshima *et al*, 2008). A perda de apetite, depressão, a desorientação, a perda do comportamento ensinado e a letargia são os sinais neurológicos mais comuns. Os sinais específicos do SNC incluem cegueira, pressão com a cabeça (*head-pressing*), andar em círculos (*circling*) entre outros. O

diagnóstico definitivo de um macroadenoma hipofisário só é confirmado com ressonância magnética (RM) ou tomografia axial computadorizada (TAC) (Wood, Pollard, Uerling, & Feldman, 2007; Teshima *et al*, 2008).

Apesar dos pressupostos referidos, Wood e colaboradores (2007) não encontraram associação aparente entre um macroadenoma hipofisário e o aparecimento de sinais neurológicos em 157 cães com hiperadrenocorticismo.

## **5.8. Outras Complicações**

A hipercortisolémia aumenta a nível hipotalâmico o tónus da somatostatina e provoca possíveis alterações nas células somatotrópicas, o que culmina numa inibição da secreção de GH (Meij, Mol, Bevers & Rijnberk, 1997; Lee, Meij, Bhatti, Mol, Rijnberk & Kooistra, 2003). Não obstante, animais novos que desenvolvam hiperadrenocorticismo podem demonstrar atrasos no crescimento, e os adultos podem desenvolver alopecia endócrina e hiperpigmentação (Feldman, 1995; Faure, 2006).

A pancreatite aguda está descrita nos pacientes com hiperadrenocorticismo. Contudo, os factores que predispõem o desenvolvimento desta afecção são também secundários ao efeito dos glucocorticóides, tais como a polifagia (Feldman, 1995).

Estão descritas hemorragias agudas intra-abdominais ou retro-peritoniais resultantes da exposição crónica aos glucocorticóides e os pacientes podem demonstrar sinais como letargia grave, mucosas pálidas e dor (Melián *et al*, 2010). As hemorragias podem ocorrer devido a úlceras gastroduodenais resultantes do aumento de secreção de ácido gástrico e de pepsina e redução de muco. Estes efeitos são provocados pela inibição das cicloxigenases 2 (COX-2) e pela diminuição da secreção de prostaglandinas F<sub>2</sub> (PGF<sub>2</sub>), por acção dos glucocorticóides (Joubert, 2002. Citado por Leal, 2008).

O hiperparatiroidismo pode existir secundariamente ao HAC. Apesar de não estarem bem esclarecidos, os possíveis mecanismos para o aumento da paratormona (PTH) no HAC são a estimulação directa do cortisol, um equilíbrio negativo de cálcio devido possivelmente à diminuição da absorção do cálcio a nível intestinal e aumento da sua excreção a nível renal, interferência no metabolismo da vitamina D ou ainda um aumento no equilíbrio de fósforo. Estas alterações no metabolismo do cálcio, para além de calcinose cutânea e de calcificação distrófica, podem levar ao desenvolvimento de osteoporose e/ou de fracturas ósseas (Feldman, 1995; Ramsey, Tebb, Harris, Evans, & Herrtage, 2005; Silva, 2005).

Podem ainda desenvolver-se repercussões oculares secundárias à hipertensão e à hiperlipidémia existentes no HAC. A síndrome da degenerescência aguda adquirida da retina (*Sudden Acquired Retinal Degeneration Syndrome, SARDS*) é uma alteração degenerativa na qual há perda dos foto-receptores da retina, resultando em cegueira aguda permanente nos cães e pode estar associada ao HAC (Plummer, Specht & Gelatt, 2007).



O diagnóstico de hiperadrenocorticismo deve ser primeiramente baseado no conjunto de sinais clínicos obtidos através da história pregressa e do exame físico e nos resultados laboratoriais. Após suspeita da doença pela observação dos sintomas e pelos resultados obtidos nos exames laboratoriais, o recurso a alguns exames imagiológicos e aos exames funcionais endócrinos permitem o diagnóstico definitivo.

Existem afecções que apresentam um quadro clínico semelhante ao hiperadrenocorticismo, algumas delas fazendo parte do conjunto de complicações resultantes da referida endocrinopatia. É importante realizar o diagnóstico diferencial entre hiperadrenocorticismo e hepatopatias, afecções renais, *Diabetes mellitus* e *Diabetes insípida*, pielonefrite, hipotireoidismo, tumores das células de Sertoli e hipercalcémia (Feldman, 1995).

### 6.1. Análises Laboratoriais

---

#### 6.1.1. Hemograma

No HAC podem existir alterações no hemograma, nomeadamente policitémia, acompanhada de um aumento da concentração de hemoglobina, trombocitose (Melián *et al*, 2010; Herrtage, 2004), e uma leucocitose (Capen & Martin, 1975).

O Leucograma apresenta especificamente o denominado “Leucograma de Stress” com neutrofilia, eosinopénia, linfopénia e monocitose (Capen & Martin, 1975; Feldman, 1995; Melián *et al*, 2010).

#### 6.1.2. Bioquímicas Sanguíneas

Nesta análise, existem alterações bastante comuns no hiperadrenocorticismo, e outras menos frequentes, mas que por vezes podem verificar-se.

A principal alteração bioquímica e mais consistente no HAC é o aumento da actividade da fosfatase alcalina sérica (FAS), a qual se pode encontrar com valores 4 a 50 vezes superiores ao intervalo de referência (Herrtage, 2000). Existem várias isoenzimas da FAS e no cão considera-se ainda outra isoenzima produzida no fígado, a qual é estimulada pela presença de esteróides (S-FAS) (Kidney & Jackson, 1988; Raymond, Tarpley, Latimer, & Bain, 2004). No hiperadrenocorticismo, a FAS está elevada, por vezes acima dos 1000 UI/L, devido à isoenzima S-FAS e devido à FAS hepática, que também apresenta aumento da actividade pela deposição de glicogénio no fígado (Ginel, Lucena, & Fernández, 2002). Na medida em que a S-FAS é termorresistente, o seu doseamento pode ser realizado a 65°C para a diferenciar das outras isoenzimas da FAS. (Raymond, Tarpley, Latimer, & Bain, 2004). No entanto, este doseamento, apesar de sensível, é pouco específico (Behrend & Kemppainen, 2001; Herrtage, 2004).

A alanina aminotransferase (ALT) é uma enzima hepática que pode estar ligeiramente aumentada num paciente com hiperadrenocorticismo: a deposição de glicogénio nos

hepatócitos, a necrose hepatocelular ou as alterações da circulação sanguínea hepática promovem o seu aumento (Herrtage, 2004).

Devido à estimulação da lipólise, as concentrações séricas de colesterol e triglicéridos aparecem aumentadas em mais de 50% dos casos, mas mais uma vez, não são parâmetros específicos, visto que a hipercolesterolemia pode ser causada por hipotireoidismo, por *Diabetes mellitus* e por doenças renais e hepáticas crônicas (Herrtage, 2000; Melián *et al*, 2010).

Cerca de 30 a 60% dos pacientes podem apresentar valores elevados de glicose sérica devido ao aumento da gluconeogénese. Por outro lado, a possibilidade de existência de *Diabetes mellitus* concomitante influencia este parâmetro, mas os valores são normalmente mais elevados (maior que 250 mg/dL) e só são afectados cerca de 10 a 15% dos pacientes (Zwicker, Bain, Rakich & Latimer, 2003).

A ureia e a creatinina apresentam valores séricos normais ou abaixo do valor mínimo do intervalo de referência, devido à elevada diurese promovida pelo efeito glucocorticóide (Herrtage, 2004).

A nível electrolítico, raramente surgem alterações como reabsorção de sódio e/ou perda de potássio (Herrtage, 2004).

O fosfato pode ser excretado na urina em maiores quantidades devido ao efeito glucocorticóide, sendo que cerca de um terço dos casos de hiperadrenocorticismismo apresentam valores séricos diminuídos (Feldman, 1995).

A lipase e amilase séricas podem estar elevadas pela possibilidade de existir uma pancreatite secundária, mas mesmo sem a presença desta afecção, estes parâmetros podem ter valores acima do limite máximo (Faure, 2006).

O valor sérico dos ácidos biliares pode estar elevado em mais de 30% dos cães com hiperadrenocorticismismo devido à lesão hepática induzida pelos glucocorticóides. De facto, a utilização deste parâmetro para diferenciar uma doença hepática de um verdadeiro hiperadrenocorticismismo não é fiável (Herrtage, 2004; Melián *et al*, 2010).

Uma hiperalbuminémia pode ser devida a um efeito não específico do cortisol juntamente com ligeira desidratação. Em alternativa, a causa pode ter sede na lipémia aumentada e na resultante hemólise comum nos pacientes com HAC (Ramsey *et al*, 2005).

### **6.1.3. Urianálise Tipo II**

Não sendo um exame que permita o diagnóstico definitivo, os seus resultados permitem auxiliar o diagnóstico, e podem dar indicações da presença de algumas complicações comuns no hiperadrenocorticismismo.

A densidade urinária específica é baixa em cerca de 85% dos casos de hiperadrenocorticismismo, rondando valores entre 1,007 (Capen & Martin, 1975) a 1020 (Melián *et al*, 2010), devido à elevada produção de urina concebida por estes animais. A glicosúria é

um dado pouco comum e está associado à existência de *Diabetes mellitus* concomitante com o hiperadrenocorticismo. De facto, apenas 5 a 10% dos pacientes apresentam glicosúria (Nelson, 2006; Melián *et al*, 2010).

Pode ser verificada uma ligeira proteinúria na urianálise em cerca de 60 a 80% dos cães. A sua causa pode ser devida a complicações de hiperadrenocorticismo não tratado, como glomerulopatias, ou hipertensão sistémica (Nelson, 2006). O rácio proteína:creatinina urinário (RPCU) pode dar uma informação mais fidedigna da presença de proteinúria. Quando esta está presente, o RPCU apresenta-se geralmente aumentado entre 1 a 6, sendo normal menor que 0,5 (Melián *et al*, 2010).

A leucocitúria ou outros sinais de ITU podem ser encontrados, mas o já referido efeito anti-inflamatório glucocorticóide e a tendência para a hipostenúria podem mascarar estes dados.

**Quadro 4** – Incidência das alterações laboratoriais observadas no hiperadrenocorticismo canino. Adaptado de Melián *et al*, 2010.

Sinais Laboratoriais	
<b>Eritrocitose e Leucograma de Stress</b>	
FAS ↑	85-95%
ALT ↑	50-80%
<b>Hipercolesterolémia</b>	50-90%
<b>Hiperglicémia</b>	30-60%
Ureia ↓	30-50%
<b>Hipofosfatémia</b>	38%
<b>Densidade urinária ↓</b>	80%
<b>Proteinúria</b>	60-80%
<b>Glicosúria</b>	5-10%

Legenda: ↑ - aumentado; ↓ - diminuído

## 6.2. Diagnóstico Imagiológico

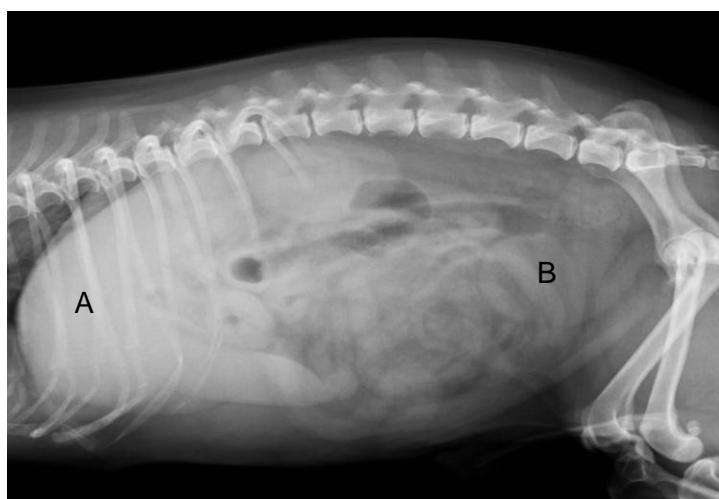
### 6.2.1. Radiografia Torácica e Abdominal

Na radiografia torácica podem observar-se algumas alterações compatíveis com HAC, apesar de não serem específicas. A calcificação da traqueia e dos brônquios pode ser verificada em casos de calcificação distrófica (Mahaffey & Barber, 2002). Deve ser descartada a hipótese de metástases nos pulmões, visto que, apesar de raro, um adenocarcinoma adrenal pode aí metastizar (Peterson, 2007). O tromboembolismo pulmonar que pode ocorrer nestes pacientes pode promover alterações radiográficas como:

padrão alveolar e/ou hipovascular, um aumento do coração direito e da artéria pulmonar, a perda de volume pulmonar e ainda a visualização de derrame pleural. Os dados estão correlacionados com o efeito patológico do tromboembolismo, podendo não se observar qualquer alteração (Mitchell, 2009).

Uma radiografia abdominal de um paciente com hiperadrenocorticismo pode apresentar maior contraste devido à gordura depositada centriptamente. A hepatomegália e a bexiga distendida são também dados comuns nestas radiografias (figura 13). Em casos de urolitíase é possível a observação dos cálculos, pois a maioria têm cálcio na sua composição (Melián *et al*, 2010). Um dos dados mais importantes é a evidência de massa adrenal, pois na maioria das vezes, como referido anteriormente, estas sofrem calcificação. No entanto, para além fraca incidência de tumores adrenais como causa de hiperadrenocorticismo, a mineralização pode não ter importância clínica (Kealy & McAllister, 2000). Esta, quando evidenciada, pode direccionar o diagnóstico para HAC-AD, mas não permite a diferenciação entre um adenoma e um adenocarcinoma. Um feocromocitoma, apesar de raro, pode também estar na origem da massa adrenal calcificada (Mahaffey & Barber, 2002), mas este não engloba os sinais clínicos descritos no HAC.

**Figura 13** – Radiografia latero-lateral direita de um canídeo, Yorkshire, com 11 anos, suspeito de HAC. Película cedida gentilmente pelo Hospital Escolar da FMV-UTL.



Legenda: A - Fígado aumentado de tamanho (hepatomegália); B – Bexiga ligeiramente distendida

### 6.2.2. Ecografia Abdominal

A ecografia abdominal é um exame de diagnóstico de relevante importância em clínica veterinária. No hiperadrenocorticismo, além da avaliação das adrenais, este exame permite a verificação de outras alterações esperadas em órgãos afectados pelo efeito dos glucocorticóides como a presença de metástases em casos de adenocarcinomas adrenocorticais.

O diâmetro, ou espessura, é a medida mais utilizada e mais fidedigna para avaliar o tamanho das adrenais, visto que o comprimento pode variar de acordo com o tamanho e

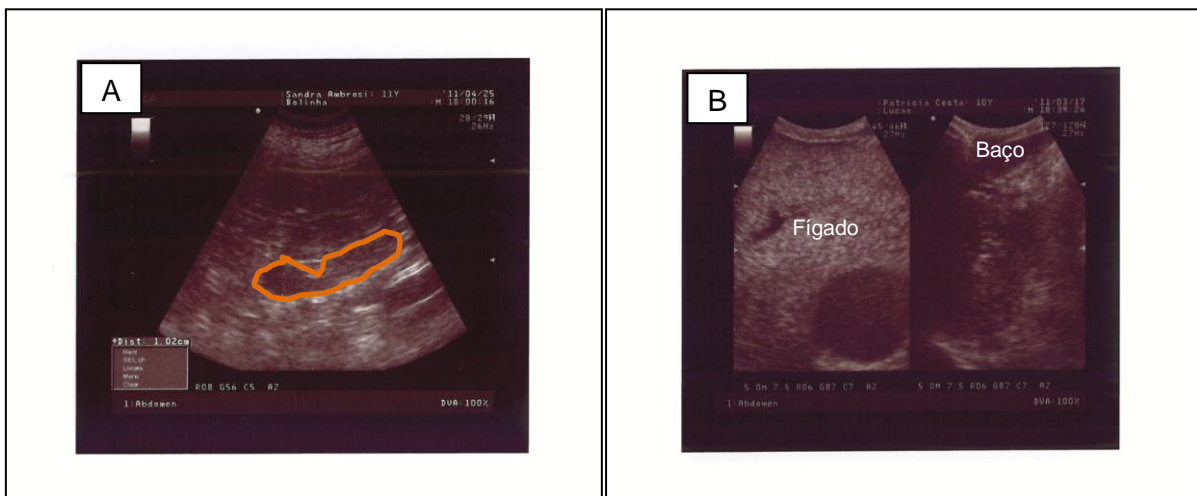
com a idade do paciente (Mahaffey & Barber, 2002). Num cão, a espessura de uma adrenal normal tem um limite máximo de 7,5 mm (Melián *et al*, 2010), enquanto outros autores referem valores máximos de 2,4 cm de largura e 1 cm de espessura (Kealy & McAllister, 2000; Nayland *et al*, 2002). Através da avaliação do diâmetro e de outras alterações noutros órgãos, a ecografia é um meio de diagnóstico que permite distinguir HAC-HD de HAC-AD, dependendo dos dados ecográficos. As alterações em que ambas as adrenais se apresentam normais ou aumentadas e com ecotextura e ecogenicidade normal guiam para um diagnóstico de HAC-HD, enquanto uma única glândula adrenal aumentada, irregular, com ecotextura e ecogenicidade alterada, apresentando ou não sombra acústica indicativa de mineralização e comprimindo os tecidos vizinhos, sugere fortemente a presença de um tumor adrenal (Kealy & McAllister, 2000; Benchekroun, *et al*, 2010) (figura 14-A).

Infelizmente, nem todas as ecografias de um paciente com HAC são tão explícitas. De facto, as alterações ecográficas de um e de outro tipo de HAC e de uma ecografia normal sobrepõem-se. Primeiro, tamanhos normais de ambas as adrenais ou apenas uma adrenal aumentada podem ser dados ecográficos no HAC-HD. Adicionalmente, este tipo de HAC pode promover hiperplasia nodular adrenocortical uni ou bilateral, dando formas irregulares às adrenais e ecotextura e ecogenicidade alteradas (Nayland *et al*, 2002).

Também no HAC-AD há a possibilidade de existirem tumores bilaterais e por isso haver adrenomegália bilateral. Na existência de um tumor unilateral, é suposto a adrenal contralateral apresentar-se atrofiada. No entanto, este dado é difícil de observar ecograficamente por variadas limitações. Com efeito, não existe um consenso à cerca do valor de referência mínimo da espessura das adrenais, grande parte dos animais com HAC-AD apresentam tamanhos normais da adrenal contralateral, e ainda a adrenal direita é de difícil visualização ecográfica. Por outro lado, a adrenomegália unilateral pode ter origem num adenocarcinoma, num feocromocitoma, numa neoplasia não-funcional ou em metástases secundárias (Mahaffey & Barber, 2002; Nayland *et al*, 2002; Benchekroun *et al*, 2010). Apesar das dificuldades colocadas, está descrito que a espessura de uma adrenal maior que 2,0 cm é mais indicativo de HAC-AD do que de HAC-HD (Voorhout, Rijnberk, Sjollema & van den Ingh, 1990).

Existem outras alterações verificadas numa ecografia abdominal de um típico animal com síndrome de Cushing e que englobam a hepatomegália com ecotextura e ecogenicidade normal ou aumentada (figura 14-B), com ou sem estase biliar. A bexiga pode apresentar sedimento devido à retenção urinária, ou mesmo devido a cálculos biliares.

**Figura 14 – A)** Ecografia abdominal de um canídeo, Chow-Chow, com 10 anos de idade, onde foi evidenciado um aumento da glândula adrenal esquerda. **B)** Ecografia abdominal de um canídeo sem raça definida, com 10 anos de idade, com alterações hepáticas. Fotografias cedidas pelo serviço de imagiologia do Hospital Escolar da FMV-UTL.



Legenda: **A)** A adrenal esquerda (contorno laranja) apresenta um diâmetro/espessura de 10,2mm (> 7,5mm), com alteração da ecotextura e da ecogenidade; **B)** O fígado apresenta-se hiperecogênico relativamente ao baço, e com bordos redondos, indicando hepatomegália.

### 6.2.3. Tomografia Axial Computorizada (TAC) e Ressonância Magnética (RM)

No homem, a RM é a modalidade imagiológica mais utilizada para a confirmação de hiperadrenocorticismo (Sahdev, Reznick, Evanson, & Grossman, 2007). São os exames mais informativos, mas devido ao preço elevado destes exames e à pouca existência dos aparelhos em hospitais e clínicas veterinárias, são meios de diagnóstico pouco acessíveis em medicina veterinária.

O tamanho de uma glândula hipofisária num cão normal varia de raça para raça, e mesmo de indivíduo para indivíduo, tornando difícil estipular valores fidedignos de referência. O cálculo do rácio da altura da hipófise pela área do cérebro (rácio P/B) a partir de uma imagem de TAC transversa do centro da hipófise permite distinguir uma hipófise aumentada de uma normal (Vlugt-Meijer, Voorhout, & Meij, 2002). Os macrotumores hipofisários são facilmente identificados com estes exames, pelo maior tamanho e alterações da forma. Tumores menores que 10 mm são dificilmente visualizados, sendo que a RM é mais sensível que a TAC para os microadenomas (Kintzer & Peterson, 2006).

Relativamente às adrenais, também a identificação de neoplasias uni ou bilaterais e a sua localização, assim como a localização de metástases, está facilitada por estes exames (Nelson, 2006). Contudo, a ecografia abdominal na avaliação das adrenais é mais comumente utilizada. Estes exames são também um excelente apoio informativo para o clínico veterinário caso o tratamento seja a hipofisectomia, visto que indica confiantemente o local e tamanho do tumor (Vlugt-Meijer *et al*, 2002).

### 6.3. Testes Funcionais Endócrinos de Diagnóstico

São testes de confirmação do diagnóstico de HAC, não podendo ser substituídos por nenhum dos exames complementares referidos anteriormente. Para o diagnóstico desta endocrinopatia é necessário demonstrar duas características: 1) aumento sérico de cortisol e 2) resistência do eixo H-H-A ao efeito de retrocontrolo negativo dos glucocorticóides (Kooistra & Galac, 2010). Os testes funcionais permitem avaliar estas características, mas nenhum deles é totalmente sensível ou específico, não excluindo a possibilidade de existirem falsos positivos e falsos negativos. A escolha de um teste deve ser baseada nos dados clínicos do paciente, e também na experiência do clínico veterinário relativamente ao uso do teste e à interpretação dos seus resultados.

A interpretação dos resultados destes testes deve ser baseada em valores de referência fornecidos pelos laboratórios de referência onde foram medidos os valores (Herrtage, 2004). Tal como alguns exames imagiológicos, também determinadas provas endócrinas permitem a distinção entre HAC-AD e HAC-HD (quadro 5).

**Quadro 5** – Exames para diagnóstico de hiperadrenocorticismismo canino.

Diagnóstico de HAC	Diagnóstico diferencial de HAC
<ul style="list-style-type: none"><li>• Concentração plasmática de cortisol</li><li>• Rácio cortisol/creatinina urinário</li><li>• Teste de estimulação com ACTH</li><li>• Teste de supressão com dexametasona em dose baixa</li><li>• Teste de supressão com dexametasona em dose baixa + Rácio cortisol/creatinina urinário</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Tomografia Axial Computorizada</li><li>• Ressonância Magnética</li><li>• Concentração endógena de ACTH</li><li>• Ecografia abdominal</li><li>• Teste de supressão com dexametasona em dose alta</li><li>• Teste de supressão com dexametasona em dose alta + Rácio cortisol/creatinina urinário</li></ul>

#### 6.3.1. Concentração Basal de Cortisol Endógeno

Nos pacientes com hiperadrenocorticismismo, os níveis basais de cortisol apresentam-se muito mais elevados relativamente a um paciente saudável. No entanto, o facto do cortisol ser secretado em modo pulsátil e o facto de existirem várias alterações capazes de aumentar a sua concentração tornam este teste pouco sensível e pouco específico, não sendo recomendado o seu uso no diagnóstico desta endocrinopatia (Quintana & Ojeda, 1999).

#### 6.3.2. Rácio Cortisol/Creatinina Urinário (RCCU)

Este teste baseia-se no facto da excreção de cortisol reflectir a sua secreção pelas adrenais. Para anular o grau de concentração de urina, utiliza-se o RCCU, pois a excreção de creatinina é constante num rim estável. Assim, o RCCU é obtido pela divisão da

concentração urinária de cortisol pela concentração urinária de creatinina, em  $\mu\text{mol/l}$ . O teste exige apenas a colheita da primeira urina da manhã pelo proprietário, para evitar variações de flutuação na excreção de cortisol. É considerado um valor aumentado quando se apresenta superior a  $10 \times 10^{-6} \mu\text{mol/l}$  (Herrtage, 2004; Vaessen, Kooistra, Mol & Rijnberk, 2004). Esta análise, além de simples, rápida e não invasiva, tem elevada sensibilidade (cerca de 92% a 99%) no diagnóstico de hiperadrenocorticismo mas tem uma especificidade bastante baixa, principalmente em animais que apresentem uma doença que não o HAC (Smiley & Peterson, 1993). Com efeito, situações de stress e outras doenças que não o hiperadrenocorticismo, tais como a *Diabetes mellitus*, a piómetra e a doença hepática, entre outras, podem aumentar o RCCU. (Feldman, 1995).

Apesar deste teste não diferenciar HAC-AD de HAC-HD, os resultados de Galac, Kooistra, Teske e Rijnberk (1997) indicam que um animal que mostre valores maiores que  $100 \times 10^{-6} \mu\text{mol/l}$  tem 90% de probabilidade de sofrer de HAC-HD.

### **6.3.3. Teste de Estimulação com ACTH (TE-ACTH)**

Este exame é de bastante relevância para o diagnóstico de HAC, visto que diferencia o HAC-Ia de outras formas de HAC, e são necessárias apenas duas colheitas de sangue para a sua realização (Feldman, 1983a; Zerbe, 2000a).

Neste teste é utilizada ACTH exógena, que pode ser em gel aquoso de ACTH porcina (Acthar Gel®), sintética (Synacthen®) ou então formas de ACTH formuladas em algumas farmácias veterinárias. Estas formulações devem ser utilizadas com especial cuidado, visto que existe alguma variabilidade na reprodução dos efeitos das outras ACTHs exógenas. Os protocolos de realização deste teste variam de acordo com o tipo de ACTH usado (Peterson, 2007). No entanto, o objectivo é comum: administrar ACTH exógena capaz de promover a estimulação máxima da reserva adrenocortical de cortisol, medindo, pré e pós a estimulação, a concentração sérica de cortisol (Behrend & Kempainen, 2001).

Num cão com hiperadrenocorticismo natural, a resposta do cortisol à estimulação com ACTH é exageradamente elevada, enquanto num cão com HAC-Ia, os valores séricos de cortisol estão baixos após a estimulação com ACTH, pois o eixo H-H-A está suprimido pela acção dos glucocorticóides exógenos (quadro 6) (Feldman & Nelson, 2004; Peterson, 2007). No caso de carcinomas adrenais, a concentração de cortisol pós-ACTH pode atingir valores superiores a  $50 \mu\text{g/dL}$  ( $>1500 \text{ nmol/L}$ ) (Kintzer & Peterson, 2006). Contudo, Feldman (1983a) verificou um valor sérico médio de cortisol pós-ACTH maior nos animais com HAC-HD que os com HAC-AD.

A especificidade e sensibilidade deste teste são relativamente elevadas, com valores maiores que 50% (64% a 86%) e aproximadamente 85% (60% a 90%), respectivamente. A sensibilidade do teste é maior, cerca de 85% a 87%, nos pacientes com HAC-HD, enquanto apenas diagnostica pouco mais de 50% (aproximadamente 60%) dos pacientes com HAC-



AD (Peterson, 2007; Behrend & Kennis, 2010). Na medida em que não tem uma sensibilidade de 100%, os cães com valores dentro do intervalo de referência normal após a estimulação, mas com sinais clínicos e laboratoriais compatíveis com hiperadrenocorticismo, não devem ser considerados imediatamente negativos, sendo necessário realizar outros testes de diagnóstico. Mais uma vez, situações de stress, como a simples ida ao veterinário, ou outras doenças podem adulterar os resultados, havendo uma percentagem de 14% a 36% de falsos positivos. Outra vantagem do uso deste teste funcional é a sua utilização na monitorização do tratamento médico com trilostano ou mitotano, sendo que a sua utilização no diagnóstico permite posteriormente realizar comparações após o início do tratamento (Feldman, 1985; Ramsey, 2010).

**Quadro 6** - Interpretação de Resultados do Teste de Estimulação com ACTH. Adaptado de Feldman, 1995; Herrtage, 2004; Nelson, 2006; Fornel, Delisle, & Devauchelle, 2007

	Valores Séricos de Cortisol	
	T <sub>0h</sub> pré-ACTH	T <sub>1-2h</sub>
Normal	0,5 – 9,0µg/dL 20 – 250nmol/l	7,0-18µg/dL 200-500nmol/l (<600nmol/l)
Sugestivo de HAC	Normal Aumentado ou Diminuído	18 – 22µg/dL (500 – 600nmol/l)
Fortemente Sugestivo de HAC		>22µg/dL >600nmol/l
Fortemente Sugestivo de HAC-Ia		<2µg/dL <50nmol/l

Legenda: T<sub>0h</sub> – Momento antes da administração de ACTH; T<sub>1-2h</sub> – 1 a 2 horas após a administração de ACTH; > - Maior; < - Menor

**Medição da concentração de 17-hidroxiprogesterona com TE-ACTH:** a medição dos níveis séricos de 17-hidroxiprogesterona após estimulação com ACTH é especialmente uteis para diagnosticar casos de hiperadrenocorticismo atípico ou documentar níveis de esteróides sexuais aumentados no HAC natural (Greco, 2007). As concentrações podem estar aumentadas em cães saudáveis, e por isso não é viável o diagnóstico de HAC através deste teste (Chapman *et al*, 2003). É também um bom teste para monitorização do tratamento de Cushing atípico, mas só quando este é efectuado com mitotano, visto que a inibição do sistema 3β-HSD levada a cabo pelo trilostano promove o aumento da 17-hidroxipregnenolona, que pode causar reacção cruzada com a 17-hidroxiprogesterona (Herrtage, 2004).

#### **6.3.4. Teste de Supressão com Dexametasona em Dose Baixa (TSDDDB)**

Sendo considerado por muitos o teste endócrino de escolha em clínica veterinária para o diagnóstico de hiperadrenocorticismo, quando usado correctamente, o TSDDDB tem uma sensibilidade de 90 a 95% para cães com HAC-HD e virtualmente 100% para cães com HAC-AD, o que o torna num bom exame para excluir o HAC (Feldman & Nelson, 2004). Outra vantagem é o facto de em alguns casos diferenciar HAC-HD de HAC-AD. Este teste demonstra a resistência do eixo H-H-A ao retrocontrolo negativo levado a cabo pela dexametasona (Dunn, 1997; Herrtage, 2004; Greco, 2007).

Nesta prova é usada uma dose de 0,01mg/Kg de dexametasona em fosfato de cálcio (ou 0,015mg/kg se em polietilenoglicol), IV ou IM. Este potente glucocorticóide tem a vantagem de não provocar reacção cruzada com o cortisol. São necessárias três amostras de sangue, uma antes e as outras pós 4 ( $T_{4h}$ ) e 8 ( $T_{8h}$ ) horas a administração (Yin, 2007). Num cão normal, o efeito de retrocontrolo negativo está íntegro, por isso os níveis séricos de cortisol encontram-se diminuídos após a administração de dexametasona. Já um paciente com as manifestações clínicas e análises bioquímicas compatíveis com a doença que apresente valores séricos de cortisol elevados a  $T_{4h}$  e  $T_{8h}$ , é considerado positivo para o HAC. Num estudo de Feldman, Nelson & Feldman (1996), aproximadamente 61% dos casos HAC-HD mostraram supressão a  $T_{4h}$  e apresentaram valores séricos elevados de cortisol a  $T_{8h}$ . Nestes casos, o diagnóstico de HAC-HD pode ser confirmado, evitando a realização de testes posteriores para diferenciar o tipo de HAC (quadro 7).

Apesar deste exame ter uma sensibilidade mais elevada em comparação ao TE-ACTH e permitir o diagnóstico de alguns cães com HAC-HD, tem como principal desvantagem uma especificidade baixa (40 a 50%), especialmente em cães doentes (Kaplan, Peterson & Kempainen, 1997. Citado por Melián *et al*, 2010) (quadro 7). Adicionalmente, é afectado por mais variáveis, como o stress, necessidade de 8 horas para a sua realização (Feldman, 1983a), não permite a distinção de HAC-Ia e não tem importância clínica na monitorização da resposta ao tratamento (Dunn, 1997). Variações individuais no metabolismo da dexametasona ou o tipo de HAC que o animal desenvolve podem influenciar a percentagem de falsos positivos e também de falsos negativos (Kempainen & Peterson, 1993).

**Quadro 7** - Interpretação dos resultados do teste de supressão com dexametasona em dose baixa. Adaptado de Feldman, 1983a; Feldman, Nelson, & Feldman, 1996; Rijnberk, 1997; Nelson, 2006; Melián *et al*, 2010;.

		Valores Séricos Cortisol		
		T <sub>0h</sub> pré-dexametasona	T <sub>4h</sub>	T <sub>8h</sub>
Normal	0,5 – 9,0µg/dL 20 – 250nmol/l	<1,4µg/dL <40nmol/l		
HAC-HD	Normal ou Aumentado	<1,4µg/dL <40nmol/l	>1,4µg/dL <40nmol/l	
HAC-HD		>1,4µg/dL (>40nmol/l) + T <sub>4h</sub> e/ou T <sub>8h</sub> <50% do valor T <sub>0h</sub>		
HAC		>1,4µg/dL (>40nmol/l) e >50% do valor T <sub>0h</sub>		

Legenda: T<sub>0h</sub> – Tempo antes da administração de dexametasona; T<sub>4h</sub> – 4 horas após administração de dexametasona; T<sub>8h</sub> – 8 horas após administração de dexametasona; > - maior; < - menor

### 6.3.5. Teste de Supressão com Dexametasona em Dose Baixa + Rácio Cortisol/Creatinina Urinário

A junção destes testes para o diagnóstico de hiperadrenocorticismismo é vantajosa na medida em que não é invasivo e não necessita de ser efectuado no hospital, tendo o dono um papel determinante na recolha das amostras.

O dono recolhe urina às 8 horas da manhã de dois dias consecutivos. Ao segundo dia administra oralmente 0,01mg/kg de dexametasona após a recolha de urina, passeia posteriormente o animal, preferencialmente às 12 e 14 horas, e recolhe a terceira amostra de urina às 16 horas. Uma supressão de 50% na média do RCCU ou valores menores que  $10 \times 10^{-6} \mu\text{mol/l}$  são esperados em animais normais, O HAC é diagnosticado quando não há supressão do eixo H-H-A, verificando-se valores maiores que  $10 \times 10^{-6} \mu\text{mol/l}$  (Vaessen *et al*, 2004).

A principal desvantagem neste teste é a impossibilidade de controlo deste pelo médico veterinário, visto que o proprietário do animal é quem efectua o procedimento praticamente todo, sendo necessária a sua aprendizagem e disponibilidade. Por este ponto de vista, algum erro na administração oral ou na recolha da amostra pode adulterar os resultados.

**Quadro 8** - Comparação entre sensibilidade e especificidade dos principais testes funcionais endócrinos para diagnóstico de hiperadrenocorticismo

	Sensibilidade	Especificidade
<b>RUUC</b>	92 - 99%	< 20%
<b>TSDDB</b>	90 - 100%	40 - 50%
<b>TE-ACTH</b>	60-90%	64 - 86%

Legenda: < - menor. Os valores apresentados são uma média de acordo com vários autores

### 6.3.6. Teste de Supressão com Dexametasona em Dose Alta (TSDDA)

Este teste tem como vantagem a capacidade de distinguir HAC-HD de HAC-AD, pelo facto de que com altas doses de dexametasona é esperado nos cães com HAC-HD ser observada uma supressão do eixo H-H-A, e conseqüentemente são verificadas concentrações sanguíneas mais baixas de cortisol. Em contraste, visto que a produção hipofisária de ACTH já está suprimida cronicamente nos pacientes com HAC-AD, a administração de dexametasona, independentemente da dose, não vai suprimir as concentrações sanguíneas de cortisol (Peterson, 2007; Vaessen, Kooistra & Mol, 2004).

A realização do teste é similar à do TSDDB: é recolhida uma amostra de sangue para medição basal de cortisol ( $T_{0h}$ ), logo de seguida é administrado dexametasona na dose por via IV ou IM 0,1mg/kg de dexametasona 4 ( $T_{4h}$ ) e 8 ( $T_{8h}$ ) horas após administração é recolhida mais uma amostra de sangue. A supressão do eixo H-H-A é considerada positiva quando a concentração sérica de cortisol a  $T_{8h}$  se apresenta menor que 1,4  $\mu\text{g/dL}$  (40 nmol/l) ou menor 50% do valor a  $T_{0h}$  (Zerbe, 2000b; Herrtage, 2004; Kintzer & Peterson, 2006).

Apesar permitir diferenciar as duas formas de HAC, 15 a 50% dos pacientes com HAC-HD podem demonstrar resistência ao eixo H-H-A. Com efeito, tumores hipofisários com origem na *pars intermédia* ou alguns tumores maiores da *pars distalis* demonstram resistência à supressão com altas doses de dexametasona (Kooistra & Galac, 2010; Nelson, 2006).

### 6.3.7. Teste de Supressão com Dexametasona em Dose Alta + Rácio Cortisol/Creatinina Urinário

Também ao TSDDA se pode conjugar o RCCU. Novamente é o dono que interpreta um papel determinante para a realização deste teste. São necessários três dias para a sua realização: no primeiro e no segundo recolhem-se amostras da primeira urina matinal (às 8 horas) para medição do RCCU basal. No segundo dia, após a recolha da amostra, é administrada oralmente 0,1 mg/kg de dexametasona. A dexametasona é administrada mais duas vezes, com intervalos de 8 horas. Após a última administração, recolhe-se novamente urina 8 horas depois, ou seja, na manhã do 3º dia. Um resultado menor que 50% do valor de RCCU basal ( $T_{0h}$ ) é indicativo de HAC-HD. Em contraste, um valor maior exige outro exame de diferenciação (Peterson, 2007; Kooistra & Galac, 2010).

### **6.3.8. Teste de Supressão com Dexametasona em Dose Alta + Teste de Estimulação com ACTH**

Apesar de estar documentada a sua utilização, a combinação destes dois testes não traz grande vantagem e não deve ser recomendado o seu uso na medida em que é menos fiável que a utilização individual do TE-ACTH para diagnosticar HAC e menos fiável que o TSDDA utilizado individualmente para distinguir HAC-HD de HAC-AD (Feldman, 1985). Por outro lado, a administração de dexametasona apenas 4 a 6 horas antes da estimulação com ACTH pode influenciar a resposta do cortisol à ACTH (Peterson, 2007) e os resultados podem tornar-se de difícil interpretação para o clínico veterinário (Dunn, 1997).

### **6.3.9. Concentração Basal de ACTH Endógena**

A sua utilização para o diagnóstico da doença *per se* não tem valor, visto que animais doentes podem apresentar valores normais (10-110 pg/ml). No entanto, uma vez confirmada a doença, é um teste extremamente importante na medida em que há relativamente baixa sobreposição de valores séricos de ACTH entre cães com tumores adrenais ou hipofisários, permitindo a diferenciação entre HAC-HD e HAC-AD (Nelson, 2006; Herrtage, 2004). Feldman (1983b) demonstrou que este teste apresenta 91% de sensibilidade em diferenciar as duas formas de HAC.

Este teste, combinado com a ecografia, aumenta a sensibilidade para 100% e a especificidade para 95% (Gould, Baines, Mannion, Evans, & Herrtage, 2001).

Para evitar alterações no valor devido à sua libertação pulsátil ou devido a estímulos que aumentam o stress, a amostra deve ser recolhida entre as 8 e as 9 horas da manhã, tendo o animal ficado internado durante a noite anterior (Quintana & Ojeda, 1999). A amostra sanguínea é recolhida para tubos de ácido etileno diaminotetracético (EDTA) ou heparina, que deve ser imediatamente centrifugada e posteriormente congelada até que seja medida. Deve depois ser enviada para um laboratório de referência em gelo seco. Outra hipótese consiste em juntar ao tubo um inibidor de protease, aprotinina, que preserva a ACTH (Nachreiner & Refsal, 2004).

Num cão com HAC-HD são esperados valores normais ou aumentados de ACTH, enquanto valores séricos baixos ou indetectáveis de ACTH são esperados num cão com HAC-AD ou HAC-Ia. Vários autores consideram valores séricos entre 20 e 40pg/ml um resultado sem diagnóstico ("Grey Zone"), sendo que cerca de 20% dos animais submetidos a este teste apresentam este resultado (Quadro 9). Os cães com HAC-AD apresentam percentualmente mais resultados neste intervalo (Zerbe, 2000b). Nestes casos é aconselhável a realização de outra medição basal na utilização de outro teste de diferenciação como o TSDDA (Feldman, 1983b). Apesar da sua segurança no diagnóstico da causa de HAC, a sua utilização é rara, especialmente devido à ACTH ser bastante lábil, o que implica cuidados

exigidos na recolha da amostra, no seu envio e na sua medição. Consequentemente são necessários custos adicionais para a sua execução (Dunn, 1997; Peterson, 2007).

**Quadro 9** - Interpretação dos resultados do doseamento da concentração endógena de ACTH (Feldman, 1983b; Zerbe, 2000; Peterson, 2007).

Valores séricos de ACTH	
<b>HAC-HD</b>	> 40pg/mL > 8,8pmol/L
<b>Grey Zone</b>	20-40pg/mL 4,4-8,8pmol/L
<b>HAC-AD ou HAC-Ia</b>	< 20pg/mL < 4,4pmol/L

Legenda: > - maior; < - menor.

#### 6.3.10. Teste de Estimulação com CRH ou AVP

Este teste permite a distinção entre as duas formas de HAC: um cão com HAC-HD apresenta valores de ACTH elevados após a estimulação com CRH ou AVP e um cão com HAC-AD tem resposta refractária à estimulação, sendo esperado encontrar valores séricos baixos de ACTH. O facto de ser um teste dispendioso, de ser difícil adquirir CRH exógena e ser complicada a medição de ACTH, este teste é pouco utilizado (Zerbe, 2000; Peterson, 2007).

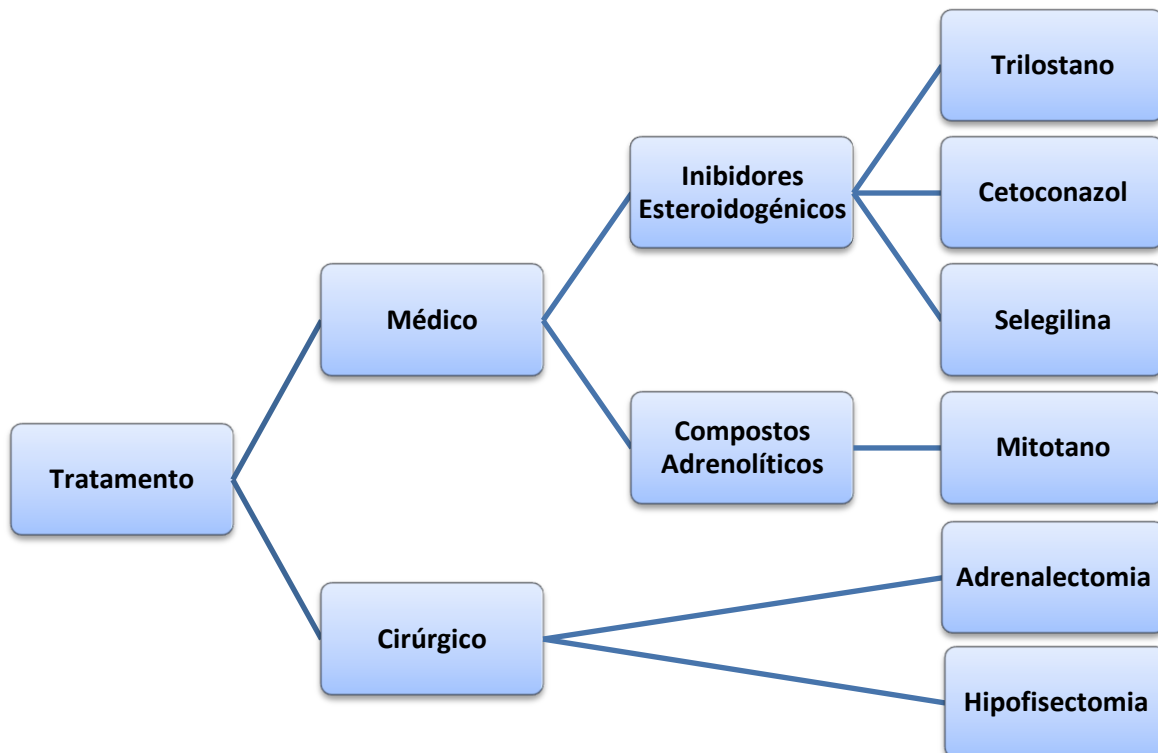
# III. HIPERADRENOCORTICISMO CANINO: Tratamento

## 1. Introdução

Existem actualmente várias hipóteses para o tratamento de HAC canino. A escolha do tratamento depende de vários factores tais como os métodos viáveis na clínica e as disponibilidades de cada país, a etiologia, o estado clínico do indivíduo, a existência de doenças concomitantes, a escolha preferencial do clínico e do proprietário, os custos de cada tratamento e ainda a frequência da monitorização (Daminet, 2006). Relativamente ao estado clínico do cão, Reine (2007) refere que a pressão arterial, a glicemia, a urinálise e a avaliação dos sinais clínicos são parâmetros a verificar para validar a necessidade de tratamento.

O tratamento escolhido pode ser médico ou cirúrgico (figura 15). Dentro do tratamento médico, o clínico pode escolher entre várias opções, havendo vantagens e desvantagens na utilização de cada uma delas

**Figura 15** - Esquema representativo das opções terapêuticas para o Hiperadrenocorticismo canino. Adaptado de Church, 2008.

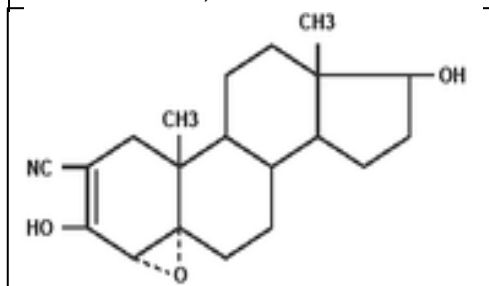


### 2.1. Trilostano (Vetoryl®)

O trilostano (4,5-epoxi-17-hidroxi-3-oxoandrostano-2-carbonitrilo), descrito pela primeira vez em 1970 (Neumann, Potts, Rayan, & Stonner, 1970 citado por Ramsey, 2010) é um esteróide sintético que começou a ser usado no tratamento de HAC canino em 1998 (figura 16) (Hurley *et al*, 1998). Desde então o seu uso em medicina veterinária tem crescido e sendo desenvolvido em vários países.

Não sendo adrenolítico, este esteróide sintético tem a habilidade de bloquear a esteroidogénese, impedindo o excesso crónico de cortisol sérico característico do HAC natural.

**Figura 16** - Estrutura molecular do Trilostano (DVP, *Dechra Veterinary Products*, 2009).



#### 2.1.1. Mecanismo de Acção

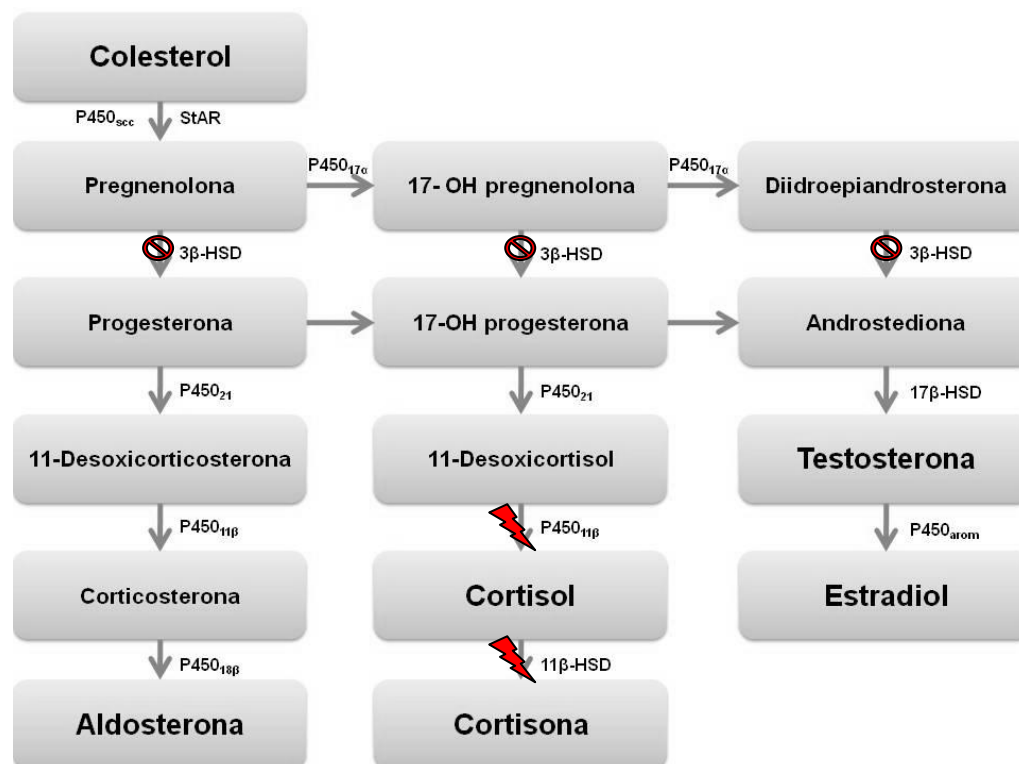
O trilostano é um inibidor competitivo do sistema 3 $\beta$ -hidroxisteróide desidrogenase/isomerase (3 $\beta$ -HSD) (Galac, Buijtel, Mol & Kooistra, 2010). Este sistema enzimático cataliza a conversão de 3 $\beta$ -hidroxisteróides, pregnenolona, 17-hidroxipregnenolona e dehidroepiandrosterona (DHEA), em cetosteróides: progesterona, 17-hidroxiprogesteronona e androstenediona (Wenger, Sieber-Ruckstuhl, Müller, & Reusch, 2004). Com a inibição desta enzima a biossíntese de todas as classes de esteróides, nomeadamente glucocorticóides, mineralocorticóides, progesterona, estrogénios e androgénios fica comprometida (figura 17). Os valores séricos elevados de 17-hidroxipregnenolona e de DHEA em pacientes com HAC-HD submetidos a terapêutica com trilostano comprovam a sua acção inibitória sobre o sistema 3 $\beta$ -HSD (Sieber-Ruckstuhl, Boretti, Wenger, Maser-Gluth, & Reusch, 2006).

Num estudo recente, os cães com HAC-HD apresentaram valores séricos de 17-hidroxiprogesteronona semelhantes antes e após o início do tratamento e valores séricos de cortisol menores após o início do tratamento. Segundo estes resultados, é possível que o trilostano tenha uma acção inibitória sobre a enzima 11 $\beta$ -hidroxilase, que cataliza a conversão de 17 $\alpha$ -hidroxiprogesteronona em cortisol (Sieber-Ruckstuhl *et al*, 2006)

Outra possível acção do trilostano é ter impacto no sistema 11 $\beta$ -hidroxisteróide desidrogenase (11 $\beta$ -HSD), activando-o e convertendo cortisol para cortisona. De facto Sieber-Ruckstuhl e colaboradores (2008) demonstraram que cães com HAC-HD tratados com trilostano apresentavam uma diminuição maior de cortisol sérico que a de cortisona.



**Figura 17** - Esquema representativo da esteroidogéneses evidenciando os locais de acção do trilostano (Church, 2008).



Legenda: P450 - Enzimas da família do citocromo P450 intervenientes na esteroidogénesis: P450<sub>scc</sub> – enzima clivadora da cadeia principal de colesterol (*Side Chain Clivage*); P450<sub>17α</sub> - 17α hidroxilase; P450<sub>21</sub> – 21 hidroxilase; P450<sub>11β</sub> - 11β hidroxilase; P450<sub>18β</sub> - 18β hidroxilase; P450<sub>arom</sub> – enzima aromatizante; 3β, 11β e 17β-HSD – Sistemas 3β, 11β e 17β-hidroxisteróide desidrogenase/isomerase.. O símbolo evidencia o local da acção inibitória do trilostano na esteroidogénesis e o símbolo indica locais de outras possíveis acções do trilostano

### 2.1.2. Farmacocinética

O trilostano é administrado oralmente. A sua farmacocinética é conhecida já em algumas espécies animais.

No cão saudável, a concentração sanguínea máxima é atingida passadas aproximadamente 1 hora e 30 minutos e volta a valores mínimos aproximadamente 18 horas após a administração oral (Church, 2008; Melián *et al.*, 2010; Ramsey, 2010). É um composto lipossolúvel, razão pela qual deve ser administrado com a alimentação para aumentar a sua absorção (Church, 2008; DVP, 2009).

No cão está descrito que a sua metabolização ocorre no fígado e os seus metabolitos são excretados na bilis e urina (Plumb, 2005).

### 2.1.3. Uso no Hiperadrenocorticism Hipófise-Dependente

Actualmente, vários estudos têm tido como base a avaliação clínica do trilostano, e alguns clínicos continuam a investigar este promissor fármaco para o tratamento de HAC-HD. A dose inicial administrada, a frequência da administração, os parâmetros e a frequência da monitorização, ajustamentos de dose, a segurança e os efeitos adversos deste fármaco

variam nos vários protocolos utilizados, sendo ainda actualmente alvos de alguma controvérsia.

### i) Dose de Indução

A dose inicial utilizada não é consistente, variando de acordo com o procoloto por que cada veterinário se rege. A DVP (2009), empresa fabricante do Vetoryl®, o nome comercial do trilostano, informa que a dose inicial de administração deve ser de 2.2-6.7 mg/kg/dia. As variações devem ser ajustadas de acordo com as cápsulas comercialmente disponíveis: 10, 30, 60 e 120 mg (quadro 10). Doses mais baixas do que as recomendadas pelo fabricante têm sido usadas e têm-se obtidos bons resultados: Vaughan, Feldman, Hoar & Nelson (2008) começaram com uma dose entre 1,4 e 4,8 mg/kg/dia, numa frequência de 12 em 12 horas (0,7-2,4 mg/kg de 12 em 12 horas), e obtiveram melhoria da sintomatologia clínica em 68% dos animais ao segundo controlo. De facto, estas doses mais baixas parecem reduzir o risco de sobredosagem. Doses entre 1,8 e 2,0 mg/kg/dia (Neiger, Hurley & Ramsey, 2002) ou entre 2,0 a 4,0 mg/kg/dia (Galac *et al*, 2010) foram também utilizadas como dose inicial, sendo que a maioria dos animais tratados melhoraram a sua PU/PD e PF no primeiro controlo.

O clínico veterinário deve ter em conta o estado clínico do paciente antes de iniciar o tratamento e escolher a dose adequada (Reine, 2007). Por outro lado, a requisição de formulações específicas ao fabricante tem um custo elevado, o que limita o cálculo da dose precisa (Reine, 2007; Ramsey, 2010). Logo, o clínico apresenta-se limitado às formas comerciais. Antes de se iniciar o tratamento, os animais devem ser avaliados quanto à sua função renal e hepática (DVP, 2009).

Foi já descrito que animais de pequeno porte podem possivelmente necessitar de doses maiores por quilograma de peso, comparativamente aos animais de grande porte (Braddock, Church, Robertson & Watson, 2003).

**Quadro 10** - doses iniciais de Vetory® (trilostano) recomendadas, segundo a empresa Dechra Veterinay Products (DVP, 2009). \*- para mais de 60kg (132pd) deve ser administrada uma combinação de cápsulas adequada.

Peso (kg)	Peso (Pd)	Dose Inicial/dia (mg)
≥1.7 a <4.5	≥3.8 a <10	10
≥4.5 a <10	≥10 a <22	30
≥10 a <20	≥22 a <44	60
≥20 a <40	≥ 4 a <88	120mg
≥40 a <60*	≥88 a <132*	180 (3 x 60mg)

## **ii) Frequência**

Já tendo sido demonstrado que o trilostano tem uma duração apenas entre 2 a 13 horas na inibição da concentração sérica de cortisol (Bell, Neiger, McGrotty & Ramsey, 2006), é discutida uma frequência de administração de 12 em 12 horas ou de 24 em 24 horas. Grande parte dos autores adere a uma administração única por dia obtendo uma eficácia do trilostano com uma média de 86% (70 a 97%) (Ruckstuhl *et al* 2002; Neiger *et al*, 2002; Braddock *et al*, 2003; Galac *et al*, 2010).

Por outro lado, nos estudos em que foi utilizada uma frequência de administração de trilostano de 12 em 12 horas, a eficácia foi cerca de 90% (Bell *et al*, 2006; Vaughan *et al*, 2008). Assim, apesar da maioria dos animais com HAC-HD serem bem controlados com uma dose única, alguns poderão necessitar de uma frequência de 12 em 12 horas para obter melhores resultados (Vaughan *et al*, 2008; Ramsey, 2010).

## **iii) Monitorização**

A monitorização do tratamento de HAC-HD canino continua em discussão, havendo a necessidade de um conhecimento mais aprofundado dos mecanismos de acção do trilostano, assim como da sua farmacocinética. Têm sido utilizados vários meios laboratoriais para avaliar a eficácia do tratamento, obtendo bons resultados.

Os principais meios de monitorização mais utilizados têm sido a medição de cortisol sérico pós TE-ACTH e a avaliação dos sinais clínicos (Neiger *et al*, 2002; Braddock *et al*, 2003; Bell *et al*, 2006; Galac *et al*, 2010; Ramsey, 2010). Um perfil hematológico e outro bioquímico poderão também ser dados de apoio importantes para a monitorização do paciente. Os sinais clínicos têm sido avaliados através de questionários standardizados para os donos nos estudos que têm sido realizados. Por conseguinte, esta avaliação é sempre subjectiva, sendo difícil anular a opinião dos proprietários. Tem-se observado melhoras na PU/PD, na PF e na actividade do animal logo na primeira semana a um mês após o início do tratamento (Neiger *et al*, 2002; DVP, 2009). Relativamente aos problemas dermatológicos, está descrito que a remissão da sintomatologia pode durar alguns meses. (Ruckstuhl *et al*, 2002; Neiger *et al*, 2002; Melián *et al*, 2010). A justificação prende-se ao facto de os problemas dermatológicos serem derivados de um excesso crónico de cortisol a longo-termo, enquanto a PU/PD e PF ocorrem directamente devido ao excesso crónico de cortisol (Ruckstuhl *et al*, 2002).

O hemograma, tal como outros parâmetros bioquímicos, sofrem alterações durante o tratamento com trilostano (DVP, 2009) (quadro 11). De facto, as alterações esperadas nas análises sanguíneas num paciente com HAC evoluem no sentido de melhorar. A FAS tem demonstrado diminuições significativas logo aos 10 dias de tratamento, mas pode manter-se superior ao intervalo de referência (Rucksthal *et al*, 2002; Aerteaga *et al*, 2010). Outros parâmetros que se alteram incluem a ureia, a creatinina e o ionograma, este último

importante para verificar se não há sobredosagem de trilostano, podendo o animal desenvolver um episódio de hipoadrenocorticism (DVP, 2009; Melián et al, 2010). Todavia, uma crise adissoniana durante o tratamento com trilostano não implica alterações nos parâmetros electrolíticos (Ramsey, Richardson, Lenard, Tebb, & Irwin, 2008).

**Quadro 11** - Alterações esperadas no perfil hematológico e bioquímico durante o tratamento de hiperadrenocorticism canino com trilostano. Adaptado de DVP, 2009.

Parâmetros	Alterações em cães com HAC tratados com trilostano
<b>Eritrócitos</b>	Podem vir a diminuir, mas dentro do intervalo de referência
<b>FAZ</b>	
<b>ALT</b>	Diminui, mas sem atingir necessariamente os valores de referência
<b>Colesterol</b>	
<b>Creatinina</b>	Pode aumentar ligeiramente, mas mantendo-se dentro do intervalo de referência
<b>Ureia</b>	
<b>Potássio</b>	
<b>Sódio</b>	Pode diminuir ligeiramente, mas sem sair do intervalo de referência

O TE-ACTH é vantajoso para a avaliação da inibição enzimática do trilostano e para o cálculo de ajustamentos na dose. O cortisol sérico após o TE-ACTH diminui significativamente na maior parte dos animais nos primeiros 7 a 30 dias após o início do tratamento (Ruckstuhl *et al*, 2002; Neiger *et al*, 2002; Braddock *et al*, 2003). Está comprovado que os resultados da medição de cortisol sérico pós-TE-ACTH são influenciados pelo intervalo de tempo decorrido entre a toma de trilostano e a realização do teste (Bell *et al*, 2006). Esse intervalo de tempo deve ser aproximadamente entre 2 a 6 horas (DVP, 2009; Daminet, 2006; Vaughan *et al*, 2008; Galac *et al*, 2010).

Os valores ideais de cortisol sérico pós-ACTH medidos nos cães tratados com trilostano são alvo de controvérsia, não havendo intervalos de referência standardizados (Melián *et al*, 2010). A DVP (2009) informa que valores entre 1,45 e 9,1 µg/dL (40-250 nmol/l) são considerados valores indicativos de controlo. Estes valores devem ser interpretados juntamente com os sinais clínicos e com os resultados laboratoriais (Melián *et al*, 2010).

A frequência na monitorização varia consoante os autores. É aconselhado a realização de uma primeira monitorização entre os 10 a 14 dias após o início do tratamento (Melián *et al*, 2010; Ramsey, 2010; DVP, 2009). Esta monitorização é sobretudo importante para verificar se os valores de cortisol sérico não se encontram abaixo dos valores de referência. Se tal acontecer, é necessário reduzir a dose. Quando os valores séricos de cortisol se encontram acima do intervalo de referência mas sem sinais clínicos de sobredosagem, não é aconselhável reformular logo a dose (Melián *et al*, 2010; Ramsey, 2010).

As monitorizações subsequentes devem ser realizadas 1 mês depois e de 3 em 3 meses após o início do tratamento, excepto quando os animais ainda não estão controlados. Ramsey (2010) aconselha monitorizações de 30 em 30 dias nos primeiros 3 meses, de 3 em 3 meses no primeiro ano, e posteriormente todos os 4 a 6 meses.

Como referido, o trilostano pode afectar também a aldosterona, na medida em que os seus níveis séricos mostram-se mais baixos após o início do tratamento. No entanto esta hormona esteróica não é tão afectada como o cortisol. Várias hipóteses foram sugeridas para justificar estes valores: (1) existência de diferentes isoenzimas do 3 $\beta$ -HSD nas zonas *fasciculata* e *glomerulosa*, (2) a concentração de trilostano não ser distribuída igualmente nas duas zonas corticais, (3) a dose de trilostano administrada aos animais com HAC não ser suficiente para influenciar as concentrações de aldosterona e ainda (4) o excesso crónico de ACTH nos pacientes com HAC-HD tratados com trilostano, poderão transformar as células da *zona glomerulosa* em células da *zona fasciculata* (Wenger *et al*, 2004; Galac *et al*, 2010). Contudo, Galac *et al* (2010) demonstraram que, apesar do trilostano não influenciar significativamente as concentrações séricas de aldosterona, este influencia o sistema renina-angiotensina, visto que os pacientes com HAC-HD tratados com trilostano apresentam valores elevados de renina. A medição do rácio concentração plasmática de aldosterona/actividade plasmática de renina (PAC/PRA) permite um bom acesso à alteração do sistema renina-angiotensina-aldosterona (Galac *et al*, 2010). No entanto, a avaliação electrolítica permite também monitorizar indirectamente a concentração sérica de aldosterona (Ruckstuhl *et al*, 2002).

#### **iv) Ajustamento de Dose**

A dose inicial de trilostano tem de ser ajustada em alguns animais. Mais frequentemente é necessário aumentar a dose, sendo que apenas uma pequena porção dos animais necessita de uma redução na dose. De acordo com os estudos de Ruckstuhl *et al* (2002), Neiger *et al* (2002), e Galac *et al* (2010), pode ser necessário aumentar a dose em média em cerca de 28% dos animais doentes e diminuir em cerca de 15% dos animais. Em administrações de doses mais baixas, de 12 em 12 horas, é provavelmente necessário aumentar a dose ou a frequência de administração a um maior número de animais (Vaughan *et al*, 2008).

O aumento na frequência de administração pode também ser uma opção. Se um cão não apresentar melhorias no quadro clínico e os resultados endócrinos se apresentarem superiores ao intervalo de referência estipulado, certamente será necessário aumentar a dose de trilostano. Por outro lado, pacientes com níveis de cortisol sérico pós-ACTH dentro dos valores de referência ideais mas com sinais clínicos de HAC persistentes, torna-se mais correcto aumentar a frequência (Vaughan *et al*, 2008; Ramsey, 2010).

#### **2.1.4. Uso no Hiperadrenocorticismo Adrenal-Dependente**

Sendo que o HAC-AD é menos comum nos cães que o HAC-HD, o seu tratamento com trilostano está pouco documentado. No entanto, a eficácia do trilostano nesta vertente de HAC é igualmente boa. Machida *et al* (2008) observaram diminuição nos valores de cortisol pré- e pós-TE-ACTH aos vigésimo e quinquagésimo quinto dia de tratamento com trilostano num cão com tumor adrenocortical. Noutro estudo, três cães com HAC-AD tratados com trilostano melhoraram clinicamente (Benchekroun *et al*, 2008). De acordo com a bibliografia, as doses iniciais utilizadas não variam entre os dois tipos de HAC-HD e HAC-AD, sendo utilizada uma dose entre 1,4 a 6 mg/kg/dia (Machida *et al*, 2008; Benchekroun *et al*, 2008; Vaughan *et al*, 2008).

#### **2.1.5. Prognóstico**

Um animal com hiperadrenocorticismo tratado com trilostano com administração única por dia tem normalmente um tempo de sobrevivência médio de 549 dias (Neiger *et al*, 2002), enquanto que um animal tratado com 2 administrações diárias tem uma sobrevivência média de 900 dias (Clemente, Andrés, Meliá, Moralles & Perez-Alenza, 2007).

#### **2.1.6. Efeitos Adversos**

Apesar do trilostano ter uma boa acção, ser efectivo e ser bem tolerado no tratamento de HAC canino, estão descritos alguns efeitos adversos deste medicamento. Mais de 10% dos animais podem desenvolver letargia, depressão, inapetência, vômito e diarreia, os quais se resolvem com diminuição da dose (Church, 2008). Os sinais gastrointestinais e a prostração também já foram observados em cerca de 23% dos casos (Clemente *et al*, 2007).

Dos efeitos adversos mais severos que podem ocorrer, destaca-se a necrose adrenal (Church, 2008). De facto, num estudo de Reush *et al* (2007), aproximadamente 71% dos casos tratados com trilostano apresentavam focos de necrose na análise histológica das glândulas adrenais. Neste mesmo estudo, alguns animais apresentavam igualmente algum grau de hiperplasia adrenal, pelo que o autor propôs que ambas as alterações pudessem advir do tratamento com trilostano. A necrose adrenal foi também documentada em outros dois casos de HAC tratados com trilostano (Chapman, Kelly, Archer, Brockman & Neiger, 2004; Ramsey *et al*, 2008). A hipersecreção de ACTH nos animais tratados com trilostano, ou o efeito directo deste ou dos seus metabolitos sobre as adrenais são provavelmente as causas da necrose e hiperplasia adrenal observada (Reush *et al*, 2007).

Os sinais clínicos e laboratoriais de hipoadrenocorticismo secundário à administração de trilostano podem ser encontrados em alguns pacientes, por vezes associado a necrose adrenal (Chapman *et al*, 2004; Reusch *et al*, 2007; Ramsey *et al*, 2008). No entanto, a maior parte dos animais que desenvolvem hipoadrenocorticismo secundário têm remissão dos sinais após cessação do tratamento com trilostano, o que sugere que a sobredosagem de

trilostano tem um papel mais importante que a necrose adrenal no desencadear do hipoadrenocorticismo (Ramsey, 2010).

Alguns animais demonstram hipercalémia no perfil electrolítico durante o tratamento com trilostano (Ruckstuhl *et al*, 2002). A razão para esta hipercalémia não está bem documentada, apenas não parece estar ligada a valores séricos baixos de aldosterona. Deste modo, administrações de medicamentos que favoreçam a hipercalémia, tais como diuréticos permutadores de potássio ou inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA) não devem ser administrados simultaneamente com o trilostano (DVP, 2009).

O trilostano reduz o retrocontrolo negativo sobre o eixo H-H-A, ao inibir a concentração de cortisol. Consequentemente foi já demonstrado que tal efeito pode resultar na hiperplasia das células corticotróficas e, por isso, no caso de HAC-HD, num aumento da causa primária da doença, ou seja, da neoplasia hipofisária (Tashima *et al*, 2009).

Por fim, se uma não resposta ao tratamento for considerada um efeito adverso, então esta é o efeito adverso mais comum dos descritos, mas um aumento na dose total ou na frequência de administração pode reverter o “não-efeito” do trilostano (Ramsey, 2010).

## **2.2. Mitotano, O.p'-DDD (Lysodren®)**

O mitotano, também conhecido em medicina veterinária por *o.p'*-DDD, tem sido o fármaco mais utilizado para o tratamento médico do HAC canino nos Estados Unidos e também em Portugal desde há mais de 30 anos (Reine, 2007; Plumb, 2005; Ramsey & Neiger, 2007). A sua estrutura assemelha-se ao conhecido insecticida Clorofenotano (DDT) (Plumb, 2005). Há já uma grande experiência no uso deste composto e estão disponíveis vários protocolos e guias para a sua utilização em várias bibliografias. Devido aos seus efeitos e toxicidade, o proprietário de um animal que seja tratado com mitotano deve ser cuidadosamente instruído para o uso do medicamento (Reine, 2005).

### **2.2.1. Mecanismo de Acção e Farmacologia**

O mitotano é um agente adrenocorticolítico, na medida em que tem um efeito citotóxico sobre as células das zonas *reticularis* e *fasciculata* e, em menor extensão, sobre a zona *glomerulosa*, provocando assim necrose selectiva e progressiva do córtex adrenal. Em doses elevadas, o mitotano tem a capacidade de provocar necrose em todas as zonas corticais (Plumb, 2005; Reine, 2005; Daminet, 2006; Melián *et al*, 2010). Crê-se também que tenha alguma acção inibitória sobre a esteroidogénese, possivelmente ao nível da enzima 11 $\beta$ -hidroxilase (Church, 2008).

Este fármaco é administrado oralmente e preferencialmente acompanhado com comida, na medida em que também é lipofílico. Provavelmente é metabolizado também a nível hepático e excretado na bÍlis e urina (Arnold, 2001; Church, 2008;).

### 2.2.2. Uso no Hiperadrenocorticismo Hipófise-Dependente

Estão descritos dois protocolos de tratamento com mitotano: um deles causa uma destruição adrenocortical selectiva, que inclui duas fases, uma de indução inicial (*Loading dosage*) e outra de manutenção (*Maintenance Dosage*) (Kintzer & Peterson, 1991; Reine, 2007; Melián *et al*, 2010). O outro protocolo tem como base a lise de todo o córtex adrenal, sendo assim não selectivo. Tal como o tratamento com trilostano, o tratamento com mitotano necessita de ser monitorizado, também com a avaliação do TE-ACTH e dos sinais clínicos.

#### i) Adrenocorticolise Selectiva

✓ Fase de indução: O objectivo desta fase é administrar doses elevadas de mitotano, entre 25 a 50 mg/kg/dia, de modo a diminuir os níveis de cortisol pré-ACTH para valores entre 1 e 4 µg/dL e pós- ACTH para < 4 µg/dL, e de modo a induzir controladamente sinais de hipoadrenocorticismo. A duração desta fase pode variar entre 5 e 65 dias, dependendo da resposta do paciente ao mitotano (Kintzer & Peterson, 1991). Durante esta fase é imprescindível um bom controlo do proprietário relativamente aos sinais clínicos do animal, nomeadamente o apetite, a água ingerida e a actividade. Nos primeiros 10 dias, os animais devem ser submetidos a um teste de estimulação de ACTH e a uma avaliação dos sinais clínicos (Reine, 2007; Melián *et al*, 2010). Se os sinais clínicos e resultados endócrinos estiverem controlados, o animal passa para a dose de manutenção. Se os valores de cortisol sérico estiverem ligeiramente acima do ideal, mas com um bom controlo dos sinais clínicos, é aconselhável trocar o animal para a fase de manutenção (Reine, 2007). Tendo em atenção as doses altas utilizadas, alguns endocrinologistas receitam administrações orais de 0,15 a 0,25 mg/kg/dia de prednisona ou prednisolona durante esta fase, de modo a evitar crises adissonianas. Nestes casos, as monitorizações devem ser realizadas todos os 3 a 5 dias após a primeira monitorização até se atingir o controlo. O TE-ACTH deve ser realizado antes da toma de glucocorticóides no dia da monitorização, pois tanto a prednisona como a prednisolona causam reacção cruzada com o cortisol endógeno (Reine, 2007). A desvantagem deste procedimento é o facto desta administração poder mascarar os sinais clínicos indicativos de controlo nesta fase, pelo que não é recomendado por alguns autores (Ramsey & Neiger, 2007). Outra hipótese consiste em disponibilizar ao proprietário prednisona ou prednisolona para administrar aos animais só em casos de suspeita de crise adissoniana. Reine (2007) recomenda administrações de 0,3 a 1,0 mg/kg/dia caso o animal comece com vómitos, diarreia ou anorexia.

✓ Fase de Manutenção: Nesta fase é administrada uma dose inicial de aproximadamente 50 mg/kg, a qual é dividida em duas a quatro doses dadas ao longo da semana. A monitorização deverá realizar-se 30 dias após o início da fase de manutenção,



e os valores de cortisol pré- e pós-ACTH devem encontrar-se em conformidade com o estipulado para a fase de indução. Posteriormente a cada 3 a 6 meses, o animal deve ser reavaliado clinicamente. Caso os valores não sejam os ideais, deve-se realizar um ajustamento na dose e realizar novo controlo em um mês. Poucos cães necessitam de uma redução na dose, necessitando mais de um aumento (Reine, 2007; Ramsey & Neiger, 2007; Melián *et al*, 2010).

## **ii) Adrenocorticolise Não Selectiva**

Este protocolo permite uma abordagem ao tratamento mais simplificada (Reine, 2007). No entanto é mais agressivo, menos seguro, mais dispendioso e as reincidências são mais elevadas (Ramsey & Neiger, 2007).

O protocolo consiste em administrar uma dose de 50 a 75 mg/kg/dia ao longo de 25 dias. A zona glomerulosa é também afectada, e por isso, para além de glucocorticoides, mineralocorticoides devem ser também suplementados a partir do terceiro dia de tratamento. Após os 25 dias, os animais devem continuar com suplementação vitalícia de mineralocorticoides e glucocorticóides e um TE-ACTH deve ser realizado ao trigésimo dia para averiguar a eficácia da adrenocorticolise química (Church, 2005; Reine, 2007).

### **2.2.3. Uso no Hiperadrenocorticismismo Adrenal-dependente**

Os cães que sofrem de HAC-AD podem ser tratados com os protocolos descritos anteriormente, com ligeiras diferenças, visto que necessitam de uma dose mais elevada, entre 50 a 75 mg/kg/dia na fase de indução e 75 a 100 mg/kg/dia na fase de manutenção. Por vezes doses maiores que 100 mg/kg são necessárias para alguns animais. Assim sendo, a suplementação de glucocorticoides como a prednisona ou prednisolona numa dose de 0,2 mg/kg/dia está indicada para estes animais (Melián *et al*, 2010).

### **2.2.4. Prognóstico**

De acordo com o estudo de Clemente *et al* (2007), o tempo de sobrevivência médio de um animal com HAC tratado com mitotano ronda os 720 dias, semelhante ao tempo de sobrevivência de uma animal tratado com trilostano.

### **2.2.5. Efeitos Adversos e Recorrências**

A maior desvantagem do uso do mitotano são os efeitos adversos que provoca. De facto, a percentagem de animais que acusam efeitos adversos é maior que a do trilostano, (Ramsey & Neiger, 2007; Clemente *et al*, 2007). Por um lado, sinais gastrointestinais como náuseas, vômitos e diarreia, alterações comportamentais e fraqueza muscular podem ocorrer devido à administração do fármaco em si.

Devido à sua acção adrenocorticolítica, o mitotano pode provocar uma deficiência grave em glucocorticoides e conseqüentemente o aparecimento de hipoadrenocorticismismo. Neste caso, o animal também apresenta anorexia, fraqueza, ataxia diarreia e vômitos. Para verificar a

causa da sintomatologia, deve ser realizado um TE-ACTH: uma ausência de resposta indica a presença de hipoadrenocorticismo (Reine, 2007; Ramsey & Neiger, 2007; Melián *et al*, 2010).

Outra desvantagem do mitotano é não impedir que hajam recidivas, na medida em que 50% dos animais podem necessitar de uma 2ª fase de indução no primeiro ano (Kintzer & Peterson, 1991).

### **2.3. Cetoconazole**

---

É um derivado dos imidazóis, e usado como tratamento antifúngico nos cães, tendo também uma acção semelhante ao trilostano na medida que inibe a síntese de esteróides ao inibir as enzimas dependentes do citocromo P-450. É a opção terapêutica legalizada para o o HAC na Tailândia (Plumb, 2005; Church, 2006; Lyen & Huang, 2008). São administrados oralmente 2,5 mg/kg de 12 em 12 horas durante sete dias e se for tolerado pelo animal, a dose aumenta posteriormente para 5 mg/kg também de 12 em 12 horas. Passados 14 dias deve realizar-se monitorização com um TE-ACTH e se necessário reajustar a dose. Animais podem precisar de doses superiores a 20 mg/kg numa frequência de 12 em 12 horas para atingir os efeitos desejáveis (Lyen & Huang, 2008).

As desvantagens do seu uso são a sua baixa eficácia comparada com a do trilostano ou mitotano, o custo elevado, a necessidade de duas administrações diárias *sine die* e os seus efeitos adversos, nomeadamente a hepatotoxicidade que tem quando administrado em doses elevadas (Church, 2006; Melián *et al*, 2010). Contudo, o cetoconazole é indicado nos países sem acesso ao trilostano e quando os animais não toleram bem o mitotano (Ramsey & neiger, 2007).

### **2.4. Hidroclorido de Selegilina (L-Denepryl®)**

---

A selegilina, também denominado L-Denepryl, permite controlar o HAC-HD na medida em que inibe a monoamina oxidase tipo B, e possivelmente a concentração de dopamina a nível do SNC aumenta, diminuindo a concentração sérica de ACTH (Church, 2006; Melián *et al*, 2010). Contudo, Reusch, Steffen & Hoerauf (1999) verificaram alguma melhoria nos sinais clínicos e fraca alteração nos valores de cortisol sérico pré- e pós- TE-ACTH. Assim, um animal que não demonstre melhoras no quadro clínico deve ser submetido a uma nova terapêutica (Ramsey & Nieger, 2007).

### **2.5. Outras Hipóteses Terapêuticas**

---

Variadas hipóteses têm sido estudadas para o tratamento de HAC canino, poucas com bons resultados. São exemplos de fracasso a bromocriptina, a ciproheptadina, metirapona e a aminoglutemida (Ramsey & Neiger, 2007).

A Cabergolina, um agonista dos receptores D2 de dopamina, foi também avaliada para o tratamento de HAC-HD, mas atingindo fracos resultados: 40% dos pacientes não

responderam e outros 12% sofreram recorrências (Castillo, Gómez, Lalia, Blatter, & García, 2008).

O ácido retinóico, um agente capaz de agir sobre a transcrição da POMC, diminuindo os níveis de ACTH, mostrou-se eficaz em reduzir os níveis séricos de cortisol, de ACTH e de  $\alpha$ -MSH, o tamanho do tumor hipofisário e o RCCU (Castillo *et al*, 2006).

### 3. Tratamento Cirúrgico

#### 3.1. Hipofisectomia Transfenoidal para Tratamento de Hiperadrenocorticismismo Hipófise-dependente

É o recurso cirúrgico utilizado para o tratamento de HAC-HD. É o tratamento de escolha e o mais utilizado em medicina humana, sendo que elimina directamente a causa de hiperadrenocorticismismo. No entanto, mesmo em humanos, pode haver uma remissão dos sinais clínicos em 42% a 86% dos casos (Findling & Raff, 2006).

Hanson e colaboradores (2007) obtiveram bons resultados após a hipofisectomia de 180 cães com HAC-HD: as taxas de sobrevivência para os primeiros quatro anos foram 86%, 83%, 80% e 79%, respectivamente. Cerca de 8% dos casos não responderam favoravelmente e morreram 4 semanas após a cirurgia. As recidivas e apresentações de doença residual são observadas em 23% e 7% dos casos, respectivamente.

No Japão recentemente também foi investigada a eficácia da hipofisectomia. Ocorreram 12% de casos com recidivas e 4% com apresentação residual de doença (Hara *et al*, 2010).

No pós-operatório, devido à total hipofisectomia, os animais submetidos a este procedimento necessitam de suplementação hormonal após a cirurgia, nomeadamente de acetato de hidrocortisona e tiroxina (Meij *et al*, 2002; Hara *et al*, 2010). Não obstante, monitorizações endócrinas como medição plasmática de tiroxina e RCCU serão necessárias (Meij *et al*, 2002). O TE-ACTH não mostrou bons resultados como parâmetro de monitorização na medida em que pode ser adulterado pela medicação hormonal (Hara *et al*, 2010).

Apesar da eficácia apresentada, a hipofisectomia não é o tratamento mais utilizado em medicina veterinária em vários países, incluindo Portugal, pelas várias condições impostas para a sua execução: disponibilidade financeira e horária do proprietário para a cirurgia e manutenção no pós-operatório, necessidade de uma clínica especializada, com aparelhos como a RM ou a TAC, e presença de um neurocirurgião habilitado e familiarizado com a microcirurgia em causa e de uma equipa experiente incluindo um radiologista e um endocrinologista. Outro inconveniente são as complicações a curto e longo prazo que acarretam a hipofisectomia: hiponatremia pós-operatória, *diabetes insipida* central, hipotiroidismo secundário e redução ou paragem transitória de produção de lágrimas (Meij *et al*, 2002).

### **3.2. Adrenalectomia para o Tratamento de Hiperadrenocorticismo Adrenal-dependente**

---

A adrenalectomia unilateral é considerada o tratamento de escolha para o HAC-AD. A sua realização deve ser avaliada em cada paciente. A presença de metástases ou de tumores não operáveis, assim como o estado clínico do paciente podem contra-indicar a realização desta cirurgia (Nelson, 2006). As complicações que advêm da cirurgia incluem hemorragia, alteração do equilíbrio hidro-electrolítico, pancreatite, tromboembolismo arterial, infecções graves como pneumonia, dificuldade na cicatrização, hipoadrenocorticismo resultantes da insuficiência adrenal, e paragem cardíaca e/ou arritmias (Kintzer & Peterson, 2006). Esta constelação de complicações contribui para a relativamente elevada taxa de mortalidade pouco tempo após a cirurgia (cerca de 22%) (Kyles *et al*, 2003).

No pós-operatório, os animais necessitam de suplementação de glucocorticoides e possivelmente de mineralocorticoides devido à insuficiente secreção endógena repentina que o animal sofre. A longo prazo deve ser rigorosamente monitorizado, nomeadamente a nível electrolítico e também endócrino através de um TE-ACTH. Alguma alteração electrolítica implica a administração oral de mineralocorticóides como a fludrocortisona. Os glucocorticoides devem ser administrados até os valores de cortisol pré- e pós-TE-ACTH estabilizarem (Kyles *et al*, 2003; Melián *et al*, 2010).

A adrenalectomia bilateral pode ser necessária quando o animal apresenta tumores em ambas as adrenais. Consequentemente será necessário administrar glucocorticóides e mineralocorticoides no restante tempo de vida do animal. Por este procedimento apresentar alguma controvérsia, não é um meio de tratamento corrente em Medicina Veterinária (Fossum, 2002; Church, 2006).

# IV. Estudo Retrospectivo: Diagnóstico de Hiperadrenocorticismo Canino e Tratamento com Trilostano

## 1. Material e Métodos

O nosso estudo engloba duas partes. Numa primeira parte foi avaliada a frequência das manifestações clínicas e laboratoriais de 20 animais diagnosticados posteriormente com HAC, consultados no Hospital Escolar da FMV-UTL durante o período de estágio do aluno. Numa segunda parte do estudo, foi avaliada a eficácia do tratamento do HAC com trilostano. Esta parte engloba 13 casos clínicos que iniciaram o tratamento com trilostano. Estes foram submetidos a monitorizações subsequentes através da avaliação dos sinais clínicos, do teste de estimulação de ACTH e por vezes de bioquímicas sanguíneas.

### 1.1. Estudo 1

---

#### 1.1.1. Animais e Sinais Clínicos

Foram incluídos neste estudo 20 animais com suspeita de HAC. Os sinais clínicos avaliados foram classificados como "+", positivos ou "-", negativos, tendo sido considerados: PU/PD, PF, abdómen pendular, problemas dermatológicos (alopécia, comedões, hiperpigmentação, hipotricose, pele fina e pouco elástica, e calcinose cutânea), atrofia muscular (considerados animais com claudicação e dificuldade em subir escadas), dispneia, e alterações reprodutivas (anestro nas fêmeas e atrofia testicular nos machos, sendo que os animais com atrofia associado a nódulos testiculares também foram contabilizados).

#### 1.1.2. Análise Hematológica e Bioquímica

Foram realizados hemogramas e análises bioquímicas, tais como o doseamento da FAS e de ALT a 37°C, da glucose sérica, do colesterol, da creatinina, da ureia e do ionograma. Todos os exames foram realizados no laboratório Braço Forte da FMV-UTL, Portugal. A contagem das células sanguíneas foi realizada através da Cell Ryn 3700, Abbot II. O ionograma foi medido através da Vet Lyter® Analyser e os restantes parâmetros bioquímicos foram medidos através da Kone Optic, da Finlândia, com reagentes da Termo Electron Corporation, também da Finlândia. Foi ainda realizada a análise de Urina tipo II, através de tiras N-multistix® SG, e a densidade urinária específica foi obtida através de um urodensímetro.

### **1.1.3. Testes Funcionais Endócrinos**

Os animais foram submetidos aleatoriamente a um TE-ACTH ou a um TSDDDB para o diagnóstico de HAC. O TE- ACTH foi realizado colhendo uma amostra de sangue ( $T_0$ ) para medição do cortisol basal e de seguida administrado 0,125 ou 0,25 mg, dependendo se pesava menos ou mais de 5 kg, respectivamente, de ACTH sintética (Synachten®) por via intramuscular (IM). Após aproximadamente 1 hora e 30 minutos (intervalo entre 1 e 2 horas) foi colhida outra amostra de sangue ( $T_1$ ). O TSDDDB incluiu a colheita de uma amostra de sangue ( $T_{0h}$ ), depois administração de 0,01 mg/kg de dexametasona (Vetacort®) via intravenosa (IV), e posteriormente eram colhidas mais duas amostras de sangue, após 4 ( $T_{4h}$ ) e 8 horas ( $T_{8h}$ ). As amostras foram enviadas para o laboratório DNATech de Lisboa, Portugal, para o doseamento de cortisol através de quimioluminescência. Os resultados foram interpretados de acordo com a bibliografia descrita (Nelson, 2006; Melián *et al*, 2010)

### **1.1.4. Ecografia Abdominal**

Uma avaliação ecográfica com uma sonda microconvexa de 3,8MHz a 7,5MHz, realizada através do aparelho Aloka SD4000, sempre pelo mesmo clínico veterinário, foi efectuada a 19 dos 20 animais suspeitos de HAC. Para interesse do estudo dá-se ênfase às adrenais, as quais foram classificadas como aumentadas quando de espessura superior a 7,5 mm.

## **1.2. Estudos 2**

---

### **1.2.1. Animais e Monitorizações**

Esta parte do estudo inclui apenas 13 dos 20 animais considerados anteriormente, pois foram os que mantiveram consultas de monitorização durante o tratamento com trilostano. 6 casos foram excluídos, dos quais 5 deixaram de frequentar as consultas após o início do tratamento e a outro foi realizada a eutanásia por agravamento da sintomatologia nervosa devido a tumor hipofisário diagnosticado através de uma TAC realizada. As monitorizações dos animais foram agrupadas por intervalos de tempo, tendo sido realizadas 3 monitorizações a 12 animais, enquanto um deles apenas realizou a primeira monitorização. A primeira monitorização compreende o período de 10 a 20 dias após o início do tratamento com trilostano, a 2ª monitorização compreende o período após 30 a 47 dias e a 3ª monitorização realizou-se entre os 90 e os 150 dias após o início do tratamento. Os dados de cada monitorização foram comparados com os resultados obtidos antes do tratamento e posteriormente foi realizada uma comparação entre os resultados da 2ª e 3ª monitorizações.

### **1.2.2. Sinais Clínicos**

Os sinais clínicos descritos para o estudo 1 foram também avaliados em cada controlo, verificando se melhoraram ou pioraram: PU/PD, PF, abdómen pendular, problemas dermatológicos, atrofia muscular, dispneia, e alterações reprodutivas.

### **1.2.3. Parâmetros Bioquímicos**

Durante as monitorizações, os cães foram submetidos a avaliação de alguns parâmetros bioquímicos, nem todos realizados a cada animal, aquando as monitorizações. Os parâmetros considerados foram a actividade da FAS e da ALT a 37°C, a creatinina e a ureia. Alguns animais realizaram também ionograma, nomeadamente consideradas no estudo as concentrações séricas de sódio e potássio. Todos estes parâmetros foram doseados da mesma forma como foi explicado no estudo 1.

### **1.2.4. Teste de Estimulação com ACTH para Monitorização**

O TE-ACTH foi realizado nas consultas de monitorização. Foi avaliada a concentração do cortisol antes e após estimulação com ACTH durante o tratamento com trilostano. Para não haver variações relativamente aos resultados, os donos foram sempre instruídos a administrar o fármaco com a refeição da manhã e posteriormente levá-lo ao hospital 2 a 4 horas depois. Foram considerados valores séricos de cortisol após o TE-ACTH controlados quando se encontravam entre 2 µg/dL e 8 µg/dL. Os resultados do TE-ACTH foram medidos no mesmo local e da mesma forma que o indicado para o estudo 1.

### **1.3. Análise Estatística**

---

Os resultados de ambos os estudos foram tratados através do programa IBM SPSS Statistics®, versão 17.0 e do Microsoft Office Excel®, versão Casa e Estudantes 2007. Foi utilizada estatística descritiva para tratamento dos resultados, sendo indicada a média±desvio padrão (dp) e a variação, e também em alguns casos análise estatística de frequências. Os dados são também avaliados tendo em conta o intervalo de referência referido pelos laboratórios onde estes foram medidos.

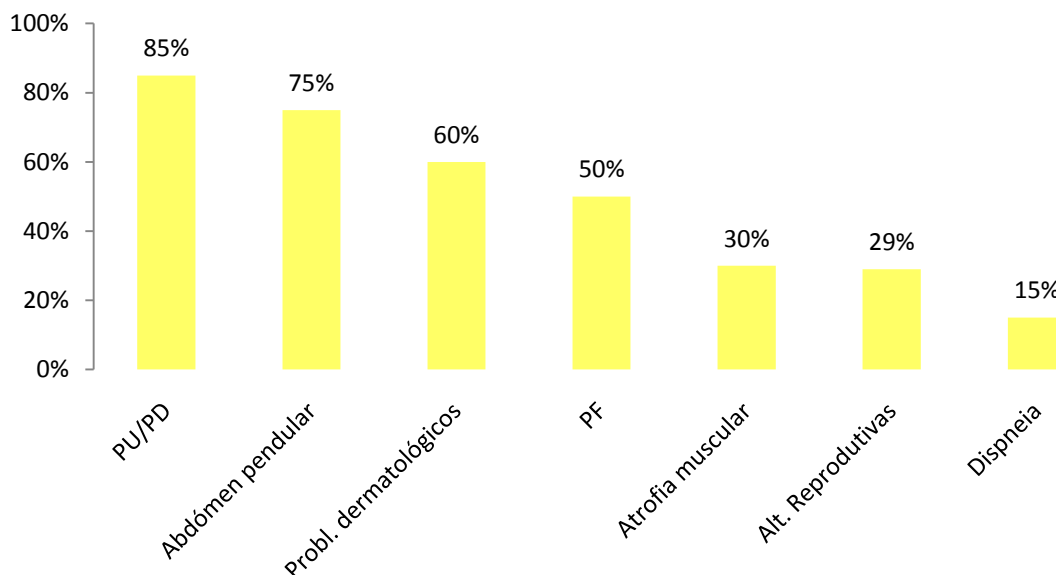
Em alguns casos de comparações de valores, foi utilizado o teste Mann-Whitney-U para comparar variáveis independentes e o teste de Wilcoxon para comparar variáveis emparelhadas. Foi considerando um nível de significância de  $p < 0,05$ .

## 2.1. Estudo 1

### 2.1.1. Animais e Sinais Clínicos

Os 20 animais incluídos nesta parte do estudo apresentavam idades compreendidas entre os 4 e os 15 anos ( $9\pm 3$  anos), com peso variando entre os 4,10 e os 38,10kg ( $19,62\pm 13$  kg). 11 deles eram machos, 1 castrado, e 8 eram fêmeas, 4 já submetidas a ovariectomia (OVH). As raças representadas incluíram 3 Caniches (15%), 2 Boxer's (10%), 3 Terrier's (3, 15%), dos quais 1 Jack Russel, 1 Yorkshire e 1 Scottish, 1 Podengo (5%), 1 Schnauzer miniatura (5%), 1 Chow-Chow (5%), 1 Pastor Alemão (5%) e 1 Cocker Spaniel (5%). Os restantes 6 cães (30%) não tinham raça definida (sem raça determinada, SRD). Pelo menos dois dos sinais clínicos mais comuns considerados estavam presentes em cada canídeo. O sinal clínico mais apresentado foi a PU/PD, afectando 17 casos (85%). Seguiram-se, por ordem decrescente de frequência, o abdómen pendular em 15 casos (75%), os problemas dermatológicos em 12 (60%), polifagia em 10 casos (50%), a atrofia muscular em 6 (30%), as alterações reprodutivas nos animais inteiros em 4 animais (29%) e dispneia em 3 (gráfico 1). A atrofia testicular apresentou-se em 2 dos machos inteiros (20%) e o anestro em 2 (50%) das fêmeas inteiras (Anexo 3, Tabela 1).

**Gráfico 1** - Distribuição dos sinais clínicos em percentagens (%).



Legenda: PU/PD – Poliúria/Polidipsia; PF – Polifagia; Probl – Problemas; Alt. – Alterações;

Os animais estudados também apresentaram outras manifestações clínicas para além das consideradas neste estudo. De facto, pôde verificar-se a presença de insuficiência cardíaca em 4 cães, dos quais em 3 havia já sido diagnosticada antes do diagnóstico de HAC, enquanto noutro foi diagnosticada no momento do diagnóstico. Alguns animais



apresentavam ainda, sintomas neurológicos, nódulos mamários, e atrasos na cicatrização de uma ferida.

### 2.1.2. Hemograma

Dos 20 animais representados, apenas 17 realizaram hemograma (Anexo 3, Tabela 2). No quadro 12 são apresentadas as estatísticas descritivas dos valores obtidos pelo hemograma e os respectivos valores do intervalo de referência.

**Quadro 12** – Descrição estatística dos valores obtidos no hemograma.

Variáveis	IR	N	Mínimo	Máximo	Média	DP
Eritrocitos ( $\times 10^6/\mu\text{L}$ )	5,5-8,5	17	3,71	8,62	6,65	1,18
Hemoglobina (g/dl)	12-18	17	8,5	18,6	15,08	2,53
Hematócrito (%)	37-55	17	26,6	57,0	45,9	7,3
Plaquetas (fl)	200-500	17	35	558	280	135
Leucócitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	6-17	17	5,73	17,90	10,85	3,72
Neutrófilos ( $/\mu\text{L}$ )	3000-11500	17	4294	14141	8199	3122
Linfócitos ( $/\mu\text{L}$ )	1000-4800	17	436	5120	1741	1142
Monócitos ( $/\mu\text{L}$ )	100-1250	17	97	2148	717	566
Eosinófilos ( $/\mu\text{L}$ )	150-1350	17	0	580	190	179

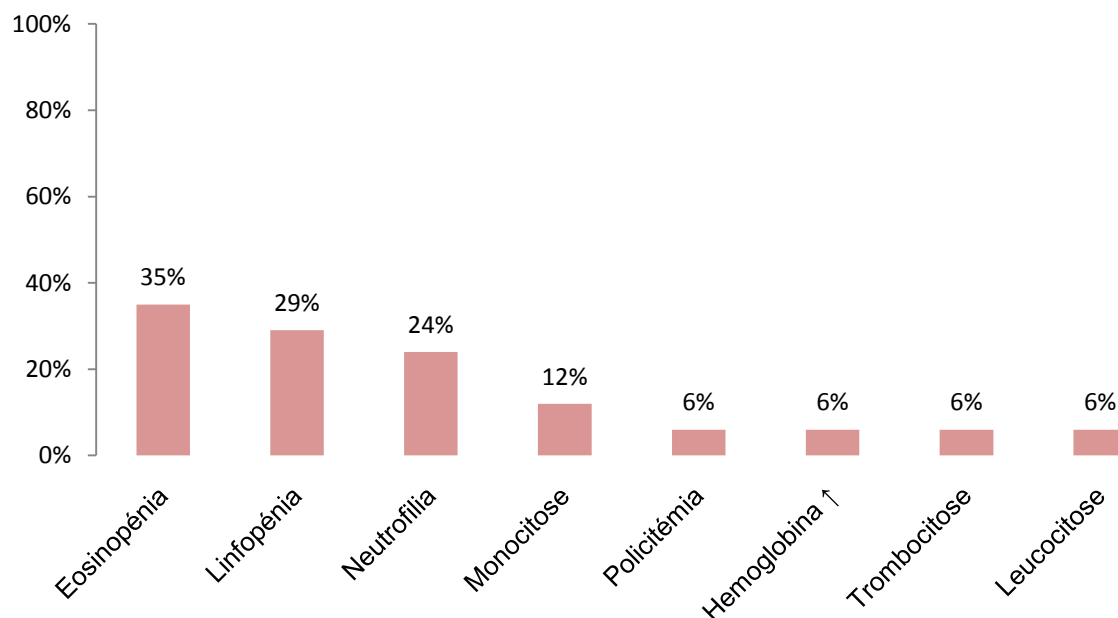
Legenda: DP – desvio padrão; IR – Intervalo de Referência.

Relativamente aos eritrócitos, com a exceção de 2 animais que apresentaram um valor baixo ( $5,05 \times 10^6/\mu\text{L}$  e  $3,71 \times 10^6/\mu\text{L}$ ), e 1 animal com um valor ligeiramente elevado ( $8,62 \times 10^6/\mu\text{L}$ ) todos os animais apresentaram valores normais, entre  $5,55 \times 10^6/\mu\text{L}$  e  $8,09 \times 10^6/\mu\text{L}$ . O hematócrito apresentou-se aumentado em 1 animal (57%) e diminuído em 2 (33,4% e 26,6%), apesar da média da amostra se ter encontrado dentro dos parâmetros normais. A hemoglobina encontrava-se diminuída igualmente em 2 casos (11,0 g/dl e 8,49 g/dl), estando normal nos restantes. As plaquetas sanguíneas mantiveram-se dentro de valores normais, à exceção de 3 animais: dois com um valor consideravelmente diminuído devido a agregação plaquetária ( $35 \times 10^3/\mu\text{L}$  e  $123 \times 10^3/\mu\text{L}$ ) e ainda outro que apresentava trombocitose ( $558 \times 10^3/\mu\text{L}$ ) (gráfico 2).

No leucograma, apenas um caso apresentou um número total de leucócitos aumentados ( $17,9 \times 10^3/\mu\text{L}$ ), estando os restantes normais. 4 animais apresentaram valores de neutrófilos segmentados aumentados, 5 casos apresentaram linfopénia e apenas 1 dos casos apresentou linfocitose, com 5120 linfócitos/ $\mu\text{L}$ . No que diz respeito aos eosinófilos, 6 apresentaram valores baixos, mas a média total manteve-se normal (190/ $\mu\text{L}$ ). Finalmente, a contagem de monócitos mostrou-se aumentada em 2 animais (1417/ $\mu\text{L}$  e 2438/ $\mu\text{L}$ ), e

diminuída noutro, com 97/ $\mu$ L. Em média, a amostra apresentou valores dentro dos parâmetros de referência (quadro 12 e gráfico 2).

**Gráfico 2** – Distribuição das alterações sanguíneas da amostra compatíveis com hiperadrenocorticismos, em percentagens (N=17).



Legenda: ↑ - Aumentado

### 2.1.3. Análises Bioquímicas

Os resultados das análises bioquímicas estão indicados no quadro 13. Nesta parte está incluída a densidade urinária. Nem todos os animais realizaram os doseamentos dos mesmos parâmetros (Anexo 3, tabela 3).

**Quadro 13** – Descrição estatística dos valores obtidos nas bioquímicas sanguíneas

Parâmetro	IR	N	Mínimo	Máximo	Média	DP
FAS (U/L 37°)	47-254	17	102	5304	1211	1480
ALT (U/L 37°)	10-100	18	44	313	120	70
Colesterol (mg/dl)	110-320	8	143	378	244	81
Glucose (mg/dl)	70-121	10	70	121	97	20
Creatinina (mg/dl)	0,5-1,8	18	0,50	1,75	0,80	0,31
Ureia (mg/dl)	0-54	17	19	105	44	26
Sódio (mml/l)	144-160	8	150	158	153	3
Potássio (mml/l)	3,5-5,8	9	3,90	5,42	4,40	0,50
Cloro (mml/l)	109-122	7	108	118	114	3
Densidade urinária	> 1015	7	1010	1040	1024	12

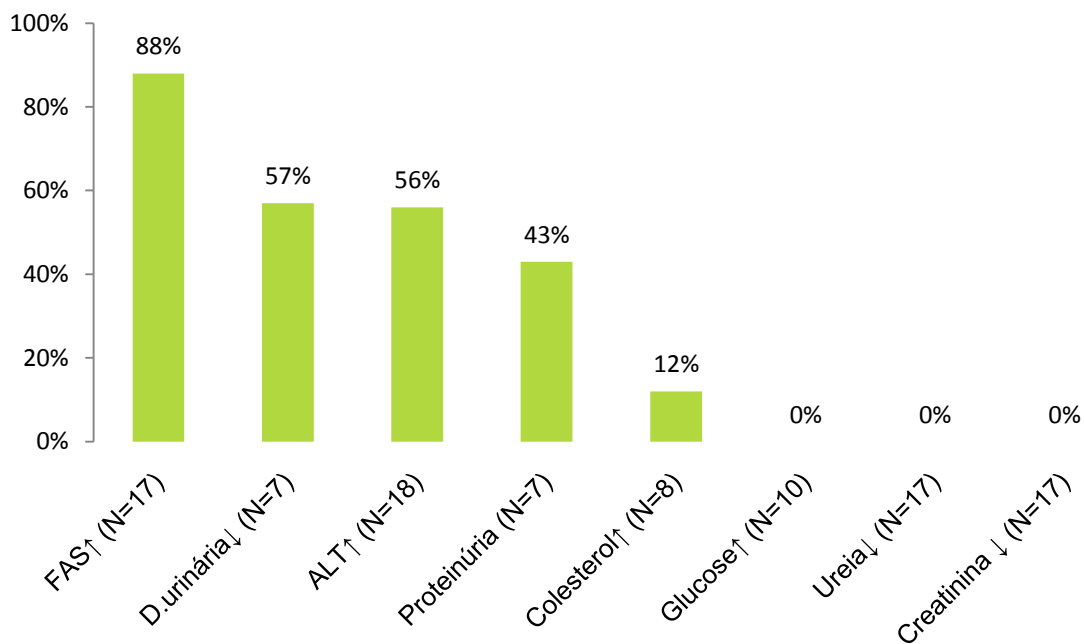
Legenda: DV – Desvio Padrão; IR – Intervalo de referência;

O doseamento da FAS foi realizado a 17 animais e esta mostrou-se aumentada em todos os pacientes excepto em dois casos (106 e 210 UI/L). O valor médio da FAS ( $1211 \pm 1480$  UI/L) mostrou-se aproximadamente 5 vezes superior ao limite máximo do intervalo de referência. A variação entre os casos foi considerável. A ALT estava aumentada em 10 animais dos 18 em que foi medida, sendo o valor médio ( $120 \pm 70$  UI/L) superior ao limite máximo normal. Dos 17 animais em que foram realizados os dois parâmetros, todos os que apresentaram a ALT aumentada, tinham também a FAS com valores superiores ao intervalo de referência, não se verificando o contrário, visto que 6 casos apresentaram valores de FAS aumentada sem alteração da ALT. A glicémia encontrou-se dentro dos parâmetros de referência em todos os 10 animais em que foi realizada, se bem que num caso estava no limite máximo do intervalo de referência (121 mg/dl). Apesar da medição do colesterol sérico estar representada apenas em 8 casos, um animal apresentou hipercolesterolemia (378 mg/dl). A creatinina apresentou-se normal em todos os pacientes em que foi avaliada ( $0,80 \pm 0,81$  mg/dl) e a ureia, curiosamente, aumentada em 3 de 17 casos que foram avaliados (valores: 70, 80 e 105 mg/dl), estando normal nos restantes (quadro 12).

O ionograma apresentava valores dentro do intervalo de referência nos animais em que foi realizado. Por fim, a densidade urinária, apesar de não ter sido verificada em muitos pacientes (N=7), mostrou-se diminuída em 4 casos e a proteinúria estava presente em 3 casos.

No gráfico 3 estão discriminadas as frequências das alterações compatíveis com HAC, em percentagem.

**Gráfico 3** - Distribuição das alterações bioquímicas da amostra compatíveis com hiperadrenocorticismos, em percentagem.



Legenda: ↑ - aumentado; ↓ - diminuído.

#### 2.1.4. Testes Funcionais Endócrinos e Ecografia Abdominal

Todos os 20 animais foram diagnosticados tendo em conta os resultados dos testes funcionais e da ecografia abdominal (Anexo 3, tabela 4). Onze animais realizaram o TE-ACTH e nove animais realizaram o TSDDDB. Um caso realizou ambos os testes. A ecografia foi efectuada a dezanove pacientes.

O diagnóstico de hiperadrenocorticismismo foi confirmado em 11 casos pelo TE-ACTH. O valor médio de cortisol antes ( $T_0$ ) e após administração de ACTH ( $T_1$ ) foi  $5,46\mu\text{g/dL}\pm 2,22\mu\text{g/dL}$  e  $31,24\pm 15,65\mu\text{g/dL}$ , respectivamente. Noutros 9 casos o diagnóstico de HAC foi confirmado pelo TSDDDB. Um destes casos havia realizado também um TE-ACTH, interpretado como falso negativo porque os valores se apresentaram normais ( $T_0=3,95\mu\text{g/dL}$  e  $T_1=7,89\mu\text{g/dL}$ ).

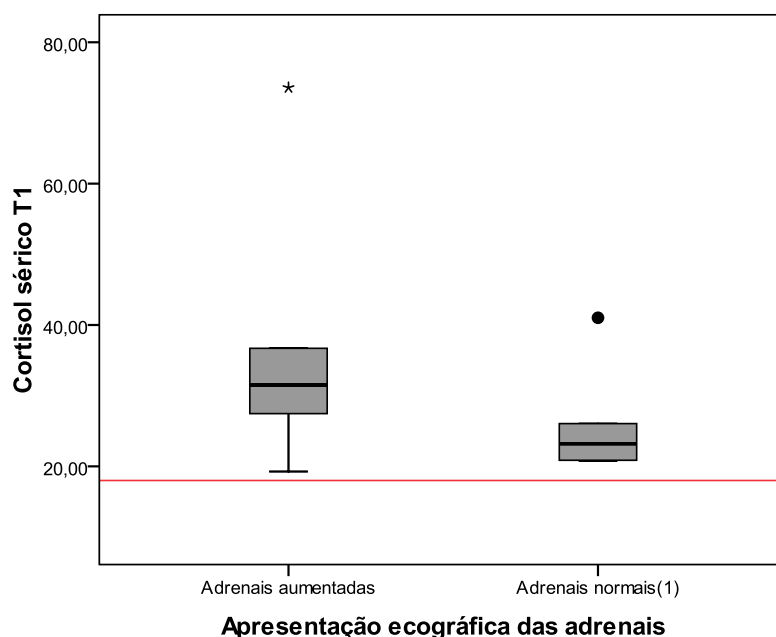
O diagnóstico etiológico de HAC-HD foi ainda efectuado em 6 casos.

O diagnóstico etiológico dos 6 casos teve como base os resultados do TSDDDB por demonstrarem supressão às 4 horas após administração de dexametasona. O resultado ecográfico das adrenais destes animais incluíram 3 casos com adrenais normais, 1 caso com adrenais aumentadas e 1 caso com apenas a adrenal esquerda aumentada. 1 animal não realizou ecografia.

Em 14 dos 20 casos não foi possível o diagnóstico etiológico. De facto, 3 destes animais foram submetidos ao TSDDDB mas os resultados, apesar de serem indicativos de HAC, não apresentaram supressão a  $T_{4h}$  (ou seja, um valor  $<50\%$  que o valor basal de cortisol). As adrenais visualizadas ecograficamente apresentaram-se normais em 2 destes casos, e apenas adrenal esquerda aumentada noutro. 11 animais realizaram um TE-ACTH, o qual não indica a etiologia. No entanto, a ecografia de 5 destes animais foi compatível com HAC-HD, ou seja, ambas as adrenais apresentavam um aumento de espessura. Os outros 6 animais apresentaram adrenais normais (5 casos) ou só a adrenal esquerda aumentada (1 caso).

Considerando os valores de cortisol pós-ACTH tendo em conta a apresentação ecográfica das adrenais, verificou-se que os animais com adrenais aumentadas, ou seja, os que apresentavam uma ecografia compatível com HAC-HD, apresentaram um valor médio de cortisol a  $T_1$  superior comparado com os casos que apresentaram adrenais normais ou só uma aumentada ( $37,70\pm 21,04\mu\text{g/dL}$  comparativamente a  $25,86\pm 7,70\mu\text{g/dL}$ ). Contudo, esta diferença não se mostrou estatisticamente significativa ( $p\leq 0,05$ , segundo o teste de Mann-Whitney-U). De facto, um caso dos animais que apresentou adrenais normais chegou a atingir um valor de  $41,02\mu\text{g/dL}$  (gráfico 4).

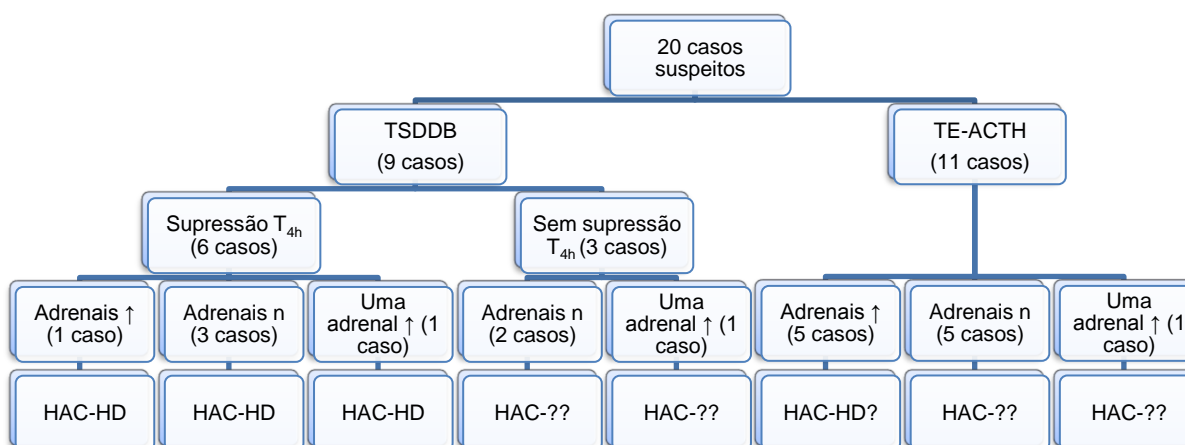
**Gráfico 4** - Caixa de bigodes considerando os valores séricos de cortisol após teste de estimulação com ACTH, tendo em conta a apresentação ecográfica das adrenais.



Legenda: As caixas representam os valores entre os percentis 25 e 75%, a linha horizontal (—) indica a mediana, e as linhas verticais que terminam na horizontal representam a variação. (1)- foram considerados neste grupo animais com uma das adrenais aumentada; \* e ● – outliers, valores consideravelmente diferentes do resto da amostra - - limite máximo normal.

Verificou-se que nos animais que realizaram o TSDDDB, o diagnóstico de HAC foi obtido em 100% dos casos e o diagnóstico etiológico em 67% (N=9). Com o TE-ACTH obteve-se o diagnóstico de HAC em 92% dos casos, pelo que 8% apresentaram resultados falsos negativos (N=12). A ecografia das adrenais demonstrou resultados compatíveis com HAC-HD em aproximadamente 32% dos casos que foram submetidos a este exame (N=19) (figura 18).

**Figura 18** - Diagrama ilustrativo do diagnóstico de HAC na amostra



Legenda: ↑ - aumentado; ↓ - diminuído; n – normais; TSDDDB – Teste de Supressão com Dexametasona em Dose Baixa; TE-ACTH – Teste de Estimulação com ACTH; HAC-HD – Hiperadrenocorticismos Hipofiso-Dependente; HAC-?? – Hiperadrenocorticismos sem diagnóstico etiológico. HAC-HD? – indicativo de HAC-HD mas sem confirmação.

## 2.2. Estudo 2

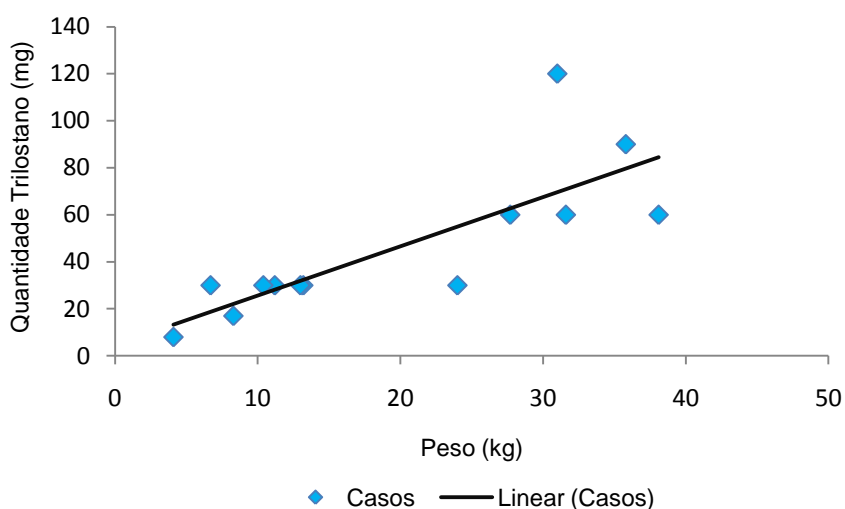
### 2.2.1. Resultados Pré-tratamento

Foram incluídos nesta parte 13 animais. Os sinais clínicos apresentados por estes pacientes incluíam PU/PD (13), PF (6), problemas dermatológicos (11), abdómen pendular (8), atrofia muscular (4), alterações reprodutivas (3) e dispneia (1). A nível dos parâmetros bioquímicos, a FAS apresentou-se com valores acima do limite máximo em 10 casos dos 11 em que foi doseada (I.R.: 47-254 UI/L). 2 animais não foram avaliados relativamente à FAS em qualquer monitorização. Os valores séricos variaram entre 102 e 4446 UI/L ( $1203 \pm 1243$  UI/L). A ALT foi realizada em todos os pacientes e estava aumentada em 8 deles (I.R.: 10-100 UI/L). Os valores apresentados variaram entre 44 e 313 UI/L ( $131 \pm 78$  UI/L). A ureia e a creatinina foram doseadas nos 13 casos. A primeira apresentou-se aumentada em 3 casos, variando entre 19 e 105 mg/dl ( $45 \pm 27$  mg/dl; I.R.: 0-54 mg/dl). A creatinina estava normal em todos, com valores entre 0,51 e 1,75 mg/dl ( $0,80 \pm 0,33$  mg/dl; I.R.: 0,5-1,8 mg/dl). O sódio e potássio só foram doseados em 5 animais, variando entre 144 e 156 mml/l ( $151 \pm 4$  mml/l), e 3,90 e 4,70 mml/l ( $4,28 \pm 0,29$  mml/l) respectivamente, valores considerados normais.

Relativamente ao TE-ACTH, só foram avaliados valores de 6 animais, pois os outros 7 casos haviam realizado um TSDDDB para diagnóstico, tendo um deles um falso negativo no TE-ACTH e por isso, esse valor não foi contabilizado. As médias apresentadas foram a  $T_0$  e a  $T_1$   $5,80 \pm 3,01$  µg/dL e  $26,29 \pm 8,44$  µg/dL, respectivamente.

Todos os animais iniciaram tratamento com trilostano. Tendo em conta o peso dos animais e a quantidade de trilostano administrada (em miligramas), a dose variou entre 1,25 e 4,48 mg/kg ( $2,45 \pm 0,89$  mg/Kg). A frequência de administração foi igual em todos, de 24 em 24 horas (gráfico 5).

**Gráfico 5** – Variações na quantidade de trilostano tendo em conta o peso.

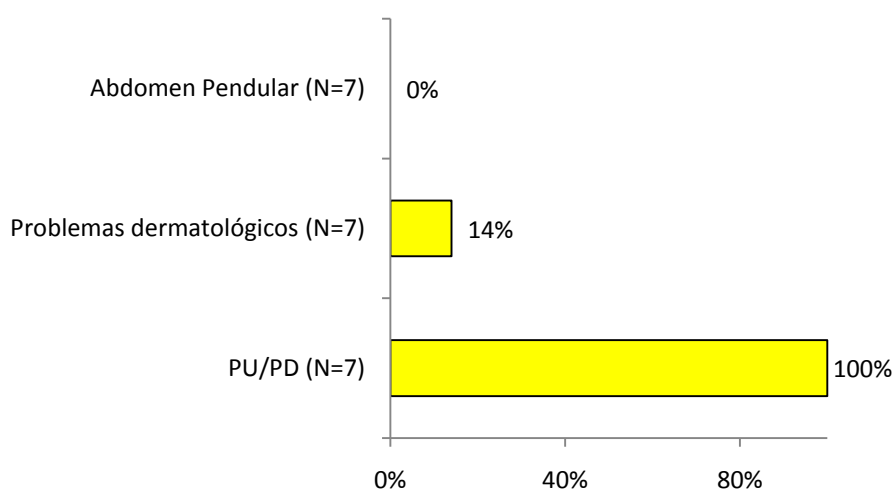


## 2.2.2. Após 10 a 20 Dias de Tratamento (15dias±3)

### i) Sinais Clínicos

Entre os 10 e os 20 dias após o início do tratamento (15±3 dias), 8 animais foram avaliados. Considerando apenas os animais monitorizados, a PU/PD melhorou em todos os casos afectados (N=7), a PF em 2 (N=3), e os problemas dermatológicos em um caso (N=7), tais como os problemas reprodutivos (N=2) e a atrofia muscular (N=2) (gráfico 6). O abdómen pendular não melhorou em nenhum animal monitorizado nesta altura (N=7).

**Gráfico 6** – Frequência de melhorias nos sinais clínicos aos 10-20 dias após o início do tratamento com trilostano, em percentagem.



Nota: Nem todos os sinais clínicos foram apresentados em percentagem pela pequena amostra que os representavam.

### ii) Parâmetros bioquímicos

Relativamente aos parâmetros bioquímicos, a FAS não foi doseada em 4 casos. Nos restantes 4 casos, esta enzima diminuiu em 3 deles sem atingir o I.R. e aumentou noutro, mas não ultrapassou o limite máximo (I.R.: 47-254 UI/L).

A ALT não foi doseada em 3 casos. Dos restantes 5, um apresentou um aumento, mas dentro do intervalo de referência, e 4 diminuíram o valor, mais especificamente 3 deles apresentaram valores já dentro do intervalo de referência (I.R.: 10 a 100 UI/L).

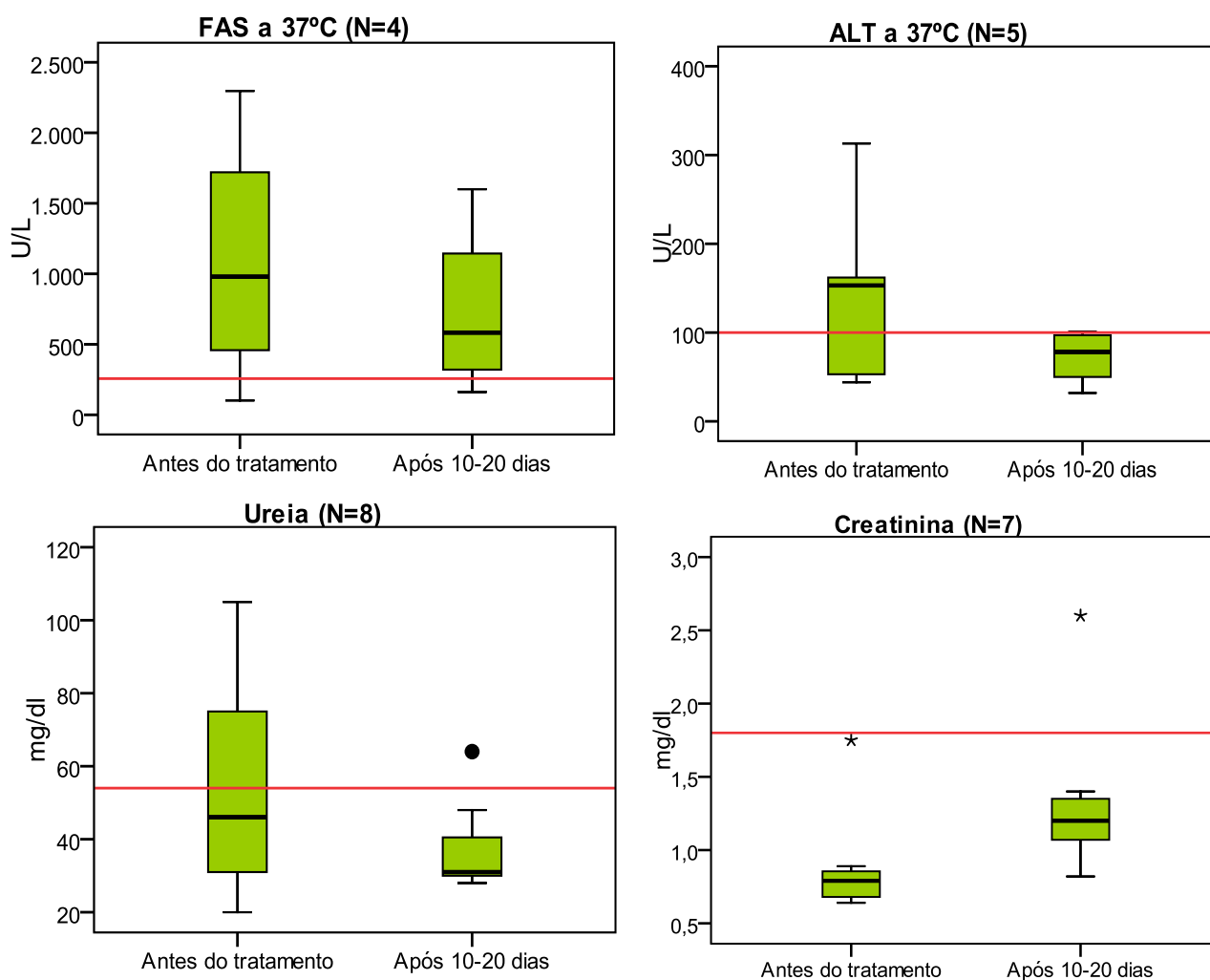
A ureia foi doseada nos 8 animais. 1 animal apresentava um valor inicial aumentado, o qual diminuiu, mas manteve-se acima do limite máximo (64 mg/dl). Incluindo este caso, 6 mostraram uma diminuição no valor da ureia e 2 demonstraram um aumento mas sem ultrapassar o limite máximo de referência (I.R.: 0 a 54 mg/dl).

A creatinina foi doseada em 7 casos, e aumentou em todos eles, mas os valores mantiveram-se dentro do intervalo de referência (I.R.: 0,5 a 1,8 mg/dl), excepto num caso.

Tendo em conta apenas os animais em que os parâmetros foram doseados, em média, a FAS diminuiu de 1089±915 UI/L para 732±618 UI/L (N=4), a ALT de 145±109 UI/L para

72±30 UI/L (N=5) e a ureia de 54±29 mg/dl para 37±13 mg/dl (N=8). A creatinina, por outro lado, aumentou de 0,89±0,39 mg/dl para 1,35±0,58 mg/dl (N=7). Não houve uma diferença estatisticamente significativa no valor destes animais entre este espaço de tempo, excepto na FAS ( $p \leq 0,05$ , segundo o teste de Wilcoxon) (gráfico 7).

**Gráfico 7** - caixa de bigodes evidenciando as diferenças encontradas nos parâmetros bioquímicos antes do início do tratamento com trilostano e após 10 a 20 dias o início do tratamento com trilostano



Legenda: As caixas representam os valores entre os percentis 25 e 75%, a linha horizontal (—) indica a mediana, e as linhas verticais que terminam na horizontal representam a variação; • – outliers; \* – extremos, valores consideravelmente diferentes da restante amostra apresentando um valor elevado relativamente à amostragem; - - - indica o limite máximo de referência

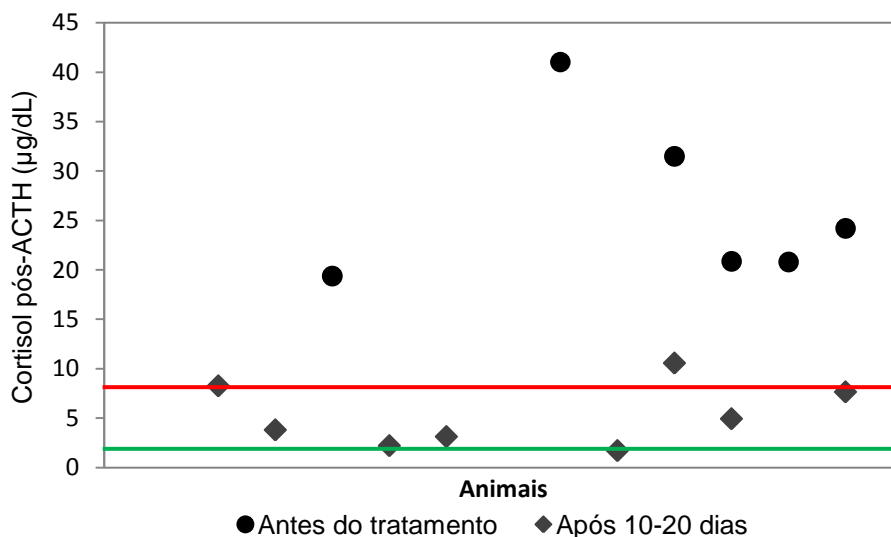
### iii) Parâmetros endócrinos

Em média, o valor de cortisol sérico dos 8 animais antes ( $T_0$ ) e após ( $T_1$ ) o TE-ACTH foi 3,88±2,42 µg/dL (de 0,69 a 6,64 µg/dL) e 5,28±3,20 µg/dL (de 1,70 a 10,57 µg/dL) respectivamente. Os animais que realizaram um TE-ACTH antes do tratamento e 10 a 20 dias depois apresentaram um valor médio aproximadamente 3 vezes mais baixo (25,52 µg/dL para 7,72 µg/dL) nesta altura (N=3). No entanto não foi evidenciada uma diminuição estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$ , segundo o teste de Wilcoxon). Mesmo assim,



verificou-se uma diminuição bastante satisfatória nos valores de cortisol após o TE-ACTH. 2 casos apresentaram resultados acima do intervalo de referência (10,57 µg/dL e 8,26 µg/dL) e outro inferior (1,70 µg/dL) (gráfico 8).

**Gráfico 8** - Valores séricos de cortisol após estimulação com ACTH dos animais que realizaram monitorização antes do tratamento (N=5) e dos animais que realizaram 10-20 dias (15dias±3) após o início do tratamento com trilostano (N=8).



Legenda: Cada marcação representa um animal. Notar que nem todos os animais foram submetidos a este teste nos dois tempos considerados. - limite máximo do intervalo de referência; -- limite mínimo do intervalo de referência.

### 2.2.3. Após 30 a 47 Dias de Tratamento (40dias±6)

#### i) Sinais Clínicos

Doze animais foram monitorizados. A PU/PD melhorou em 10 animais (N=12), a PF em 4 (N=6), o abdómen pendular em 3 (N=7) os problemas dermatológicos em 3 (N=10), a atrofia muscular em 2 (N=4) e os problemas reprodutivos em 1 caso (N=3).

#### ii) Parâmetros Bioquímicos

Os parâmetros bioquímicos, infelizmente, não foram avaliados em todos os animais. A actividade da FAS apresentou diminuições em 10 deles e aumentou num (N=11). A média do seu valor foi mais baixo comparativamente ao valor médio destes mesmos animais antes do tratamento (quadro 13). A variação entre os valores foi muito alta.

A actividade da ALT sérica diminuiu em todos os casos em que foi doseada (N=6), e consequentemente o seu valor médio também diminuiu. Apenas 1 caso manteve um valor superior ao intervalo de referência.

O valor médio da creatinina aumentou (N=9), mas em todos os animais se manteve dentro dos parâmetros de referência.

A ureia diminuiu em 5 casos, aumentando nos restantes (N=9). Com efeito, o seu valor médio diminuiu numa proporção estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$ , segundo o teste de Wilcoxon) (quadro 14), relativamente aos valores antes do tratamento.

Não foram evidenciadas alterações estatisticamente significativas nos restantes parâmetros ( $p \leq 0,05$ , segundo o teste Wilcoxon).

**Quadro 14** - Alterações nos parâmetros bioquímicos 30-47 dias (40dias $\pm$ 6) após o início do tratamento com trilostano. Notar que só são considerados animais que apresentem valores antes do tratamento e após os 30-47 dias.

Parâmetro	I.R.	Nº casos	Tempo	Variação	Média $\pm$ dp	Nº casos > I.R.	Nº casos ↓	Nº casos ↑
<b>FAS 37°C (U/L)</b>	47-254	11	Antes Tx	102-4443	1203 $\pm$ 1243	10	10	1
			Após $\pm$ 40dias	89-1672	484 $\pm$ 584	4		
<b>ALT 37°C (U/L)</b>	10-100	6	Antes Tx	44-176	126 $\pm$ 49	5	6	0
			Após $\pm$ 40dias	22-116	47 $\pm$ 36	1		
<b>Creatinina (mg/dl)</b>	0,5-1,8	9	Antes Tx	0,51-1,17	0,78 $\pm$ 0,18	0	0	9
			Após $\pm$ 40dias	0,60-1,40	1,05 $\pm$ 0,25	0		
<b>Ureia (mg/dl)</b>	0-54	9	Antes Tx	20-105	43 $\pm$ 26	1	6	3
			Após $\pm$ 40dias	9-80	40 $\pm$ 21	1		

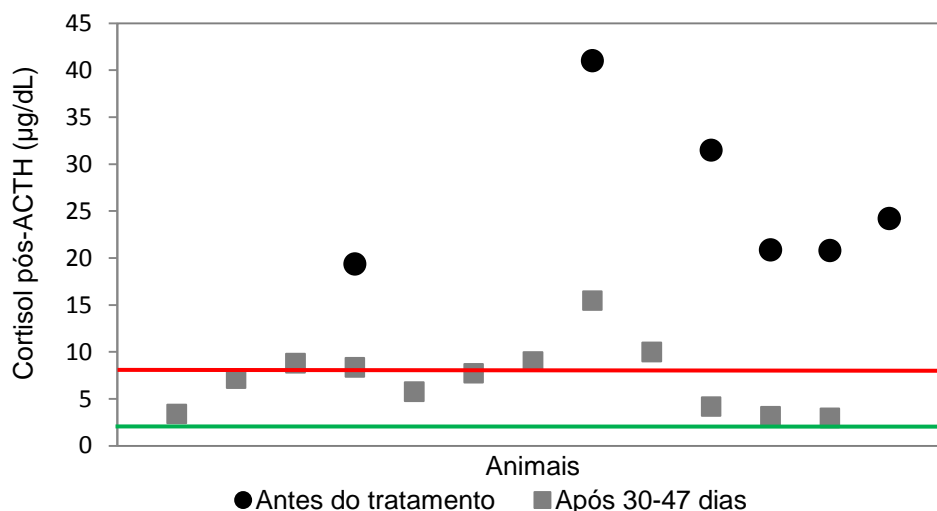
Legenda: I.R. – Intervalo de referência; Nº - Número; > - Maior; ↓ - Diminuiu; ↑ - Aumentou; dp – Desvio padrão

### iii) Parâmetros Endócrinos

No TE-ACTH, os valores obtidos, em média, a T<sub>0</sub> e a T<sub>1</sub>, foi 4,09 $\pm$ 1,88  $\mu$ g/dL (variação: 1,90 a 8,41  $\mu$ g/dL) e 7,17 $\pm$ 3,61  $\mu$ g/dL (variação: 2,97 a 15,47  $\mu$ g/dL), respectivamente. Após o teste, apesar da média se encontrar dentro de parâmetros satisfatórios (I.R.: 2,00  $\mu$ g/dL a 8,00  $\mu$ g/dl), 5 animais apresentaram um valor superior ao limite máximo, mas nenhum inferior ao limite mínimo (gráfico 9). A variação foi entre. Dos 5 animais em que foi comparável os valores nesta altura e antes do tratamento, verificou-se uma diminuição de

26,71±9,36 µg/dL para 6,83±5,30 µg/dL, mas sem ser estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$ , segundo o teste de Wilcoxon).

**Gráfico 9** - Valores séricos de cortisol após estimulação com ACTH dos animais que realizaram monitorização antes do tratamento (N=5) e dos animais que realizaram 30-47 dias (40±6dias) após o início do tratamento (N=12).



Legenda: Cada marcação representa um animal. Notar que nem todos os animais foram submetidos a este teste nos dois tempos considerados; - limite máximo do intervalo de referência; -- limite mínimo do intervalo de referência.

#### 2.2.4. Após 90-150 Dias de Tratamento (113±18 dias)

##### i) Sinais Clínicos

Os 12 animais foram reavaliados novamente. Quanto aos sinais clínicos, em 10 animais os proprietários referiram melhoras na PU/PD (N=12). De facto um animal manteve este sinal clínico e outro piorou. A PF melhorou em todos os casos, excepto em dois (N=6). Os problemas dermatológicos melhoraram em 7 casos (N=10). Todos os pacientes, excepto dois, apresentaram uma diminuição da gordura acumulada no abdómen (N=7). A atrofia muscular, presente em 4 casos, melhorou apenas em 2 casos. Os problemas reprodutivos mantiveram-se apenas em um animal, macho, que apresentava atrofia testicular. O outro animal afectado foi submetido a castração pela presença de um nódulo testicular durante o período decorrido entre as duas monitorizações (2ª e 3ª). A dispneia, sinal clínico apresentado apenas por um animal, manteve-se nesta monitorização.

##### ii) Parâmetros Bioquímicos

No que diz respeito aos parâmetros bioquímicos, os animais apresentaram valores mais baixos da actividade da FAS comparativamente aos valores obtidos antes do tratamento, tendo a média diminuído (quadro 14). Todavia, um caso que apresentou um resultado aproximadamente 2 vezes mais elevado. A ALT foi doseada em 10 casos. A actividade

desta enzima diminuiu em 9 casos e aumentou consideravelmente apenas em um caso. 4 casos apresentavam um valor superior ao intervalo de referência (quadro 15). A creatinina, que estava normal antes do tratamento nos 12 animais, apresentou-se superior ao intervalo de referência em 2 casos. Com efeito, à exceção de um caso, todos eles sofreram um aumento no valor deste parâmetro. A média do valor da creatinina conseqüentemente aumentou. Quanto à ureia, os 12 casos foram avaliados nesta altura. Verificou-se que 7 casos diminuía, no entanto valor médio aumentou. Apenas 3 casos apresentavam um valor que ultrapassava o limite máximo normal, um deles com um aumento 3 vezes superior ao limite máximo (quadro 15). Não foram evidenciadas diferenças estatisticamente significativas nestes parâmetros aos 90-150 dias de tratamento ( $p \leq 0,05$ , segundo o teste de Wilcoxon).

**Quadro 15** - Alterações nos parâmetros bioquímicos 90-150 dias ( $113 \pm 18$  dias) após o início do tratamento com trilostano. Notar que só são considerados animais que apresentem valores antes do tratamento e após os 90-150 dias.

Parâmetro	I.R.	Nº casos	Tempo	Varição	Média±dp	Nº casos > I.R.	Nº casos ↓	Nº casos ↑
<b>FAS 37°C (U/L)</b>	47-254	11	Antes do Tx	102-4443	1203±1243	10	10	1
			Após ±113dias	75-4482	738±1301	5		
<b>ALT 37°C (U/L)</b>	10-100	10	Antes do Tx	44-176	119±56	6	9	1
			Após ±113dias	10-216	85±61	4		
<b>Creatinina (mg/dl)</b>	0,5-1,8	12	Antes do Tx	0,51-1,17	0,82±0,34	0	1	11
			Após ±113dias	0,50-2,20	1,17±0,47	1		
<b>Ureia (mg/dl)</b>	0-54	12	Antes do Tx	20-105	42±25	2	7	5
			Após ±113dias	8-168	55±42	3		

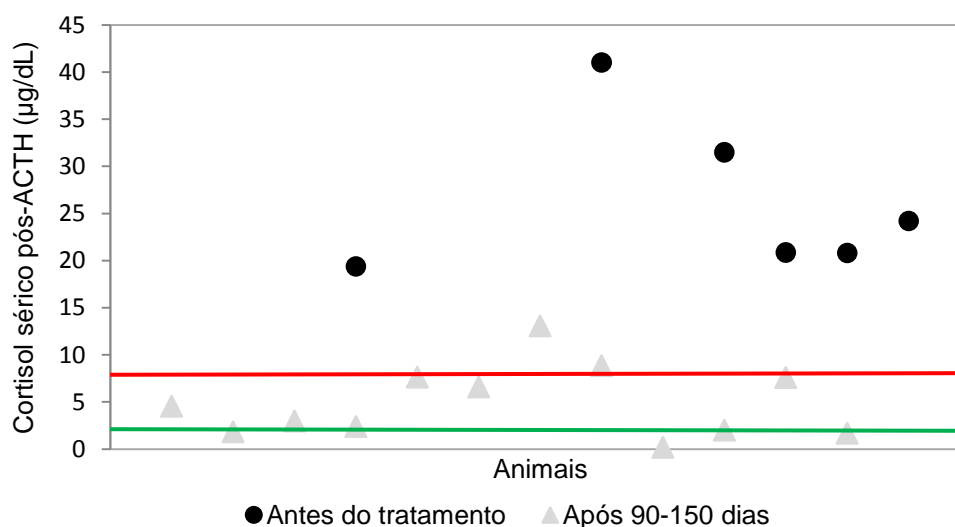
Legenda: I.R. – Intervalo de referência; Nº - Número; > - Maior; ↓ - Diminuiu; ↑ - Aumentou; dp – Desvio padrão

### iii) Parâmetros Endócrinos

O TE-ACTH foi novamente efectuado a todos os animais monitorizados. A média±dp do valor sérico de cortisol antes e após estimulação com ACTH foi  $2,96 \pm 2,26$  µg/dL (variação: 0,40 a 6,16 µg/dl) e  $4,97 \pm 3,81$  µg/dL (variação: 0,20 a 13,10 µg/dl), respectivamente.

Apenas 2 animais apresentaram valores superiores a 8,00 µg/dl (13,10 µg/dl e 8,88 µg/dl) e outros 3 apresentaram resultados inferiores ao limite mínimo desejável (0,20 µg/dl, 1,70 µg/dl e 1,85 µg/dl) (gráfico 10). Mais uma vez, os valores mantiveram-se mais baixos do que antes do tratamento pois dos 5 animais em que foram comparados os valores verificou-se uma diminuição de 26,70±9,36 µg/dl para 4,53±3,43 µg/dl, mais uma vez sem se observar uma diferença estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$ , segundo o teste de Wilcoxon).

**Gráfico 10** - Valores séricos de cortisol após estimulação com ACTH dos animais que realizaram monitorização antes do tratamento (N=5) e dos animais que realizaram 90-150 dias (113±18 dias) após o início do tratamento com trilostano (N=12)



Legenda: Cada marcação representa um animal. Notar que nem todos os animais foram submetidos a este teste nos dois tempos considerados; - limite máximo do intervalo de referência; -- limite mínimo do intervalo de referência.

## 2.2.5. Comparação Entre Monitorizações

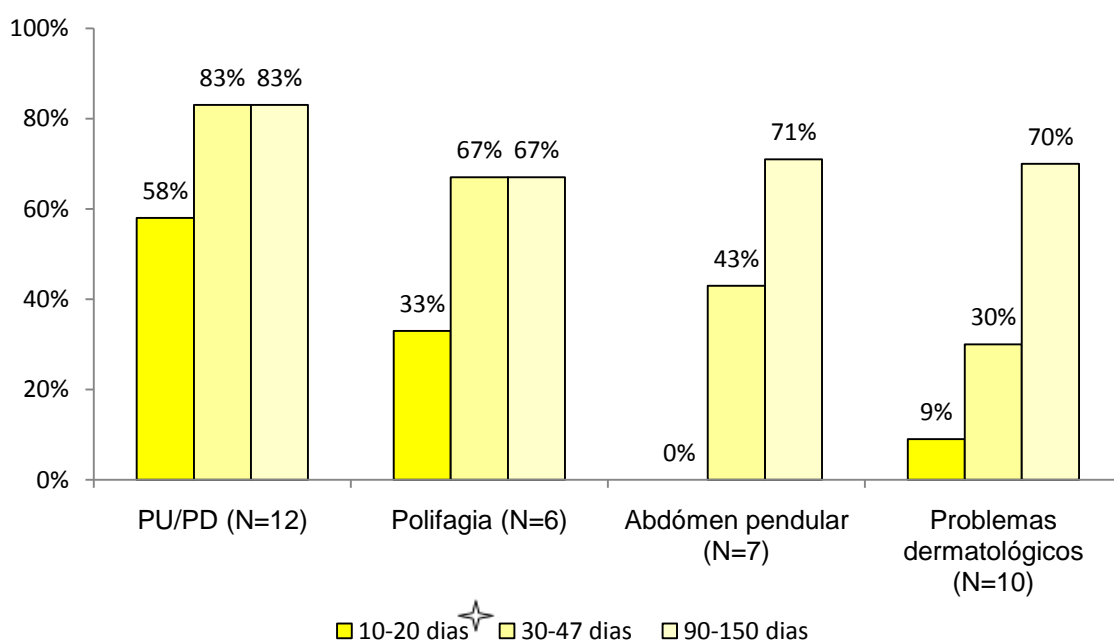
### i) Sinais Clínicos

Os sinais clínicos não foram avaliados em todos os pacientes entre os 10 e os 20 dias. No entanto, de forma relativa, considerou-se que nesta monitorização a PU/PD melhorou pelo menos em 58% dos casos que a apresentavam (N=12), no mínimo 33% (N=6) apresentaram remissão da PF, e os problemas dermatológicos mantiveram-se na maior parte dos animais, começando a melhorar apenas em pelo menos 9% dos casos (N=11). O abdómen pendular não pareceu melhorar em qualquer animal. Os restantes sinais apresentavam-se em poucos casos. Apenas um animal melhorou relativamente aos problemas reprodutivos, mais especificamente uma fêmea em que o ciclo éstrico foi retomado (pelo menos 33% de 3 casos) e a atrofia muscular melhorou pelo menos em 25% dos casos (N=4). Desta forma, foi permitido comparar a evolução dos sinais clínicos com uma amostragem representativa ao longo das 3 monitorizações (gráfico 11).

Entre a 1ª e a 2ª monitorização, os animais que haviam melhorado e foram novamente monitorizados, continuaram a evoluir relativamente aos sinais clínicos. Mais 6 cães foram

monitorizados. Nenhum animal piorou entre estas monitorizações. Na 3ª monitorização, comparativamente à 2ª, 2 casos apresentaram novamente sintomatologia dermatológica e a PU/PD regressou num dos casos. Os outros casos ou mantiveram a sintomatologia ou continuavam a melhorar, como descrito na alínea 2.2.4.

**Gráfico 11** - Evolução de alguns dos sinais clínicos ao longo das monitorizações. Notar que aos 10-20 dias nem todos os animais realizaram monitorização.



Legenda: ✦ - as percentagens na monitorização 10-20 dias são relativas, na medida em que, no mínimo, a evolução ocorreu na percentagem indicada, podendo ou não ter evoluído uma percentagem maior, visto que nem todos realizaram monitorização nessa altura.

## ii) Parâmetros Bioquímicos

Os resultados dos parâmetros bioquímicos foram comparados entre a 2ª e a 3ª monitorização, não sendo incluída a 1ª monitorização devido aos poucos resultados obtidos. Considerando apenas os animais que realizaram os doseamentos nas duas monitorizações em causa, os resultados mostraram-se ligeiramente diferentes (quadro 15). De facto, a actividade da FAS mostrou-se ligeiramente aumentada na 3ª monitorização relativamente à 2ª monitorização, mas manteve-se com um valor médio mais baixo que antes do tratamento. 7 animais sofreram um aumento no seu valor entre a 2ª e 3ª monitorizações. O valor médio da ALT também foi ligeiramente maior, mas sem atingir o valor médio antes do tratamento. 3 animais mostraram aumentos no seu valor sérico de uma monitorização para a outra (quadro 15). A creatinina mostrou um valor médio nas duas monitorizações muito semelhante, apesar de ter diminuído ligeiramente. De facto, 4 animais sofreram uma diminuição no seu valor sérico. Relativamente à ureia, o seu valor sérico médio aumentou, atingindo mesmo um valor maior que o apresentado antes do tratamento. 4 animais

apresentaram um aumento no valor sérico da ureia entre monitorizações, um dos quais aumentou para um valor de 168 mg/dl (quadro 16). Não houve diferenças estatisticamente significativas entre as monitorizações nos parâmetros referidos ( $p \leq 0,05$ , segundo o teste de Wilcoxon).

**Quadro 16** - Alterações nos parâmetros bioquímicos 30-47 dias ( $40 \pm 6$  dias) e 90-150 dias ( $113 \pm 18$  dias) após o início do tratamento com trilostano.

Parâmetro	I.R.	Nº casos	Tempo	Varição	Média±dp	Nº casos > I.R.	Nº casos ↓	Nº casos ↑
<b>FAS 37°C (UI/L)</b>	47-254	11	Antes do Tx	102-4443	1203±1243	10		
			Após ±40dias	89-1672	484±584	4	10	1
			Após ±113dias	75-4448	738±1301	5	7	4
<b>ALT 37°C (UI/L)</b>	10-100	6	Antes do Tx	44-176	126±49	5		
			Após ±40dias	22-116	47±36	1	6	0
			Após ±113dias	10-136	77±51	3	3	3
<b>Creatinina (mg/dl)</b>	0,5-1,8	9	Antes do Tx	0,51-1,17	0,78±0,18	0		
			Após ±40dias	0,60-1,40	1,05±0,25	0	0	9
			Após ±113dias	0,5-1,8	1,04±0,36	0	5	4
<b>Ureia (mg/dl)</b>	0-54	9	Antes do Tx	20-105	43±26	1		
			Após ±40dias	9-80	40±21	1	6	3
			Após ±113dias	8-168	53±48	2	4	5

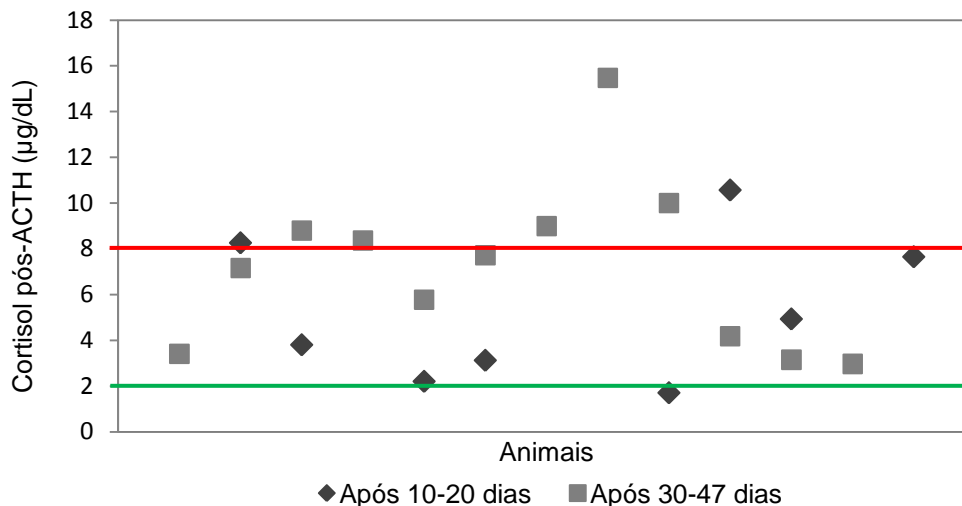
Legenda: I.R. – Intervalo de referência; Nº - Número; > - Maior; ↓ - Diminuiu; ↑ - Aumentou; dp – Desvio padrão. Notar que só são considerados animais que apresentem valores antes do tratamento e nas monitorizações referidas.

### iii) Parâmetros Endócrinos

Os valores de cortisol pós-ACTH foram comparados entre as 3 monitorizações. Na 2ª monitorização, relativamente à 1ª, foi possível comparar o valor de cortisol pós-ACTH em 7

animais, dos quais 4 sofreram uma diminuição no valor de cortisol após a estimulação (gráfico 12) e 3 sofreram um aumento.

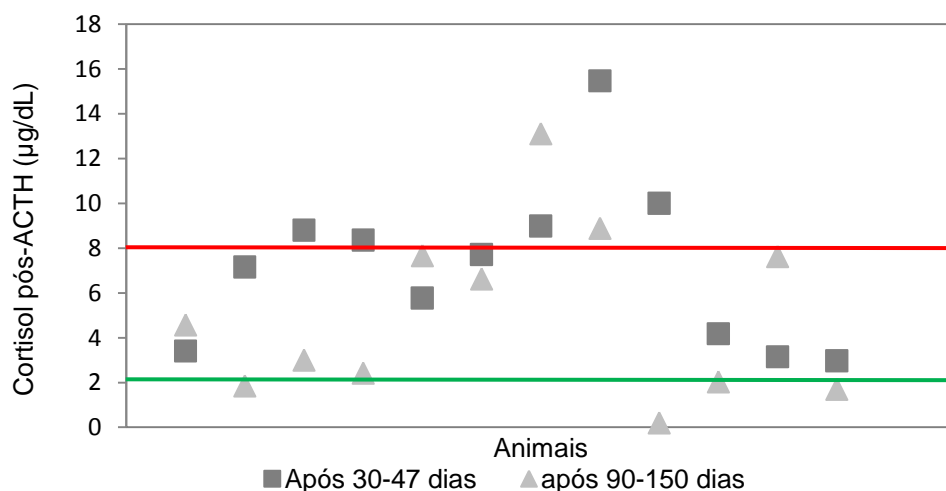
**Gráfico 12** - Valores séricos de cortisol após estimulação com ACTH dos animais que realizaram monitorização após 10-20 dias ( $15\pm 3$  dias) (N=8) e dos animais que realizaram 30-47 dias ( $40\pm 6$  dias) após o início do tratamento com trilostano (N=12).



Legenda: Cada marcação representa um animal. Notar que nem todos os animais foram submetidos a este teste nos dois tempos considerados; - limite máximo do intervalo de referência; -- limite mínimo do intervalo de referência.

Considerando os animais que realizaram um TE-ACTH aos 40 dias e aos 113 dias (N=12), verificou-se que mais de metade dos casos, mais concretamente 8 animais, demonstraram uma diminuição no valor sérico de cortisol após o TE-ACTH entre este intervalo de tempo. Os restantes 4 casos apresentaram um aumento no valor sérico de cortisol a  $T_1$  (gráfico 13).

**Gráfico 13** - Valores de cortisol após estimulação com ACTH dos animais que realizaram monitorização após 30-47 dias ( $40\pm 6$  dias) (N=12) e dos animais que realizaram 90-150 dias ( $113\pm 18$  dias) após o início do tratamento com trilostano (N=12).

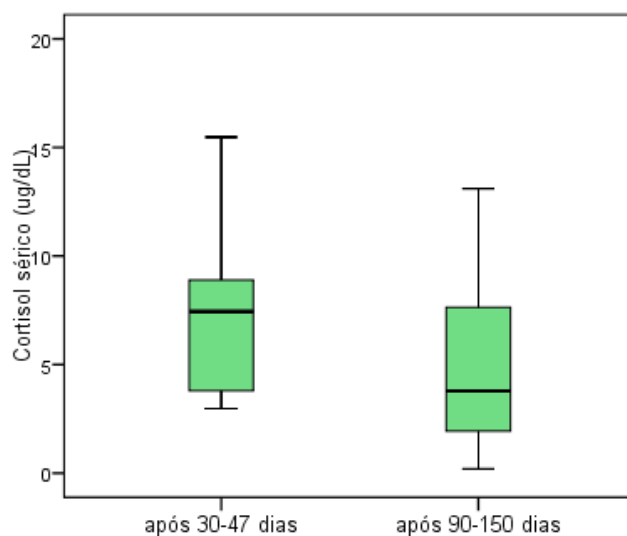


Legenda: Cada marcação representa um animal. Nem todos os animais realizaram este teste nos dois tempos considerados; - limite máximo do intervalo de referência; -- limite mínimo do intervalo de referência.



Visto que só na 2ª e 3ª monitorizações todos os animais realizaram o TE-ACTH, considerou-se a distribuição dos valores de cortisol sérico pós-ACTH na 2ª e 3ª monitorizações. Verificou-se assim que o valor máximo e mínimo diminuiu ligeiramente de uma monitorização para a outra, apesar de existirem valores coincidentes (gráfico 14). De facto, não houve evidências de uma diminuição estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$ , segundo o teste Wilcoxon)

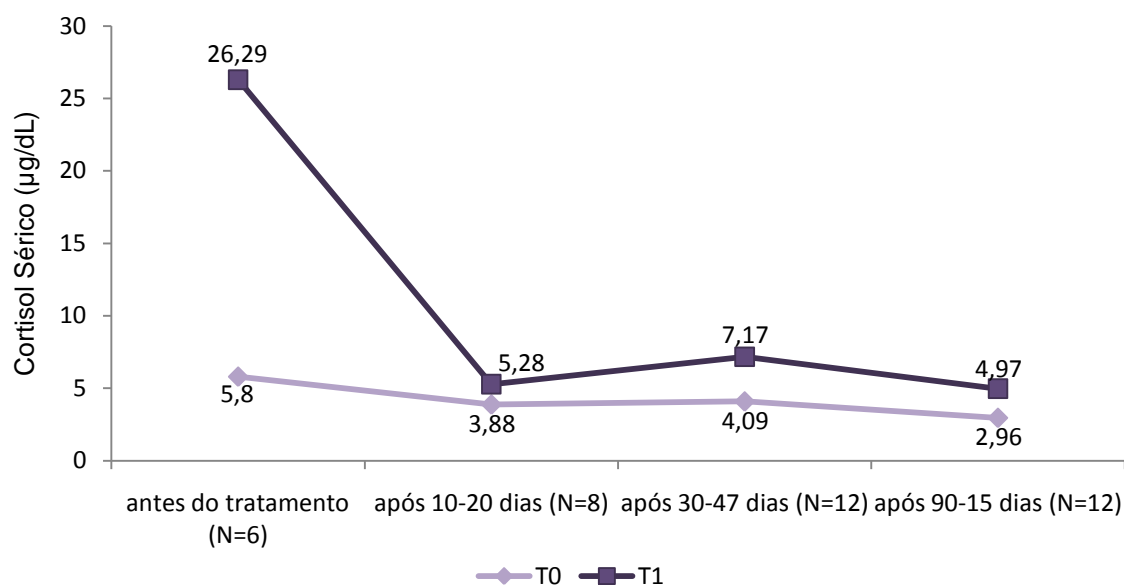
**Gráfico 14** - caixa de bigódes evidenciando as diferenças encontradas nos valores de cortisol após teste de estimulação com ACTH a 30-47 dias ( $40 \pm 6$  dias) e a 90-150 dias ( $113 \pm 18$  dias) do início do tratamento com trilostano (N=12).



Legenda: As caixas representam os valores entre os percentis 25 e 75%, a linha horizontal (—) indica a mediana, e as linhas verticais que terminam na horizontal representam a variação.

Apesar do número de animais variar, foram comparados os valores médios dos resultados obtidos no TE-ACTH em todas as monitorizações (gráfico 15). O valor sérico de cortisol pós-ACTH demonstrou uma diminuição considerável aos 10-20 dias após o início do tratamento. Posteriormente voltou a aumentar na monitorização seguinte e depois voltou novamente a sofrer uma diminuição. O valor sérico de cortisol basal apresentou o mesmo comportamento, apesar das variações entre as monitorizações não ser tão evidente como os valores séricos após o TE-ACTH.

**Gráfico 15** - Média dos valores séricos de cortisol antes ( $T_0$ ) e após ( $T_1$ ) a administração de ACTH durante as monitorizações consideradas.



### 2.2.6. Resultados do Ionograma

O ionograma não foi realizado a todos os animais antes do tratamento nem durante as monitorizações (Anexo 4, tabela 4). Contudo, verificaram-se alterações nos valores médios de sódio e potássio, apesar da amostra não ser sempre a mesma (quadro 16). Nenhum dos animais que realizou o doseamento apresentou valores superiores ou inferiores ao intervalo de referência estipulado, tanto para o sódio (I.R.: 144-160 mm/l) como para o potássio (I.R.: 3,5-5,8 mm/l).

**Quadro 17** – Alterações nas concentrações séricas de sódio e potássio durante o tratamento com trilostano

	Tempo	N	Mínimo	Máximo	Média	DP
<b>Sódio (mm/l)</b>	Antes do Tx	5	144	156	151	4
	Após 10-20 dias	7	147	159	152	4
	Após 30-47 dias	8	148	156	152	2
	Após 90-150 dias	8	152	160	156	4
<b>Potássio (mm/l)</b>	Antes do Tx	5	3,90	4,70	4,28	0,29
	Após 10-20 dias	8	3,80	4,90	4,36	0,42
	Após 30-47 dias	9	4,20	5,30	4,60	0,37
	Após 90-150 dias	9	4,00	5,00	4,44	0,38

Legenda: Tx – Tratamento; DP – Desvio Padrão; N – número da amostra.

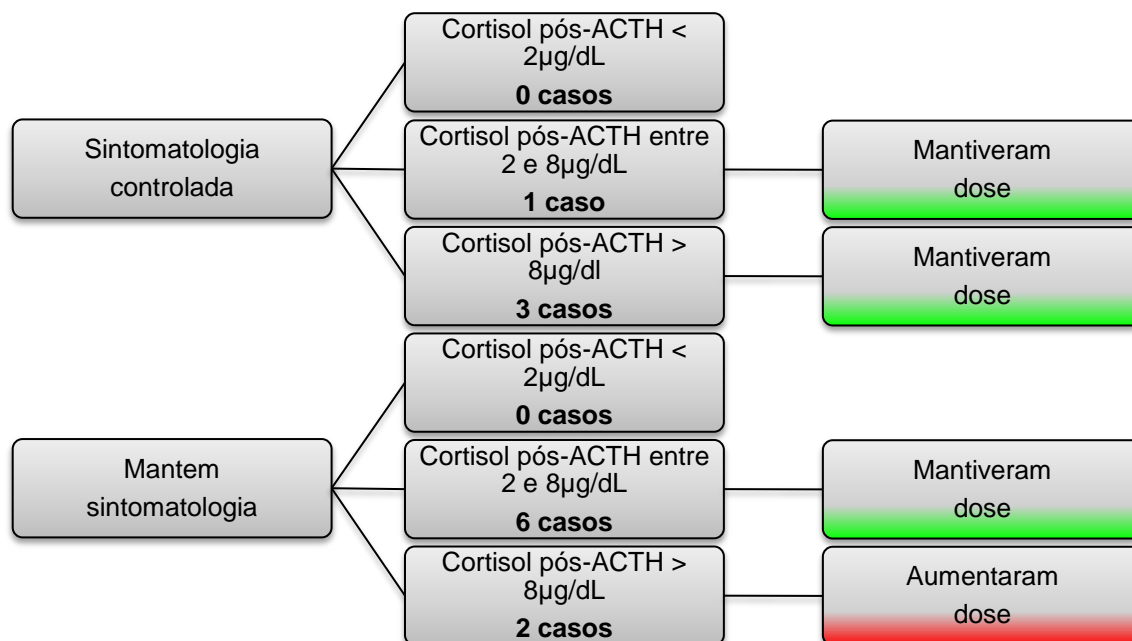
### 2.2.7. Ajustamentos na Dose de Trilostano

Durante as monitorizações foi necessário realizar alguns ajustamentos na dose, os quais foram efectuados em aumentos ou diminuições de 25-50%.

*Entre 10-20 dias:* Nesta altura nenhum animal sofreu qualquer tipo de alteração na dose, independentemente dos resultados obtidos no TE-ACTH e nos sinais clínicos.

*Entre 30-47 dias:* Tendo sido avaliados os sinais clínicos juntamente com os resultados do TE-ACTH, apenas dois animais sofreram um aumento na dose (figura 19). Um dos casos havia sido monitorizado aos 10-20 dias. Dessa monitorização para esta havia emagrecido ligeiramente, mas manteve os sinais dermatológicos. O valor sérico de cortisol foi a T<sub>0</sub> 5,22 µg/dL e a T<sub>1</sub> 10,00 µg/dL. O outro caso não foi monitorizado aos 10-20 dias. Os sinais clínicos que apresentava antes do tratamento não melhoraram (PU/PD, PF, abdómen pendular e atrofia muscular). O resultado do TE-ACTH foi a T<sub>0</sub> 8,41 µg/dL e a T<sub>1</sub> 15,47 µg/dL. Mais três casos apresentavam valores ligeiramente superiores ao I.R. considerado, mas não ultrapassando os 9 µg/dL, e apresentavam melhorias na sintomatologia clínica, razão pela qual não foi alterada a dose.

**Figura 19** - Diagrama ilustrativo da decisão de alteração da dose após 30-47 dias de tratamento com trilostano tendo como base os resultados do TE- ACTH e a evolução dos sinais clínicos.



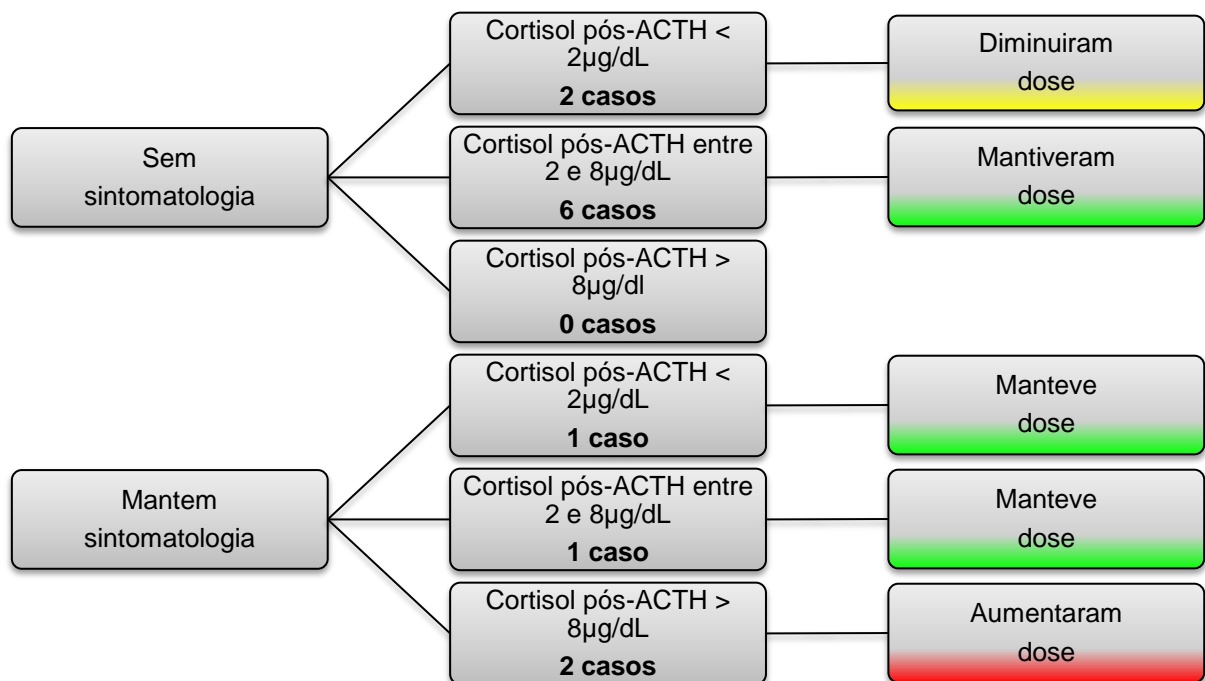
Legenda: > - Maior; < - Menor

*Entre 90-150 dias:* Nesta altura, um maior número de casos necessitou de ajustamentos na dose. 2 animais sofreram uma redução na dose (figura 22). Um deles, apesar de manter a atrofia testicular, melhorou sintomatologicamente (PU/PD, problemas dermatológicos e abdómen pendular) e apresentou um valor de cortisol sérico a T<sub>0</sub> e a T<sub>1</sub> de 1,01 µg/dL e 1,85 µg/dL, respectivamente. O outro paciente apresentava bom quadro clínico relativamente aos sinais apresentados (PU/PD, PF, problemas dermatológicos e abdómen pendular) e

apresentou um valor de cortisol sérico a T<sub>0</sub> de 0,40 e a T<sub>1</sub> de 0,20µg/dL. Houve ainda um animal que também apresentou um valor de cortisol pós-ACTH < 2µg/dL (1,70µg/dL), mas não alterou a dose pois mantinha a sintomatologia compatível com hiperadrenocorticismos (figura 20). Os animais que reduziram a dose pararam as administrações durante 7 dias e retomaram depois com a nova dose.

Quatro casos mantiveram alguma sintomatologia característica do hiperadrenocorticismos. Contudo, apenas dois animais aumentaram a dose (figura 22). Um caso mostrou resultados no TE-ACTH a T<sub>0</sub> e a T<sub>1</sub> de 4,33 e 13,10µg/dL e apesar de na monitorização anterior ter melhorado, voltou a apresentar PU/PD e piorou a nível dermatológico. O outro animal que sofreu um aumento na dose apresentou um resultado no TE-ACTH antes e após a administração de ACTH de 5,70 e 8,88µg/dL, respectivamente. Os sinais clínicos apresentados mantinham-se (PU/PD, PF, abdómen pendular e atrofia muscular). De facto, já quando realizou a monitorização anterior (entre os 30 e os 47 dias), também foi necessário aumentar-lhe a dose. Foi realizado um TE-ACTH após 24 horas da toma do trilostando e verificou-se que o fármaco não estava a surtir o efeito desejável durante 24 horas. Desta vez foi alterada a frequência passando a ser administrado de 12 em 12 horas. Tendo em conta os 12 casos monitorizados nos três momentos, o valor médio da dose variou ao longo das monitorizações: na 1<sup>a</sup> manteve-se como inicialmente (2,42 ±0,92mg/Kg), entre os 30-40 dias sofreu um aumento para 2,65 ±1,07mg/kg e entre os 90-150 dias sofreu novamente um aumento para 3,05±2,22 mg/kg.

**Figura 20** - Diagrama ilustrativo da decisão de alteração da dose após 90-150 dias de tratamento com trilostano tendo como base os resultados do TE-ACTH e a evolução dos sinais clínicos.



Legenda: > - Maior; < - Menor.

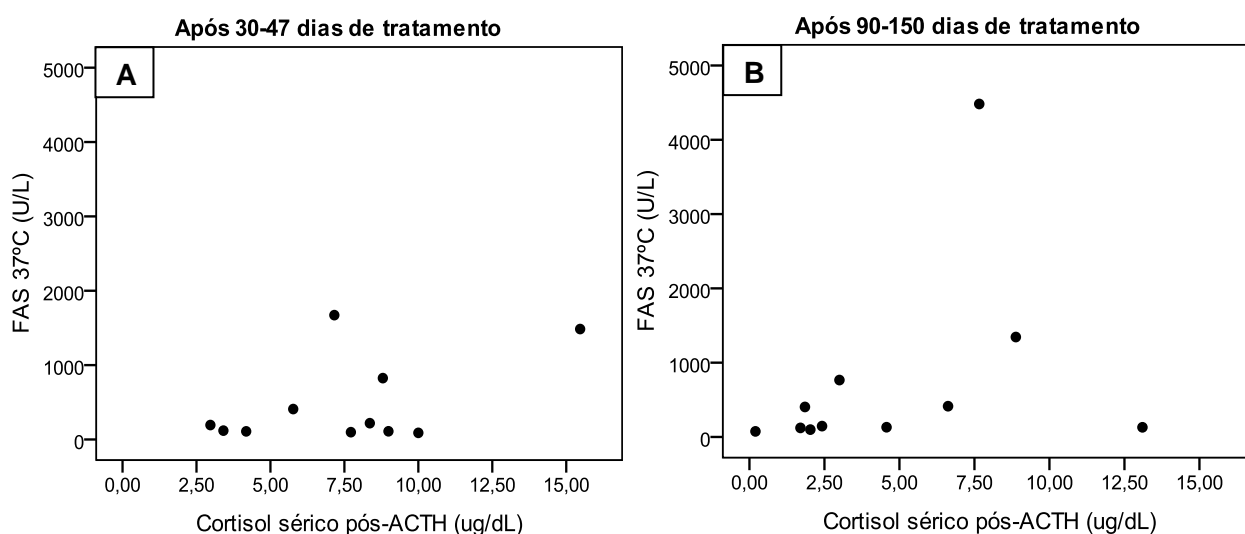
Tendo como base os resultados do TE-ACTH e dos sinais clínicos, pôde-se observar que aos 30-47 dias de tratamento, aproximadamente 83% dos casos encontravam-se controlados e aos 90-150, a percentagem diminuiu para aproximadamente 67%.

### 2.2.8. FAS a 37°C Como Parâmetro de Monitorização

Na 2ª e 3ª monitorizações, 11 animais realizaram em simultâneo a FAS e o TE-ACTH. O comportamento da FAS ao longo do tratamento com trilostano mostrou algumas flutuações, mas em média, diminuiu. O valor sérico de cortisol pós-ACTH também apresentou ligeiras flutuações, mas diminuiu em média. No entanto, quando comparados estes parâmetros, verificou-se que os valores não se mostraram correlacionados (gráficos 16-A e 16-B). Pelo gráfico verifica-se que valores mais altos de cortisol pós-ACTH não demonstraram um doseamento da FAS necessariamente mais alto e vice-versa.

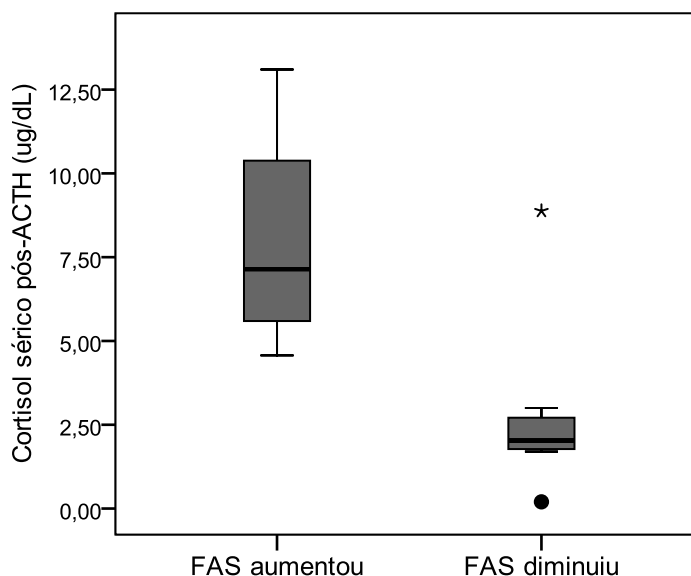
Quando comparada a evolução da FAS da 2ª monitorização (30-47 dias) para a 3ª monitorização (90-150 dias) pôde-se observar que a maior parte dos animais que apresentaram uma diminuição no valor da FAS, apresentaram um valor de cortisol sérico pós-ACTH mais diminuído aos 90-150 dias (gráfico 17). Todavia, esta diferença não se mostrou estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$  segundo o teste de Mann-Whitney-U): um animal que havia diminuído no valor da FAS apresentou um valor sérico de cortisol pós-ACTH bastante elevado (gráfico 17). A média do valor de cortisol após administração de ACTH nos animais em que a FAS aumentou foi  $7,99 \pm 3,64$   $\mu\text{g/dL}$  (N=4) e nos animais em que a FAS diminuiu foi  $2,87 \pm 2,77$   $\mu\text{g/dL}$  (N=7).

**Gráfico 16** – gráficos de dispersão indicando a evolução da FAS a 37°C de acordo com o valor sérico de cortisol pós-ACTH apresentado aos 30-47 dias ( $40 \pm 8$  dias) (16-A) e aos 90-150 dias ( $113 \pm 18$  dias) (16-B)



.Legenda: Cada marcação (●) representa um animal. 11 animais realizaram em simultâneo as duas análises em ambas as monitorizações. Não existe qualquer correlação entre os resultados destes dois parâmetros: A – Coeficiente de Pearson: 0,329, com uma significância de 0,323; B – Coeficiente de Pearson: 0,499, com uma significância de 0,118.

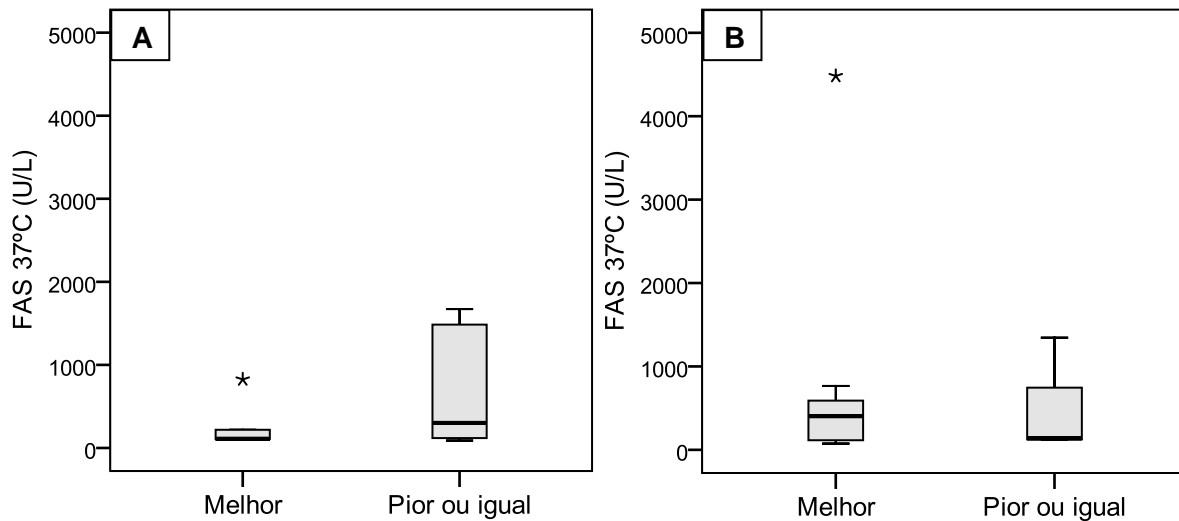
**Gráfico 17** - caixa de bigódes evidenciando os valores de cortisol após teste de estimulação com ACTH aos 90-150 dias ( $113\text{dias}\pm 18$ ) tendo em conta a evolução da FAS dos 30-47 dias ( $40\pm 8\text{dias}$ ) para os 90-150 dias ( $113\pm 18\text{dias}$ ) após o início do tratamento com trilostano ( $N=11$ ).



Legenda: As caixas representam os valores entre os percentis 25 e 75%, a linha horizontal (—) indica a mediana, e as linhas verticais que terminam na horizontal representam a variação; ● e \*— outliers.

O valor da FAS foi também comparado com os sinais clínicos nas 2ª e 3ª monitorizações. Na 2ª monitorização, na sua maioria, os animais que apresentaram melhoras no estado clínico apresentaram valores da actividade da FAS a 37°C mais baixos, enquanto os animais que mantiveram a sintomatologia, alguns apresentaram valores baixos, e outros valores altos, havendo uma grande variação (gráfico 18–A). A média do valor sérico da FAS nos animais que melhoraram sintomatologicamente ( $N=5$ ) e nos que pioraram ( $N=6$ ) foi  $272\text{U/L}\pm 140$  e  $661\text{U/L}\pm 295$ , respectivamente. Esta diminuição, no entanto, não mostrou evidências de ser estatisticamente significativa ( $p\leq 0,05$ , segundo o teste de Mann-Whitney). Na 3ª monitorização, os resultados não foram tão conclusivos. De facto, ambos os valores se encontravam mais baixos, mas um dos animais que se apresentava melhor sintomatologicamente, demonstrou um valor sérico da FAS consideravelmente alto (gráfico 18–B). O valor médio da FAS mostrou-se mais elevado nos animais melhores sintomatologicamente ( $910\pm 1594\text{ UI/L}$ ) relativamente aos animais que ainda apresentavam sintomatologia ou pioraram ( $436\pm 606\text{ UI/L}$ ).

**Gráfico 18** - caixa de bigódes evidenciando os valores da FAS a 37°C tendo em conta a evolução dos sinais clínicos aos 30-47 dias ( $40\pm 8$ dias) (18-A) e aos 90-150 dias ( $113\pm 18$ dias) (18-B) após o início do tratamento com trilostano (N=11).



Legenda: Legenda: As caixas representam os valores entre os percentis 25 e 75%, a linha horizontal (—) indica a mediana, e as linhas verticais que terminam na horizontal representam a variação; • e \* - outliers, valores consideravelmente diferentes da restante amostra apresentando um valor elevado relativamente à amostragem.

Quando considerado apenas o comportamento da FAS e dos sinais clínicos entre os 30-47 dias e os 90-150 dias, verificou-se que estes dois parâmetros nem sempre evoluem do mesmo modo (quadro 17). De facto, 54% dos casos apresentou evoluções contrárias e só 46% dos casos é que demonstraram uma evolução coincidente.

**Quadro 18** - Comportamento da FAS e evolução dos sinais clínicos entre os 30-47 dias ( $40\pm 8$ dias) e os 90-150 ( $113\pm 18$ dias) após o início do tratamento com trilostano.

FAZ	Sinais Clínicos	Casos	%
↑	Pior	1	9%
↓	Melhor	4	37%
↑	Melhor	3	27%
↓	Pior	3	27%

Legenda: ↑ - aumentou; ↓ - diminuiu.

### 3. Discussão de Resultados

Relativamente à primeira parte do presente estudo, foi possível verificar a distribuição dos sinais clínicos e laboratoriais comuns nesta doença. De facto, o quadro clínico de cada animal permitiu conduzir ao diagnóstico de hiperadrenocorticismo e mais uma vez foi comprovada a necessidade de uma boa exploração clínica. Alguns sinais clínicos, como a PU/PD e a PF, não são perceptíveis durante a consulta, pelo que uma boa história pregressa é também imprescindível e muito importante, especialmente no diagnóstico desta doença.

Os animais do presente estudo apresentaram idades compreendidas entre os 4 e os 15 anos, com uma média de 9 anos, ligeiramente mais baixa que os 11 anos referidos por outros autores (Peterson, 2007). Apesar de a maior parte dos animais apresentar idades superiores a 6 anos (Peterson, 2007), o clínico deve estar consciente de que animais mais novos, como 4 anos, podem apresentar a doença. De qualquer forma, este estudo corrobora a prevalência desta doença em animais com idade média a geriátricos. As raças apresentadas também já haviam sido referidas como raças predispostas na bibliografia. A raça Boxer também tem sido referida como raça predisposta recentemente, e este estudo corrobora essa informação. Apesar de ter atingido mais as raças miniatura, tal como descrito por Ramsey e Ristic (2007), as raças de médio e grande porte, como Pastor Alemão e Podengo, podem também ser afectadas. Não existiu diferença entre os animais serem ou não esterilizados. Alguns autores referem maior percentagem da doença em fêmeas (Herrtage, 2004; Peterson, 2007; Ramsey & Ristic, 2007), mas neste estudo, apesar de não haver grande diferença, mais machos foram afectados.

No que diz respeito aos sinais clínicos, a PU/PD foi o sinal clínico mais presente, o que corrobora o descrito pela maior parte dos autores (Stearman & Little, 1978; Herrtage, 2004, Melián *et al*, 2010). De facto, sendo um sinal clínico provocado directamente pelo efeito do cortisol, é explicável a sua alta frequência nos pacientes com HAC. No entanto, nem todos os animais doentes apresentaram necessariamente este sinal clínico, ou então passou imperceptível ao dono e por isso não foi referido como uma alteração. Peterson e Nichols (2004) referem a possibilidade da PU/PD se dever a *diabetes insipida* concomitante, mas neste estudo não houve outras evidências da existência desta doença em nenhum animal, pelo que é mais credível este sinal se dever ao efeito directo dos glucocorticoides em excesso. Os restantes sinais clínicos presentes mostraram frequências semelhantes com as descritas por outros autores (Herrtage, 2004; Melián *et al*, 2010), por vezes mais baixas, possivelmente pela pequena amostragem deste estudo. Os proprietários das 2 cadelas com anestro referiram o tempo de duração desta afecção. Desta forma, foi possível, indirectamente, ter uma ideia de quando poderá o animal ter desenvolvido HAC, o que corrobora a teoria de que o anestro pode ser um dado informativo quanto ao tempo de



duração da doença num animal (Feldman, 1996). Um inconveniente desta avaliação foi o facto de se terem agrupado os sinais dermatológicos, não sendo distinguidos quais estavam presentes. De facto, como a exploração médica aos sinais clínicos não foi realizada sempre pelo mesmo clínico, e sendo este estudo retrospectivo, a descrição da sintomatologia dermatológica poderia não espelhar realmente a frequência desses mesmos sinais. Contudo, todos os animais apresentaram mais do que uma alteração dermatológica e esta sintomatologia mostrou mais uma vez ser comum nos pacientes com HAC. Ramsey & Ristic (2007) referem que as raças de grande porte podem apresentar apenas um sinal clínico enquanto as raças pequenas apenas com um sinal clínico isolado podem não ter HAC. Neste estudo, todos os animais, sem excepção, apresentavam mais do que um sinal clínico, pelo que a suspeita de HAC pode ser precipitada se um animal, mesmo de raça de grande porte, apresentar apenas um sinal clínico. Após a avaliação dos sintomas, verificou-se que realmente a sintomatologia era indicativa de HAC, o que torna a exploração dos sinais clínicos um processo imprescindível para o diagnóstico desta doença. Com efeito, o valor predictivo positivo de um teste endócrino aumenta com o número e gravidade de sinais clínicos apresentados (Behrend & Kemppainen, 2001). Mais alterações clínicas foram observadas, tais como a insuficiência cardíaca. Não foi confirmado se esta doença estava directamente correlacionada com o HAC, mas a hipercortisolémia pode realmente despoletar a insuficiência cardíaca secundariamente às complicações que provoca, tal como a hipertensão arterial (Feldman, 1995). De facto, o animal que apresentava hipertensão arterial tinha igualmente insuficiência cardíaca. O atraso na cicatrização de uma ferida observado num animal é igualmente um dado frequente no HAC devido à rarefação do tecido conjuntivo (Faure, 2006). O animal com sintomatologia neurológica foi submetido a eutanásia pelo diagnóstico através de TAC de tumor hipofisário. O mais provável era tratar-se de um macroadenoma, pois estes têm maior tendência para ser maiores ao ponto de despoletar sintomas neurológicos. No entanto, não foi confirmada esta possibilidade. A presença de nódulos mamários também observada, não está documentada como estando associada ao HAC, e neste estudo também pareceu ser uma alteração independente da doença.

As alterações no hemograma verificadas nestes animais não foram muito evidentes e nem sempre coincidiram com as observadas no hiperadrenocorticism. Relativamente aos eritrócitos, ao hematócrito e à hemoglobina, verificou-se que estes pouco se alteraram e alguns animais apresentaram alterações nestes parâmetros não compatíveis com o HAC. Um ligeiro aumento nos eritrócitos, mesmo sem ultrapassar o intervalo de referência, poderia ser verificado caso existisse um grupo de controlo no hemograma, infelizmente não considerado neste estudo. 2 animais apresentaram hematócrito e eritrócitos diminuídos, dados não comuns nesta doença. Um destes animais apresentava dermatite a malassezia já há alguns meses, enquanto outro, através da ecografia, foi-lhe diagnosticada uma massa

esplénica. Um hemangiossarcoma explicaria as alterações não consistentes com o HAC. Pelos resultados, as doenças existentes simultaneamente com HAC poderão sobrepor-se à endocrinopatia e alterar alguns dados no hemograma, como os eritrócitos. A contagem de plaquetas sanguíneas também aparece aumentada nos pacientes com HAC (Herrtage, 2004). Neste estudo, um animal apresentou trombocitose, mas 2 animais apresentaram trombocitopénia, mas com agregação plaquetária. A veracidade da contagem de plaquetas é totalmente influenciável pela colheita do sangue, pelo que a existência de agregação plaquetária adultera os resultados. Os pacientes com HAC apresentam muitas vezes o conhecido “leucograma de stress” (Behrend & Kemppainen, 2001). No estudo descrito, nenhum animal apresentou simultaneamente todas as alterações comuns ao leucograma de stress, tal como foi observado nos estudos de Stearman & Little (1978), de Leal (2008) e de Ruckstuhl *et al* (2002). Este facto indica que talvez seja mais correcto avaliar as alterações nos leucócitos isoladamente e não esperar que os animais apresentem um leucograma de stress completo. A eosinopénia foi o dado mais apresentado pelos pacientes. Controversamente, Ruckstuhl e colaboradores (2002) não verificaram qualquer alteração nos eosinófilos nos 12 pacientes que foram avaliados. A linfopénia, a neutrofilia e a monocitose foram os dados também mais frequentemente encontrados, o que torna o leucograma mais informativo relativamente à contagem de eritrócitos e plaquetas. No entanto, o número de leucócitos apenas se mostrou alterado num animal, o que leva a crer que as alterações isoladas nas células leucocitárias podem não ser espelhadas pela verificação do número total de leucócitos. Avaliando o hemograma num todo, apesar de um ou outro animal apresentar ligeiras alterações, a média dos valores de cada parâmetro apresentou-se dentro de valores normais. Por outro lado, está descrito na bibliografia que as alterações no hemograma não são específicas. Neste estudo, o hemograma mostrou ter um papel apenas informativo, não sendo de todo essencial para o diagnóstico de HAC.

Nos parâmetros bioquímicos, a FAS a 37°C apresentou-se aumentada em 88% dos casos, uma frequência enquadrada no intervalo de incidência referido por Melián *et al* (2010). De facto, este parâmetro está descrito como sendo um dado bastante comum observado nos pacientes com HAC (Kooistra & Galac, 2010). A sensibilidade da FAS para o diagnóstico de HAC está descrita como sendo maior que 90%, pelo que se um animal apresentar a FAS dentro dos valores de referência, dificilmente terá HAC. Já a sua especificidade é baixa (Behrend & Kemppainen, 2001). Contudo, nem todos os animais deste estudo apresentaram a FAS a 37°C aumentada. Apesar de não ser um dado específico, estão descritos frequentemente valores da FAS acima de 1000UI/L nos pacientes com HAC (Melián *et al*, 2010) e, com efeito, a média do valor da FAS neste estudo foi realmente alta, acima do valor referido, mas a variação foi elevada. Um valor mais elevado não é indicativo da gravidade da doença (Raymond *et al*, 2004) e esta variação poderá dever-se ao facto da existência das várias isoenzimas da FAS e do metabolismo próprio de cada animal. A ALT também se

mostrou aumentada em alguns animais. No entanto não trouxe mais informação que a dada pela FAS, visto que os animais que apresentaram este parâmetro elevado apresentavam também a FAS, enquanto o contrário não se observou. Alguns dados que também são frequentemente encontrados no HAC não mostraram estar presentes em grande percentagem neste estudo. Foi o caso da hiperglicémia e da hipercolesterolemia. De facto, nenhum animal apresentou aumento da glucose sérica e apenas 12% apresentaram hipercolesterolemia, valores que não estão em conformidade com uma incidência de 30 a 60% e de 50 a 90%, respectivamente (Melián *et al*, 2010). Por um lado, poucos animais foram submetidos ao doseamento destes parâmetros e por isso os resultados podem não representar a verdadeira incidência destas alterações na população com hiperadrenocorticismo. Por outro lado, o efeito do cortisol para estimular a lipólise capaz de aumentar o colesterol acima do intervalo de referência e para fomentar a insulino-resistência capaz de aumentar os níveis de glucose pode não ter sido suficiente na altura em que os parâmetros foram medidos. Ainda relativamente à glicemia, esta está associada à presença de *diabetes mellitus*, e estes animais poderiam não apresentar esta doença concomitante. De facto, não foram observados casos de glicosúria nos resultados da urinálise tipo II. Está descrito que a ureia pode surgir diminuída nos pacientes com HAC, devido à elevada diurese (Behrend & Kemppainen, 2001; Peterson, 2007). Por outro lado, o facto de o cortisol sérico aumentar o catabolismo proteico, pode provocar um aumento nos amino-ácidos livres e consequentemente um aumento na sua catabolização que pode levar a um aumento na concentração plasmática de ureia (Silva, 2005). Neste estudo a ureia surgiu aumentada em 3 casos e normal nos restantes (N=17), o que provavelmente indica que o mecanismo da degradação dos amino-ácidos capazes de aumentar a ureia plasmática prevalece relativamente à diminuição deste parâmetro pela PU/PD. Por outro lado, a presença de doenças concomitantes e subclínicas que tenham passado despercebidas podem ter aumentado o valor sérico da ureia. A creatinina, por sua vez, também não mostrou ser influenciada pelas alterações provocadas pelo cortisol pois apresentou-se normal em todos os casos. Mais uma vez, a existência de um grupo de controlo para estes parâmetros traria resultados com um peso informativo maior, na medida em que se poderia verificar se realmente estes parâmetros diminuem ou aumentam num paciente com HAC. Um perfil electrolítico completo foi realizado a 7 animais. A um animal foi doseado apenas o potássio e a outro o potássio e o sódio, não sendo doseado o cloro. De facto, o potássio e o sódio são parâmetros electrolíticos mais informativos que o cloro pois pode haver reabsorção de sódio e excreção de potássio devido ao efeito mineralocorticoide dos glucocorticoides (Cunningham, 1999). Por outro lado, são alterações raramente observáveis (Feldman, 1995; Herrtage, 2004) e este estudo assim o comprovou, pois todos os animais apresentaram valores dentro do intervalo de referência.

Na urinálise tipo II a densidade urinária mostrou-se abaixo de 1020 em 57% dos casos (N=7), tal como no estudo de Stearman & Little (N=7). Esta frequência é ligeiramente mais baixa relativamente ao descrito por Nelson (2006), a qual foi de 85%, ou por Melián *et al* (2010), que foi 80%. O pequeno número de animais poderá ser a razão para esta discrepância. Ainda nesta análise alguns animais apresentaram também proteinúria. Com efeito, a frequência de proteinúria neste estudo encontrou-se de acordo com o descrito na bibliografia (Herrtage, 2004). No entanto, a amostra mais uma vez não foi representativa. A proteinúria possivelmente advém de complicações do HAC não tratado, como a hipertensão arterial ou glomerulopatias (Nelson, 2006). Nenhum animal apresentou análises compatíveis com glomerulopatias, o que leva a crer que provavelmente a proteinúria não provem desta afecção concomitante. No entanto, a pressão arterial não foi medida a todos os pacientes, não se podendo descartar a possibilidade da proteinúria se dever a uma hipertensão arterial. Tendo em conta a frequência alta desta alteração, é possível que outros mecanismos fisiopatológicos directamente relacionados com a hipercortisolémia possam estar na origem da presença de proteinúria.

Os animais foram submetidos após a suspeita do diagnóstico a um teste funcional endócrino. Foi utilizado o TE-ACTH ou o TSDDDB, sem nenhum critério sobre qual dos dois usar. De facto, ambos têm vantagens e desvantagens no diagnóstico de HAC. Por outro lado, a decisão de qual teste usar também deve ser baseado na experiência do clínico veterinário que realiza a consulta e interpreta os resultados (Kooistra & Galac, 2010). O TSDDDB confirmou o diagnóstico em todos os casos em que foi realizado, e permitiu o diagnóstico etiológico de HAC-HD em 67% desses casos (N=9), visto ter havido supressão às T<sub>4h</sub> do eixo H-H-A. No estudo de Feldman, Nelson & Feldman (1996) também 61% dos casos que realizaram o TSDDDB apresentaram resultados indicativos de HAC-HD (N=181). Este estudo corrobora assim a vantagem deste teste permitir em alguns casos o diagnóstico etiológico. O TE-ACTH, como se verificou, falhou no diagnóstico de um dos animais que realizaram o teste (N=12), dando um falso negativo. Este animal foi posteriormente diagnosticado com a realização de um TSDDDB. Já Leal (2008) verificou um falso negativo no TE-ACTH. Feldman (1983a) obteve diagnóstico com o TE-ACTH em 83% dos casos de HAC e com o TSDDDB em 92% dos casos (N=64). Neste estudo, também a sensibilidade do TSDDDB mostrou-se mais uma vez maior que a do TE-ACTH.

Como já referido, o diagnóstico etiológico foi conseguido pelo TSDDDB em alguns animais, mas também a ecografia abdominal teve um papel importante no diagnóstico etiológico. De facto, os resultados da ecografia foram compatíveis com HAC-HD em 32% dos casos. Apesar de não ser um exame muito específico, e haver ainda alguma controvérsia no seu uso para o diagnóstico etiológico (Benchekrone *et al*, 2010; Melián *et al*, 2010), os casos que realizam ecografia e apresentam ambas as adrenais aumentadas têm uma grande probabilidade de serem hipofise-dependentes, segundo Kealy & McAllister (2000). Contudo,

e como a maioria dos autores refere, as adrenais podem adquirir várias alterações que podem ser evidenciadas tanto num paciente com HAC-HD como num com HAC-AD, para além de poder haver sobreposição de tamanhos das adrenais entre um animal livre de doença e outro doente (Benchekroun *et al*, 2010). Com efeito, considerando os animais diagnosticados com HAC-HD pelo TSDDB, apenas um animal apresentou ambas as adrenais aumentadas. Nos outros evidenciaram-se adrenais normais ou apenas uma adrenal aumentada, o que comprova que as adrenais podem adquirir várias alterações independentemente do tipo de HAC. No presente estudo os casos com adrenais normais ou apenas uma aumentada foram considerados inconclusivos, pois uma ligeira assimetria entre as adrenais não deve ser imediatamente considerada devido a um tumor adrenal (Behrend & Kemppainen, 2001) e adrenais normais podem ser apresentadas em ambos os tipos de HAC (Nayland *et al*, 2002), apesar de, no estudo de Gould *et al* (2001), ter sido verificado que os casos de HAC-HD confirmados por doseamento de ACTH endógena apresentaram adrenais ecograficamente normais, com ecotextura normal. Uma desvantagem do nosso estudo foi o facto da maior parte dos animais que apresentaram adrenais aumentadas terem realizado um TE-ACTH em vez de um TSDDB que pudesse confirmar o diagnóstico etiológico, ou um TSDDA, visto que este teste diferencia estes dois tipos de HAC. No entanto, os valores de cortisol pós-ACTH mostraram-se, em média, ligeiramente maiores nos pacientes com adrenais aumentadas, apesar da diferença não ter sido estatisticamente significativa. Este resultado pode indicar um aumento na probabilidade dos animais com as adrenais aumentadas apresentarem possivelmente HAC-HD, pois respostas ao TE-ACTH com valores de cortisol maiores nos pacientes com HAC-HD foram observadas por Feldman (1983a). Contudo, a amostra do autor não foi igual entre os animais com HAC-HD (N=26) relativamente aos animais com HAC-AD (N=7) que realizaram o teste. Já no nosso estudo, a amostra foi semelhante, apesar de não se ter a certeza absoluta sobre a etiologia. Controversamente está descrito que animais com HAC-AD podem apresentar uma resposta exuberante ao TE-ACTH (Kintzer & Peterson, 2006) Se a todos pudesse ser realizada uma confirmação do diagnóstico etiológico através de uma análise histológica e/ou através de uma tomografia axial computadorizada, talvez se pudesse confirmar o pressuposto de que realmente os animais com as adrenais aumentadas ecograficamente e valores séricos de cortisol pós-TE-ACTH relativamente maiores poderiam dar a confirmação de HAC-HD.

De acordo com estes resultados, o diagnóstico etiológico não foi evidentemente confirmado em todos os pacientes. De facto, o tratamento utilizado para o HAC no Hospital Escolar da FMV-UTL é o trilostano. Excluindo o HAC-Ia, que requer um tratamento diferente, as restantes formas de HAC não parecem exigir diferenças na utilização deste fármaco no que diz respeito à frequência e à dose. Contudo, como poucos estudos estão debruçados sobre

o uso do trilostano em pacientes com HAC-AD (Ramsey, 2010), seria necessário uma melhor exploração para uma maior segurança relativamente às doses no HAC-AD.

No estudo 2 averiguou-se o efeito do tratamento com trilostano na evolução dos sinais clínicos, em alguns parâmetros bioquímicos e na resposta ao TE-ACTH. Esta parte do estudo apresentou algumas limitações.

A dose de trilostano utilizada no Hospital da FMV-UTL não mostrou ser directamente proporcional ao peso. De facto, ainda nos dias de hoje não há uma dose nem uma frequência de administração ideais para iniciar o tratamento. De acordo com a maior parte dos estudos realizados com o trilostano, já foram utilizadas doses variando entre 1,0 a 20 mg/kg/dia, independentemente da frequência de administração (Ruckstuhl *et al*, 2002; Neiger *et al*, 2002; Braddock *et al*, 2003; Alenza, Arenas, Lopez & Melián, 2006; Vaughan *et al*, 2008; Galac *et al*, 2008; Benchekroun *et al*, 2008). Mais factores podem ter influenciado a decisão da dose, para além do peso: por um lado, os animais não foram atendidos pelo mesmo clínico, podendo utilizar cada um uma dose com que tenha experiência em utilizar; por outro lado, as formas de trilostano manipuladas numa farmácia são dispendiosas, pelo que a ponderação da decisão da dose pode também ter em conta as formulações comerciais do trilostano. Ainda pode ter sido avaliada a gravidade do quadro clínico para a decisão de doses mais altas ou mais baixas, apesar de não ter sido confirmado este pressuposto neste estudo por se tratar de uma exploração retrospectiva e por a avaliação da sintomatologia e a classificação da gravidade ser subjectiva. No nosso estudo foi utilizada uma dose média de  $2,45 \pm 0,89$  mg/Kg, variando entre 1,25 mg/kg e 4,48 mg/kg, numa frequência de administração de 24 em 24 horas. Esta variação foi consideravelmente mais baixa que os estudos de Ruckstuhl *et al* (2002), Neiger *et al* (2002) e de Braddock *et al* (2003), que foi, respectivamente, 3,9-9,2 mg/kg, 1,8-20 mg/kg e 3-12 mg/kg. Comparando com o aconselhado pelo fabricante, utilizámos uma dose relativamente baixa. Contudo a dose média utilizada encontra-se dentro do intervalo aconselhado por Melián *et al* (2010), que é de 1 a 2,5 mg/kg.

Relativamente aos parâmetros bioquímicos analisados e às posteriores avaliações, como se verificou pelos resultados, nem todos os animais realizaram sempre os parâmetros em todas as monitorizações, o que trouxe algumas limitações, pois tornou-se difícil comparar sempre entre monitorizações os valores. Por isso optou-se por realizarmos primeiro uma comparação das monitorizações sempre com os resultados antes do tratamento.

A resposta ao trilostano pôde ser observada logo após os 10-20 dias, com uma percentagem de animais a melhorar a PU/PD e 2 de 3 animais melhoraram a PF. Infelizmente, nem todos os animais realizaram monitorização nesta altura, pois os proprietários não trouxeram os pacientes à consulta. Um dado relevante foi o facto da fêmea em anestro ter voltado ao ciclo éstrico logo após este tempo. Poucos animais melhoraram relativamente aos sinais dermatológicos e ao abdómen pendular. Nos restantes sinais

clínicos também foram vistas ligeiras melhoras, mas a amostra também era pequena. Já aos 30-47 dias, quando todos os animais foram monitorizados, verificou-se uma grande proporção de melhoras na PU/PD e na PF e também nos restantes sinais clínicos mas não em tão grande proporção. Estes resultados estão em consonância com os resultados obtidos nos estudos de Ruckstuhl *et al* (2002) em 12 pacientes, e de Neiger *et al* (2002) em 78 pacientes, todos com HAC-HD. Como descrito, a PU/PD e a PF são sintomas que surgem do efeito directo do excesso de cortisol, logo uma diminuição dos valores séricos deste pode transparecer rapidamente melhorias nestes sinais. Já relativamente ao abdómen pendular, aos sinais dermatológicos, e à atrofia muscular, o mecanismo fisiopatológico destas alterações exige um excesso de cortisol a longo termo para as provocar. Logo, para se verificarem alterações positivas nestes sinais clínicos é necessário haver regeneração dos folículos pilosos e das glândulas sebáceas no caso dos problemas dermatológicos e a gordura depositada centriptamente poderá necessitar de maior tempo de tratamento para se verificar nova redistribuição no caso do abdómen pendular. Ainda no que diz respeito ao abdómen pendular, para além de ser demorada a visualização de melhorias neste sinal clínico, a sua avaliação é bastante subjectiva. Com efeito, a avaliação do abdómen pendular durante as monitorizações ou foi relatada pelo proprietário, ou verificada pela diminuição do peso. Uma forma eficaz de avaliar as melhorias neste sinal clínico seria medir o perímetro abdominal. O anestro também regrediu logo numa fase precoce. A cessação do ciclo éstrico deve-se ao retrocontrolo negativo exagerado dos glucocorticóides sobre as hormonas responsáveis pela estimulação das gónadas sexuais. Uma diminuição na concentração sérica de cortisol após o início do tratamento possivelmente reduz directamente o efeito de retrocontrolo negativo pelo que as concentrações de GnRH, FSH e LH poderão subir para valores séricos capazes de provocar o retorno ao ciclo éstrico numa fase precoce. Contudo, no estudo Ruckstuhl *et al* (2002), apenas 2 de 3 fêmeas inteiras em anestro retornaram ao ciclo éstrico durante o tratamento. A hipótese para esta diferença é a sensibilidade de cada animal ao cortisol sérico. Com efeito, a sensibilidade individual ao cortisol está bem documentada nos humanos (Vermeer, Hendriks-Stegeman, van Suylekom *et al*, 2004), e possivelmente também existe essa sensibilidade entre a espécie canina. Por outro lado o metabolismo do trilostano também poderá variar individualmente. Aos 90-150 dias de tratamento a percentagem de melhoras nos sinais clínicos aumentou mais uma vez em quase todos excepto na PF e na PU/PD. Este resultado era esperado, pois como referido, a PU/PD e a PF melhoram logo numa fase inicial, daí não haver um aumento de melhoras nesta fase como o observado nos outros sinais clínicos. Ainda nos problemas dermatológicos, 2 animais sofreram uma regressão e um animal voltou a aumentar o consumo de água e a produção de urina relativamente à monitorização anterior. Nesta altura, alguns animais poderão necessitar de um ajustamento da dose de trilostano, talvez por a dose inicial não já ter o efeito desejável.

A FAS tem mostrado noutros estudos uma diminuição no seu valor, por vezes estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) quando comparado com antes do tratamento (Ruckstuhl *et al*, 2002; Arteaga *et al*, 2010). Já neste estudo não se verificou uma diminuição estatisticamente significativa após o tratamento em qualquer monitorização, a não ser após os 10-20 dias. Contudo, esta significância não deve ser interpretada como relevante, porque apenas a 4 casos foi possível realizar a comparação. Ao longo das restantes monitorizações o valor sérico médio da FAS manteve-se sempre mais baixo do que antes do tratamento, contudo aumentou na 3ª monitorização relativamente à 2ª. De facto, na 2ª monitorização apenas 4 animais se mantiveram acima do intervalo de referência e na 3ª, mais um animal apresentava a FAS aumentada (N=11). É certo que o trilostano influencia positivamente o valor da FAS, no entanto poderão haver flutuações entre as monitorizações, as quais não espelham um bom ou mau controlo do animal, e nem sempre os valores podem retornar ao normal.

Melián *et al* (2010) descreveram um protocolo de tratamento em que a FAS é utilizada também como parâmetro de monitorização, para além dos sinais clínicos e dos valores de cortisol sérico após TE-ACTH, na medida em que considera que a FAS acompanha a evolução dos sinais clínicos. Decidimos então verificar como se comportava a FAS relativamente aos outros dois meios utilizados para monitorização. Pelos resultados verificou-se que quando comparada quantitativamente com os valores de cortisol pós-ACTH não se verificou qualquer correlação. No entanto, quando comparado os valores de cortisol pós-ACTH com o comportamento da FAS, verificou-se que valores mais baixos de cortisol sérico apresentaram uma diminuição no valor da FAS. Não houve também relação entre a evolução da FAS e dos sinais clínicos ou entre a evolução destes e os valores da FAS apresentados, ou seja, os resultados não evidenciaram que a FAS pode ser utilizada com parâmetro para decisão de ajustamentos de dose, contrariamente ao aconselhado por Melián *et al* (2010). De facto, pelas justificações sugeridas anteriormente, torna-se insustentável utilizar a FAS devido às flutuações presentes. Existem várias possibilidades que explicam o facto da FAS sofrer algumas flutuações e nem sempre evoluir da mesma forma que os valores de cortisol pós-ACTH ou que os sinais clínicos. Por um lado, o facto do trilostano ter uma curta duração de acção, menor que 18 horas (DVP, 2009), pode explicar a causa de alguns animais não atingirem valores dentro do intervalo de referência, pois tiveram um regime de frequência de administração de 24 em 24 horas. Também a sensibilidade de cada animal ao trilostano pode variar, o que explicaria as flutuações nos valores séricos e a não relação com os outros meios de monitorização. Outra hipótese, colocada por Arteaga *et al* (2010), quando verificaram que nenhum animal atingiu valores dentro do intervalo de referência apesar do valor ter diminuído (N=11), baseia-se na possibilidade dos precursores de cortisol estarem aumentados durante o tratamento com trilostano (Siebert-Ruckstuhl *et al*, 2006) e poderem influenciar a actividade da FAS no



sentido de a aumentar. Também está comprovado que o cortisol é libertado de modo pulsátil durante o dia (Cunningham, 1999), pelo que os valores da FAS podem variar tendo em conta a referida libertação pulsátil. É de considerar ainda o facto de haverem várias isoenzimas da FAS. Com efeito, os animais com HAC são maioritariamente de idade média a geriátricos. Nesta faixa etária é esperado haver um aumento da actividade da isoenzima da FAS no tecido ósseo, devido a um aumento da actividade osteoblástica (Willard, Tvedten & Turnwald, 1999). Desta forma, mesmo que os valores séricos da FAS diminuam, as flutuações podem ser influenciadas por esta isoenzima. Tendo em conta estes pressupostos, dificilmente se poderá utilizar a FAS como parâmetro para ajustamentos de dose. Quanto muito, num caso em que os sinais clínicos não apresentem evolução e o valor de cortisol pós-ACTH se apresente alto ou baixo, o comportamento da FAS relativamente à monitorização anterior poderá aí ser um dado útil na decisão de ajustamento ou manutenção da dose.

A ALT foi também doseada em alguns pacientes durante o tratamento com trilostano. Após 10-20 dias apenas se conseguiu comparar a 5 animais os valores obtidos, e verificou-se que a maior parte diminuiu para valores de referência. De facto, ALT não mostra aumentos tão elevados como a FAS, pelo que o regresso a valores dentro do intervalo de referência seja mais provável neste parâmetro. A ALT apresentou resultados semelhantes à FAS, apesar de nem todos os animais terem realizado as duas últimas monitorizações: a sua actividade diminuiu aos 90-150 dias, mas quando comparando os 6 animais que realizaram as duas últimas monitorizações, o seu valor médio aumentou ligeiramente aos 90-150 dias, mas não tanto quanto estava antes do início do tratamento. Infelizmente não tivemos resultados de todos os pacientes nas diferentes monitorizações. Poder-se-iam ter utilizado apenas os 6 animais que dosearam sempre este parâmetro, mas a amostra não seria representativa. O valor sérico da ALT não mostrou adicionar alguma informação aos resultados observados na FAS, razão pela qual possivelmente não tenha sido doseada em todos os animais durante as monitorizações. Contudo o trilostano tem a capacidade de diminuir deposição de glicogénio nos hepatócitos, a necrose hepatocelular ou as alterações da circulação sanguínea hepática que podem promover o aumento da ALT, mesmo logo após 10-20 dias (Herrtage, 2004).

A creatinina, tal como a ureia, comportaram-se de forma diferente relativamente aos outros parâmetros. Quanto à creatinina, este parâmetro mostrou flutuações durante o tratamento, mas não estatisticamente significativas, tal como o seu aumento aos 90-150 dias não foi estatisticamente significativo. Tebb *et al* (2005) também não obteve diferenças estatisticamente significativas. De facto, a creatinina pode diminuir indirectamente devido à diurese levada a cabo pelo cortisol nesta doença, logo seria de esperar um aumento desta, já que, como se observou, a PU/PD melhorou consideravelmente durante o tratamento. O facto de haverem flutuações pode dever-se à ligeira fase refractária ao trilostano que pode

ter ocorrido aos 90-150 dias durante o tratamento. Por outro lado, existem várias causas fisiológicas que poderiam explicar estas flutuações, como uma ligeira desidratação. Apesar de não terem havido grandes variações durante as monitorizações, a creatinina deve ser avaliada durante pela possibilidade de aumentar para valores acima do intervalo de referência, como se verificou em dois animais durante o estudo.

No que diz respeito à ureia, observaram-se maiores flutuações, e o seu valor médio aumentou ao fim dos 90-150 dias relativamente a antes do tratamento, tal como já descrito pela Dechra Veterinary Products (2009). Contudo, aos 30-47 dias diminuiu numa proporção estatisticamente significativa. Também foi variável o número de animais que sofreu aumentos ou diminuições no valor sérico. Por um lado, a diminuição da diurese poderia ter aumentado os níveis de ureia. Por outro, a diminuição do catabolismo proteico devido ao tratamento poderia provocar uma diminuição no valor sérico deste parâmetro. Na perspectiva em que o seu aumento não seria indicativo de boa eficácia do trilostano, tal estaria em analogia com os outros parâmetros que também sofreram um agravamento ligeiro na média do seu valor aos 90-150 dias. Um estudo com uma maior amostragem para avaliar a concentração sérica da ureia seria necessário para se poderem comparar valores e verificar se a ureia aumenta ou diminui durante o tratamento com trilostano.

Os resultados do doseamento de sódio e de potássio foram os que apresentaram mais limitações, pois poucos animais realizaram doseamento e nem sempre os mesmos nas diferentes monitorizações, o que torna as comparações pouco fiáveis. O sódio mostrou um aumento ligeiro aos 10-20 dias e depois aos 90-150 dias de tratamento. Era de se esperar o contrário, ou seja, uma diminuição na concentração sérica de sódio (DVD, 2009; Melián *et al*, 2010). Este aumento deve-se mais provavelmente à diferente amostra do que propriamente ao tratamento com trilostano. Por outro lado, podem haver flutuações nos valores, resultando nestes aumentos ligeiros. Já o potássio aumentou em todas as monitorizações, excepto aos 90-150 dias, na qual diminuiu ligeiramente. Este resultado corrobora de certa forma o que está descrito na bibliografia (Melián *et al*, 2010), ou seja, a concentração sérica de potássio tende a aumentar durante o tratamento de HAC com trilostano. Apesar da amostra ser pouco representativa e os valores não serem comparados entre os mesmos animais, nenhum destes parâmetros apresentou alterações consideráveis, não havendo episódios de hipercalémia ou de hiponatrémia.

Um dos parâmetros usados para controlar necessidade de ajustamento de dose foi o cortisol sérico após o TE-ACTH. Todos os animais monitorizados realizaram o TE-ACTH cada vez que realizaram monitorização, o que reforça a sua extrema importância no hospital da FMV-UTL para a monitorização de pacientes com HAC durante o tratamento com trilostano. Para evitar variações devido à pouca duração do trilostano (menor que 18 horas), os clínicos veterinários apelam aos donos para administrar o trilostano, de manhã, com comida, e no dia da monitorização, levar o animal para a realização do teste à consulta entre 2 a 4 horas

após a administração, tal como aconselhado pela bibliografia (Ramsey, 2010). Assim, alterações relacionadas com o intervalo de tempo entre a administração de trilostano e a realização do TE-ACTH estiveram controladas neste estudo. Já no estudo de Neiger *et al* (2002) tais instruções não foram dadas aos donos pelo que aferir sobre uma dose de referência ideal para assegurar o controlo do HAC não foi possível. Comparando com os resultados obtidos no diagnóstico, este teste é mais usado como parâmetro de monitorização do que como meio de diagnóstico da doença. A desvantagem incide sobre o facto dos animais que não realizaram um TE-ACTH antes do tratamento não têm meio de comparação com as monitorizações (Anexo 4, tabela 3). Este pressuposto torna importante a realização de um TE-ACTH antes de iniciar o tratamento. Com efeito, aos 10-20 dias após o início do tratamento apenas resultados de 3 animais puderam ser comparados com os resultados do teste antes do tratamento. Os valores de cortisol, tanto pré como pós-ACTH diminuíram nesses 3 animais mas não numa proporção estatisticamente significativa, ao contrário de Rucksthul *et al* (2002), que aos 8 dias observaram uma diminuição estatisticamente significativa. Contudo, a nossa amostra foi definitivamente pouco representativa, para além da dose utilizada por estes autores ter sido maior, logo provavelmente doses maiores de trilostano poderão diminuir mais consideravelmente os valores séricos de cortisol pós-ACTH logo aos 10-20 dias de tratamento. Também no estudo de Neiger *et al* (2002), os valores diminuíram significativamente aos 12 dias (média) de tratamento (N=78). Contudo, o valor médio de cortisol pós-ACTH foi mais alto que o verificado no nosso estudo. Essa diferença pode estar relacionada com o método de análise do TE-ACTH ou no facto da nossa amostra ser consideravelmente menor.

Apesar da amostragem não ser igual, foram comparadas as médias de todos os controlos do nosso estudo, e pelo observado, apenas houve um aumento entre a 1ª e a 2ª monitorização. Entre os 30-47 dias e os 90-150 dias verificou-se uma diminuição no valor médio de cortisol sérico pré e pós-ACTH. Este resultado, como foi realizado em todos os animais, pode dar indicação de uma boa eficácia no efeito do trilostano sobre o cortisol sérico. De facto, o valor médio de cortisol sérico pós-ACTH diminuiu durante as monitorizações nos estudos de Neiger *et al* (2002) e de Braddock *et al* (2003) e nestes estudos o fármaco foi considerado eficaz. No entanto podem haver flutuações no valor médio de cortisol pós-ACTH durante as monitorizações (Rucksthul *et al*, 2002). A explicação para as flutuações no valor médio de cortisol neste estudo englobam o facto de algum animal já não estar a responder idealmente à dose inicial ou então pode ser devido à diferente amostragem entre a 1ª e 2ª monitorizações: de 8 para 11 animais. Além disso, as variações individuais na resposta ao TE-ACTH e também ao trilostano podem alterar os valores. Há ainda a considerar o facto dos proprietários, apesar de instruídos, não terem cumprido em alguma monitorização as condições de administração, e o intervalo de tempo entre a administração de trilostano e a realização do teste ter sido maior que o requerido. De

facto, ao longo das monitorizações, principalmente na 2ª e 3ª em que todos os pacientes foram monitorizados, pôde-se verificar que os valores de cortisol nem sempre diminuíram individualmente, tendo alguns aumentado.

Como já indicado, no hospital da FMV-UTL, são utilizados o TE-ACTH e a avaliação dos sinais clínicos para monitorização dos pacientes. No entanto, de acordo com o estudo, algumas decisões na alteração da dose não foram seguidas rigorosamente, também porque a decisão dependeu de cada clínico, o qual não foi sempre o mesmo nas diferentes monitorizações. Aos 10-20 dias, relativamente ao TE-ACTH, nenhum animal alterou a dose. De facto, segundo Ramsey (2010), nos primeiros 15 dias, a monitorização é importante na medida em que algum animal poderá sofrer uma crise adissoniana despercebida pelo dono por ter sido administrada uma dose elevada. No estudo de Braddock *et al* (2003), aos 10 dias de tratamento, 12 animais apresentaram valores de cortisol sérico pós-ACTH dentro do intervalo de referência que consideraram, o qual foi relativamente mais elevado que o considerado neste estudo (7,25-14,50µg/dL) (N=30). No nosso estudo, os resultados mostraram-se dentro do intervalo de referência em 7 dos 8 animais, o que indica comparativamente um bom resultado, apesar de termos uma amostra menor. Aos 30-47 dias, também uma percentagem maior de animais se encontravam controlados relativamente ao estudo de Braddock *et al* (2002), mas uma percentagem menor comparativamente ao estudo de Neiger *et al* (2003). Contudo, aos 90-150 dias alguns animais encontravam-se pouco controlados. Este facto pode ser explicado pelas doses menores utilizadas neste estudo. Contudo, não foram evidenciados sinais clínicos nem laboratoriais (como hipercalémia) de hipoadrenocorticismo durante as monitorizações, ao contrário do que ocorreu nos estudos referidos em que se utilizaram doses maiores.

Dois animais necessitaram de aumentar a dose na 2ª monitorização, um deles novamente na 3ª monitorização. 1 animal necessitou de diminuir na 3ª monitorização e outro de aumentar. 1 animal necessitou à 2ª monitorização de aumentar e na 3ª de diminuir. Os valores de cortisol pós-ACTH destes animais nem sempre se apresentavam fora do intervalo de referência considerado. Com efeito, a ponderação do ajustamento da dose passou também pela avaliação do quadro geral sintomatológico, tal como noutros estudos. É imprescindível a verificação dos sinais clínicos, pois o valor limite máximo de cortisol pós-ACTH não está devidamente estipulado, havendo vários autores que utilizam intervalos diferentes (Melián *et al*, 2010; Neiger *et al*, 2002; Braddock *et al*, 2003) pelo que a ponderação da dose só no TE-ACTH poderia resultar em animais pouco controlados, com alterações de dose desnecessárias. Tendo em conta o intervalo de tempo considerado deste estudo, a quantidade de animais que necessitaram ajustar a dose não foi consideravelmente diferente de outros estudos, como o de Ruckstul *et al* (2002). Um dos animais que ajustou a dose na 3ª monitorização, sofreu também um aumento na frequência, para administração de 12 em 12 horas. De facto, foi comprovado com um TE-ACTH após 24

horas da toma (não considerado o valor deste teste no estudo) que o trilostano não estava a surtir o efeito desejável. Um animal com administrações de 12 em 12 horas, apresentará uma acção do trilostano mais longa, pelo que, apesar de não se ter seguido mais este caso no estudo, talvez fosse necessário reajustar também um novo intervalo de referência para os valores séricos de cortisol pós-ACTH. Com efeito, no estudo de Vaughan *et al* (2008), em que a administração foi de 12 em 12 horas, o intervalo de referência considerado foi mais baixo (entre 1,5 e 5,5 µg/dL).

Apesar de uma relativa percentagem até este momento de tratamento ter necessitado de alteração de dose, os valores de cortisol e os sinais clínicos mantiveram-se controlados numa percentagem satisfatória, com aproximadamente 67% dos casos controlados. Uma amostra mais representativa poderia apresentar melhores resultados.

Infelizmente neste estudo não foi realizada uma continuação das monitorizações. De facto, um maior espaço de tempo de acompanhamento dos animais poderia revelar mais dados que até aqui não ficaram totalmente bem elucidados. Tal não foi possível, mas puderam-se deduzir algumas ideias, as quais poderão ser um suporte informativo útil no uso do trilostano para o tratamento do HAC.

## Conclusão

Apesar das limitações apresentadas neste estudo, principalmente por se tratar de um estudo retrospectivo, podem ser retidas algumas conclusões.

No estudo 1 verificou-se que os sinais clínicos mostraram ter um papel imprescindível no diagnóstico desta patologia pelo que o conhecimento da constelação de manifestações clínicas dos pacientes torna-se imprescindível, porque muito possivelmente, só o quadro sintomatológico do animal, que tem grande probabilidade de apresentar dois ou mais dos sinais clínicos descritos, permite guiar o diagnóstico para a confirmação do HAC. Já o hemograma tem um papel importante na medida em que é informativo, não apresentando muitas alterações. De facto, mesmo alterações não compatíveis com HAC podem ser evidenciadas, pelo que não se deve excluir a hipótese de um animal ter HAC por esta análise não se apresentar com as alterações descritas. Quanto aos parâmetros bioquímicos, verificou-se que a FAS aumentada foi, de facto, o parâmetro mais compatível com HAC. Um animal sem um aumento na FAS provavelmente poderá não apresentar a doença. Os restantes parâmetros podem também ser elucidativos, mas a probabilidade de estarem normais, de acordo com este estudo, são elevadas. A ureia foi alvo de controvérsia ao que estava descrito anteriormente na bibliografia, pelo que o mecanismo fisiopatológico que a afecta deve ser investigado em estudos futuros. A utilidade destes parâmetros quando avaliados isoladamente para o diagnóstico de HAC não é informativa, logo devem ser avaliados num todo.

Actualmente o nosso país está a passar problemas económicos e financeiros. Esta condição afecta também as possibilidades monetárias dos proprietários para a realização de todos estes exames complementares. Posto isto, se forem colocadas restrições monetárias por parte dos proprietários, e a sintomatologia do paciente for claramente indicativa desta endocrinopatia, é aconselhável realizar imprescindivelmente o doseamento da FAS a 37°C, do colesterol e da glicemia, e a medição da densidade urinária, não sendo de grande relevância para o diagnóstico desta doença os restantes parâmetros medidos. Apenas com a avaliação dos parâmetros referidos e dos sinais clínicos já é permitida uma condução do diagnóstico para a realização de um teste funcional endócrino para a confirmação de HAC.

A confirmação do HAC com o TSDDB mostrou ser ligeiramente mais eficaz pois permitiu o diagnóstico etiológico em 67% dos casos avaliados, e mostrou ser mais sensível que o TE-ACTH, o qual pode dar resultados falso negativos mais frequentemente. Contudo, o TE-ACTH não deve ser descartado, pois após o diagnóstico este teste é bastante importante para as monitorizações subsequentes aquando do tratamento com trilostano. A ecografia às adrenais não mostrou ser um bom exame auxiliar no diagnóstico etiológico de HAC, mas é extremamente útil, principalmente para avaliar o quadro lesional. Apesar das suas

vantagens, continua a ser necessário um estudo reforçado e minucioso para uma interpretação concisa e universal dos resultados ecográficos.

Na avaliação da eficácia do trilostano, pode-se concluir que a administração oral de doses relativamente mais baixas, entre 1,25 e 4,48 mg/kg, numa frequência de 24 em 24 horas é eficaz em melhorar o quadro clínico do animal, as bioquímicas sanguíneas, nomeadamente, a FAS, e os resultados no TE-ACTH. No entanto podem ser necessários sempre alguns ajustamentos na dose, apesar de ser mais seguro relativamente a sobredosagens. Quanto aos parâmetros para ajustamento de dose, os principais e mais úteis são definitivamente a avaliação dos sinais clínicos e o TE-ACTH, sendo o intervalo entre 2,0 µg/dL e 8,0 µg/dL nos valores de cortisol após estimulação um bom intervalo de referência de controlo a considerar. O doseamento da FAS sérica não deve ser um parâmetro para decisão de alteração da dose, pois a sua concentração ao longo do tratamento com trilostano, apesar de melhorar, pode sofrer variações não evidenciadas nos sinais clínicos ou no TE-ACTH e por isso induzir em erro a decisão do clínico. No entanto o seu valor mostrou ser bastante informativo, na medida em que se o trilostano estiver realmente a actuar, há uma diminuição no seu valor sérico, e em casos de dúvida relativamente a ajustamentos na dose, a evolução da FAS entre monitorizações poderá ser importante para a decisão de ajustamento, pelo que o seu doseamento deve ser realizado sempre que possível. Quanto aos restantes parâmetros, todos eles demonstraram ser também informativos. Contudo, uma melhor pesquisa sobre o comportamento da ureia é necessária pela controvérsia relativamente à variação da sua concentração. A realização de um ionograma é também necessária, pelo menos do potássio, porque este tem tendência para aumentar e deve ser controlado pela informação que dá relativamente à possibilidade de sobredosagem e consequentemente de uma crise adissoniana, que é um dos efeitos adversos deste fármaco. Nestes casos, este parâmetro pode auxiliar na decisão de parar o tratamento temporariamente, apesar de no nosso estudo não terem existido casos que evidenciassem essa necessidade.

Como referido, este estudo apresentou algumas limitações, em parte relacionadas com a subjectividade da avaliação nas monitorizações. De facto, o proprietário e o clínico veterinário têm um papel crucial para a eficácia do tratamento desta doença com trilostano e por isso devem manter um bom relacionamento, para existir uma boa troca de informações. Numa perspectiva futura, tal subjectividade pode ser contornada com a realização de uma ficha informativa dirigida aos donos dando as instruções necessárias e uma ficha clínica protocolar para os pacientes com HAC tratados com trilostano. Esta última traria vantagens na medida em que com uma avaliação metódica tornaria mais simples e objectiva a avaliação do paciente, mesmo que não atendido pelo mesmo clínico veterinário. (Anexo 5).

## Bibliografía

- Alenza, D. P., Arenas, C., Lopez, M., & Melián, C. (2006). Long-term efficacy of trilostane administered twice daily in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 42 (4), 269-276.
- Arnold, D. (2001). Pharmacologic profile: Mitotane. *Compendium on Continuing Education for Practicing Veterinarian*, 23, 796-797.
- Arteaga, A., Dhand, N., McCann, T., Knottenbelt, C., Tebb, A., Evans, H., et al. (2010). Monitoring the response of canine hyperadrenocorticism to trilostane treatment by assessment of acute phase protein concentrations. *Journal of Small Animal Practice*, 51 (4), 204-209.
- Bacha Jr., W. J., & Bacha, L. M. (2000). *Color Atlas of Veterinary Histology* (2<sup>a</sup> ed.). Lippincott Williams & Wilkins.
- Baker, K. (1993). Hormonal Alopecia in Dogs and Cats. In E. Boden, *The In Practice Handbook: Small Animal Practice* (1<sup>a</sup> ed., pp. 245-262). U.K.: Baillière Tindall.
- Behrend, E. N., & Kennis, R. (2010). Atypical Cushing's Syndrome in dogs: arguments for against. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 40 (2), 285-296.
- Behrend, E., & Kempainen, R. (2001). Diagnosis of canine hyperadrenocorticism. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 31 (5), 985-1003.
- Bell, R., Neiger, R., McGrotty, Y., & Ramsey, I. (2006). Study of the effects of trilostane on cortisol concentrations and responsiveness to adrenocorticotrophic hormone in hyperadrenocorticoid dogs. *The Veterinary Record*, 159 (9), 277-281.
- Benckekroun, G., Fornel-Thibaud, P. d., Lafarge, S., Gomez, E., Begon, D., Delisle, F., et al. (2008). Trilostane therapy for hyperadrenocorticism in three dogs with adrenocortical metastasis. *The Veterinary Record*, 163 (8), 190-192.
- Benckekroun, G., Fornel-Thibaud, P. d., Piñeiro, M. R., Rault, D., Besso, J., Cohen, A., et al. (2010). Ultrasonography criteria for differentiating ACTH dependency from ACTH independency in 47 dogs with hyperadrenocorticism and equivocal adrenal asymmetry. *Journal veterinary Internal Medicine*, 24 (5), 1077-1085.
- Blois, S. L., Caron, I., & Mitchell, C. (2009). Diagnosis and outcome of a dog with iatrogenic hyperadrenocorticism and secondary pulmonary mineralization. *The Canadian Veterinary Journal*, 50 (4), 397-400.
- Bond, R. (2004). Investigation of Symmetrical Alopecia in Dogs. In C. T. Mooney, & M. E. Peterson, *BSAVA Manual of Canine and Feline Endocrinology* (3<sup>a</sup> ed., pp. 57-65). UK: BSAVA.
- Braddock, J., Church, D., Robertson, I., & Watson, A. (2003). Trilostane treatment in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Australian Veterinary Journal*, 81 (10), 600-607.
- Brown, S. A. (2010). Pathophysiology of Systemic Hypertension. In & E. S. J. Ettinger, *Textbook of Small Animal Internal Medicine* (pp. 472-476). Philadelphia: W.B. Saunders.
- Capen, C. C. (1993). The Endocrine Glands. In K. Jubb, P. C. Kennedy, & N. Palmer, *Pathology of Domestic Animals* (4<sup>a</sup> ed., Vol. 3, pp. 267-347). U.K.: Academic Press.
- Capen, C. C., & Martin, S. L. (1975). Animal Model: Hyperadrenocorticism in dogs. *American Journal of Pathology*, 81 (2), 459-462.
- Castillo, V., & Gallelli, M. (2010). Corticotroph adenoma in dog: pathogenesis and new therapeutic possibilities. *Research in Veterinary Science*, 88 (1), 26-32.
- Castillo, V., Giacomini, D., Páez-Pereda, M., Stalla, J., Labeur, M., Theodoropoulou, M., et al. (2006). Retinoic acid as a novel medical therapy for Cushing's disease in dogs. *Endocrinology*, 147 (9), 4438-4444.
- Castillo, V., Gómez, N., Lalia, J., Blatter, M. C., & García, J. (2008). Cushing's disease in dogs: cabergoline treatment. *Research in Veterinary Science*, 85 (1), 26-34.
- Chapman, P., Kelly, D., Archer, J., Brockman, D., & Neiger, R. (2004). Adrenal necrosis in a dog receiving trilostane for the treatment of hyperadrenocorticism. *Journal of Small Animal Practice*, 45 (6), 307-310.



- Chapman, R., Mooney, C., Ede, J., Evans, H., O'Connor, J., Pfeiffer, D., et al. (2003). Evaluation of The basal and post-adrenocorticotrophic hormone concentrations of 17-hydroxyprogesterone for the diagnosis of hyperadrenocorticism in dogs. *Veterinary Record* , 153 (25), 771-775.
- Church, D. B. (2008). Drugs Used in the Treatment of Adrenal Dysfunction. In J. Maddison, S. Page, & D. B. Church, *Small Animal Clinical Farmacology* (2<sup>a</sup> ed., pp. 517-527). Philadelphia: Elsevier.
- Church, D. B. (2006). Standarts of care (how do I treat) hyperadrenocorticism. *Proceedings in World Congress WSAVA/FECAVA/CSAVA*, (pp. 39-42). Praga.
- Churcher, R. (1999). Hepatic carcinoid, hypercortisolism and hypokalaemia in a dog. *Australian Veterinary Journal* , 77 (10), 641-645.
- Clemente, M., Andrés, P. D., Melián, C., Moralles, M., & Pérez-Alenza, M. (2007). Comparison of non-selective adrenocorticolysis with mitotane or trilostane for the treatment of dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *The Veterinary Record* , 161 (24), 805-809.
- Cunningham, J. G. (1999). *Textbook of Veterinary Physiology* (2<sup>a</sup> ed.). Philadelphia: W.B. Saunders.
- Cushing, H. W. (1932). The basophil adenomas of the pituitary and their clinical manifestations. *Bull Johns Hopkins Hospital*, 50, 137-195 in Grossman, A. B. (2004). Harvey Cushing and Cushing's Syndrome. *Grand Rounds* , 4, L10-L11.
- Daminet, S. (2006). Cocurrent treatment of canine hyperadrenocorticism. *Proceedings in World Congress WSAVA/FECAVA/CSAVA*, (pp. 299-301). Praga.
- De Fornel, P., Delisle, F., & Devauchelle, D. R. (2007). Effects of radiotherapy on pituitary corticotroph macrotumors in dogs: a retrospective study of 12 cases. *The Canadian Veterinary Journal* , 48 (5), 481-486.
- Dechra Veterinary Products. (2009). *Vetoryl (Trilostane) Technical Brochure U.S.A.* Obtido em 21 de Dezembro de 2010, de Dechra Veterinary Products: <http://www.dechra-us.com/Topmenu/Products/Products-1.aspx?pcatid=PROPFIELD465&catid=PROPGRP37&fid=PROPFIELD469&ProductID=PROD247>
- Dewis, P., Anderson, D., Bu'lock, D. E., Earnshaw, R., & Kelly, W. (1983). Experience with trilostane in the treatment of Cushing's syndrome [abstract]. *Clinical Endocrinology* , 18 (6), 533-540.
- Done, S. H., Goody, P. C., Evans, S. A., & Stickland, N. C. (1997). *Atlas en Color de Anatomía Veterinaria: El Perro y el gato*. Madrid: Elsevier.
- Dunn, K. (1997). Complications associated with the diagnosis and management of canine hyperadrenocorticism. *In Practice* , 19 (5), 246-255.
- Dyce, K., Sack, W., & Wensing, C. (2004). *Textbook of Veterinary Anatomy* (3<sup>a</sup> Edição ed.). U.S.A.: Elsevier.
- Faure, A. (2006). *Les Corticoides en Dermatologie Canine: Mecanismes et aspects cliniques des effets secondaires cutanes*. Thèse pour le grade de Docteur Vétérinaire, École Nationale Vétérinaire de Lyon.
- Feldman, E. C. (1995). Hyperadrenocorticism. In E. C. Feldman, & S. J. Ettinger, *Texbook of Veterinary Internal Medicine* (4<sup>a</sup> ed., pp. 1538-1577). Philadelphia: W.B. Saunders.
- Feldman, E. (1983a). Comparison of ACTH response and dexamethasone suppression as screening tests in canine hyperadrenocorticism. *Journal of American Veterinary Medical Association* , 182 (5), 506-510.
- Feldman, E. (1983b). Distinguishing dogs with functioning adrenocortical tumors from dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Journal of American Medical Veterinary Association* , 183 (2), 195-200.
- Feldman, E. (1985). Evaluation of a combined dexamethasone suppression/ACTH stimulation test in dogs with hyperadrenocorticism. *Journal of American Medical Veterinary Association* , 187 (1), 49-53.
- Feldman, E., & Nelson, R. (2004). Canine Hyperadrenocorticism. In E. Feldman, & R. Nelson, *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction* (3<sup>a</sup> ed., pp. 252-357). Philadelphia: W.B. Saunders.

- Feldman, E., Nelson, R., & Feldman, M. (1996). Use of low- and high-dose dexamethasone suppression tests for distinguishing PDH from ADH in dogs. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 207, 772-775.
- Ferguson, D., & Peterson, M. (1992). Serum free and total iodothyronine concentrations in dogs with hyperadrenocorticism. *American Journal of Veterinary Research*, 53, 1636-1640 in Seita, R. P. (2009). *Hipotiroidismo Canino*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa - Faculdade de Medicina Veterinária.
- Findling, J. W., & Raff, H. (2006). Cushing's Syndrome: important issues in diagnosis and management. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 91 (10), 3746-3753.
- Forrester, S., Martinez, N., Panciera, D., Moon, M., Picket, C., & Ward, D. (2003). Absence of urinary tract infection in dogs with experimentally induced hyperadrenocorticism. *Research in Veterinary Science*, 74 (2), 179-182.
- Frank, L. A. (2006). Comparative dermatology - Canine endocrine dermatosis. *Clinics in Dermatology*, 24 (4), 317-325.
- Galac, S., Buijtsels, J. J., Mol, J. A., & Kooistra, H. S. (2010). Effects of trilostane on the pituitary-adrenocortical and renin-aldosterone axis in dogs with pituitary-dependent hypercortisolism. *The Veterinary Journal*, 183 (1), 75-80.
- Galac, S., Kooistra, H., Teske, E., & Rijnberk, A. (1997). Urinary corticoid/creatinine ratios in the differentiation between pituitary-dependent hyperadrenocorticism and hyperadrenocorticism due to adrenocortical tumour in the dog [abstract]. *Veterinary Quarterly*, 19 (1), 17-20.
- Galac, S., Kooistra, H., Voorhout, G., van den Ingh, T., Mol, J., van den Berg, G., et al. (2005). Hyperadrenocorticism in a dog due to ectopic secretion of adrenocorticotrophic hormone. *Domestic Animal Endocrinology*, 28 (3), 338-348.
- Getty, R. (2000). *Sisson & Grossman Anatomia dos Animais Domésticos* (5ª ed., Vol. 2). W.B. Saunders Rio de Janeiro: Guarana Koogan S.A.
- Ginel, P. J., Lucena, R., & Fernández, M. (2002). Duration of increased serum alkaline phosphatase activity in dogs receiving different glucocorticoid doses. *Research In Veterinary Science*, 72 (3), 201-204.
- Goodman, H. M. (2003). Adrenal Glands. In H. M. Goodman, *Basic Medical Endocrinology* (3ª ed., pp. 111-164). U.S.A.: Academic Press.
- Gould, S. M., Baines, E. A., Mannion, P. A., Evans, H., & Herrtage, M. E. (2001). Use of endogenous ACTH concentration and adrenal ultrasonography to distinguish the cause of canine hyperadrenocorticism. *Journal of Small Animal Practice*, 42 (3), 113-121.
- Goy-Thollot, I., Pécheraut, D., Kéroack, S., J-C., D., & Bonnet, J.-M. (2002). Investigation of the role of aldosterone in hypertension associated with spontaneous pituitary-dependent hyperadrenocorticism in dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 43 (11), 489-492.
- Greco, D. S. (2007). Hyperadrenocorticism associated with sex steroid excess. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 22 (1), 12-17.
- Grossman, A. B. (2004). Harvey Cushing and Cushing's Syndrome. *Grand Rounds*, 4, L10-L11.
- Hanson, J. M., Teske, E., Voorhout, G., Galac, S., Kooistra, H. S., & Meij, B. P. (2007). Prognostic factors for outcome after transsphenoidal hypophysectomy in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Journal of Neurosurgery*, 107 (4), 830-840.
- Hara, Y., Teshima, t., Taoda, T., Ishino, H., Nezu, Y., Harada, Y., et al. (2010). Efficacy of transphenoidal surgery on endocrinological status and serum chemistry parameters in dogs with Cushing's disease. *Journal of Veterinary Medicine Science*, 72 (4), 397-404.
- Herrtage, M. (2000). Diseases of the Endocrine System. In J. K. Dunn, *Textbook of Small Animal Medicine* (pp. 526-573). Philadelphia: W.B. Saunders.
- Herrtage, M. E. (2004). Canine Hyperadrenocorticism. In C. T. Mooney, & M. E. Peterson, *BSAVA Manual of Canine and Feline Endocrinology* (3ª ed., pp. 150-171). Gloucester, UK: British Small Animal Veterinary Association.
- Hurley, K., Sturgess, K., Cauvin, A., & Kuipers, R. (1998). The use of trilostane for the treatment of hyperadrenocorticism in dogs [abstract]. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 12 (3), 210.

- Jacoby, R. C., Owings, J. T., Ortega, T., Gosselin, R., & Feldman, E. C. (2001). Biochemical Basis for the hypercoagulable state seen in Cushing Syndrome. *Archives of Surgery* , 136 (9), 1003-1007.
- Javadi, S., Kooistra, H., Mol, J., Boer, P., Boer, W., & Rijnberk, A. (2003). Plasma aldosterone concentrations and plasma renin activity in healthy dogs and dogs with hyperadrenocorticism. *The Veterinary Record* , 153 (17), 521-525.
- Jones, T. C., Hunt, R. D., & King, N. W. (1997). Endocrine Glands. In T. C. Jones, R. D. Hunt, & N. W. King, *Veterinary Pathology* (6<sup>a</sup> ed., pp. 1223-1257). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Joubert, E. (2002). *Modifications Biologiques Induites Par l'Hypercorticisme Chez le Chien: Synthèse Bibliographique*. These pour le grade de Docteur Vétérinaire, École Nationale Vétérinaire de Toulouse in Leal, R. O. (2008). *Abordagem ao Diagnóstico do Hiperadrenocorticismo Canino: Importância dos Testes Funcionais*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa - Faculdade de Medicina Veterinária.
- Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (2004). *Histologia Básica* (10<sup>a</sup> ed.). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A.
- Kallet, A., & Cowgill, L. D. (1992). Hypertensive states in the dog. *Proceedings of the 10th American College of Veterinary Internal Medicine*, (p. 79) in Goy-Thollot, I., Pécheraut, D., Kéroack, S., J-C., D., & Bonnet, J.-M. (2002). Investigation of the role of aldosterone in hypertension associated with spontaneous pituitary-dependent hyperadrenocorticism in dogs. *Journal of Small Animal Practice* , 43 (11), 489-492.
- Kaplan, A., Peterson, M., & Kempainen, R. (1995). Effects of disease on the results of diagnostic tests for use in detecting hyperadrenocorticism in dogs. *Journal of American Veterinary Medical Association* , 207, 445 in Melián, C., Pérez-Alenza, M. D., & Peterson, M. E. (2010). Canine Hyperadrenocorticism. In S. J. Ettinger, & E. C. Feldman, *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (7<sup>a</sup> ed., Vol. 2). Philadelphia: W.B. Saunders.
- Kealy, J. K., & McAllister, H. (2000). Soft Tissues. In J. K. Kealy, & H. McAllister, *Diagnostic Radiology and Ultrasonography of the Dog* (3<sup>a</sup> ed.). Philadelphia: W.B. Saunders.
- Kempainen, R., & Peterson, M. (1993). Circulating concentration of dexamethasone in healthy dogs, dogs with hyperadrenocorticism, and dogs with nonadrenal illness during dexamethasone suppression testing. *American Journal of Veterinary Research* , 54 (10), 1765-1769.
- Kenefick, S., & Neiger, R. (2008). The effect of trilostane treatment on circulating thyroid hormone concentrations in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Journal of Small Animal Practice* , 49 (3), 139-143.
- Kidney, B., & Jackson, M. (1988). Diagnostic value of alkaline phosphatase isoenzyme separation by affinity electrophoresis in the dog. *The Canadian Veterinary Research* , 52 (1), 106-110.
- Kintzer, P. P., & Peterson, M. E. (2006). Diseases of the Adrenal Gland. In S. J. Birchard, & R. G. Sherding, *Saunders Manual of Small Animal Practice* (3<sup>a</sup> ed., pp. 357-375). Philadelphia: Saunders.
- Kintzer, P., & Peterson, M. (1991). Mitotane (o,p'-DDD) treatment of 200 dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Journal of Veterinary Internal Medicine* , 5 (3), 182-190.
- Kooistra, H. S., & Galac, S. (2010). Recent advances in the diagnosis of Cushing's syndrome in dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* , 40 (2), 259-267.
- Kooistra, H., Greven, S., Mol, J., & Rijnberk, A. (1997). Pulsatile secretion of alpha-MSH and the differential effects of dexamethasone and haloperidol on the secretion of alpha-MSH and ACTH in dogs. *The Journal of Endocrinology* , 152 (1), 113-121.
- Kyles, A., Feldman, E., Cock, H. D., Kass, P., Mathews, K., Hardie, E., et al. (2003). Surgical management of adrenal gland tumors with and without associated tumor thrombi in dogs: 40 cases (1994-2001). *Journal of American Veterinary Medical Association* , 223 (5), 654-662.

- Labelle, P., Kyles, A. E., Farver, T. B., & De Cock, H. E. (2004). Indicators of malignancy of canine adrenocortical tumors: Histopathology and proliferation index. *Veterinary Pathology*, 41, 490-497.
- Laurenson, M. (2010). *Hyperadrenocorticism and pseudomyotonia*. Obtido em 12 de Novembro de 2010, de Veterinary Medical and Surgical Group: <http://www.vmsg.com/canine-hyperadrenocorticism-and-pseudomyotonia>
- Leal, R. O. (2008). *Abordagem ao Diagnóstico do Hiperadrenocorticismo Canino: Importância dos Testes Funcionais*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa - Faculdade de Medicina Veterinária.
- Lee, W., Meij, B., Bhatti, S., Mol, J., Rijnberk, A., & Kooistra, H. (2003). Pulsatile secretion pattern of growth hormone in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Domestic Animal Endocrinology*, 24 (1), 59-68.
- Lien, Y.-H., Hsiang, T.-Y., & Huang, H.-P. (2010). Associations among systemic blood pressure, microalbuminuria and albuminuria in dogs affected with pituitary- and adrenal-dependent hyperadrenocorticism. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 12, 52-61.
- Machida, T., Uchida, E., Matsuda, K., Hirayama, K., Yoshii, K., Takiguchi, M., et al. (2008). Aldosterone-, corticosterone- and cortisol-secreting adrenocortical carcinoma in a dog: Case Report. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 70 (3), 317-320.
- Mahaffey, M. B., & Barber, D. L. (2002). The Peritoneal Space. In D. E. Thrall, *Textbook of Veterinary Diagnostic Radiology* (4<sup>a</sup> ed., pp. 516-539). Philadelphia: Saunders.
- Marco, V. D., Martorelli, C. R., & Winkel, V. d. (2010). Avaliação da relação proteína/creatinina urinária e hipertensão arterial sistêmica em cães com hiperadrenocorticismo hipofiso-dependente. *Revista Clínica Veterinária*, 86, 72-76.
- Martínez, N. I., Panciera, D. L., Abbott, J. A., & Ward, D. L. (2005). Evaluation of pressor sensitivity to norepinephrine infusion in dogs with iatrogenic hyperadrenocorticism. *Research in Veterinary Science*, 78 (1), 25-31.
- Meij, B., Mol, J., Bevers, M., & Rijnberk, A. (1997). Alterations in anterior pituitary function of dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Journal of Endocrinology*, 154 (3), 505-512.
- Meij, B., Voorhout, G., & Rijnberk, A. (2002). Progress in transsphenoidal hypophysectomy for treatment of pituitary-dependent hyperadrenocorticism in dogs and cats. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 197 (1-2), 89-96.
- Melián, C., Pérez-Alenza, M. D., & Peterson, M. E. (2010). Canine Hyperadrenocorticism. In S. J. Ettinger, & E. C. Feldman, *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (7<sup>a</sup> ed., Vol. 2). Philadelphia: W.B. Saunders.
- Mitchell, C. W. (2009). The imaging diagnosis of pulmonary thromboembolism. *The Canadian Veterinary Journal*, 50 (2), 199-201.
- Nachreiner, R. F., & Refsal, K. R. (2004). Collection, Storage and Transport of Samples. In C. T. Mooney, & M. E. Peterson, *BSAVA Manual of Canine and Feline Endocrinology* (3<sup>a</sup> ed., pp. 1-5). Gloucester, UK: British Small Animal Veterinary Association.
- Nayland, T. G., Mattoon, J. S., & Wisner, E. R. (2002). Ultrasonography of the Urinary Tract and Adrenal Glands. In T. G. Mayland, & J. S. Mattoon, *Veterinary Diagnostic Ultrasonography* (2<sup>a</sup> ed., pp. 95-124). Philadelphia: WB Saunders Company.
- Neiger, R., Hurley, K., & Ramsey, I. (2002). Trilostane treatment of 78 dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *The Veterinary Record*, 150 (6), 799-804.
- Nelson, R. W. (2006). Endocrine Disorders. In R. W. Nelson, & C. G. Couto, *Small Animal Internal Medicine* (3<sup>a</sup> ed.). U.S.A.: Elsevier.
- Neumann, H., Potts, G., Rayan, W., & Stonner, F. (1970). Steroidal heterocycles. 13, 4-alpha, 5-epoxy-5alpha-androst-2-eno [2,3-d] isoxazoles and related compounds. *Journal of Medicinal Chemistry*, 13 (5), 948-951.
- Nicolas, P. (2004). *Dosage Plasmatique des Précurseurs de l'ACTH Lors de Maladie de Cushing Chez le Chien : Intérêt pour la detection des adénomes hypophysaires de grand taille*. These pour le Doctorat Veterinaire, École Nationale Vétérinaire d'Alfort.
- Oliver, J. W. (2007). Steroid profiles in the diagnosis of canine adrenal disorders. *25th American College of Veterinary Internal Medicine*, (pp. 471-473). Seattle.

- Ortega, T., Feldman, E., Nelson, R., Willits, N., & Cowgill, L. (1996). Systemic arterial blood pressure and creatinine/proteine ratio in dogs with hyperadrenocorticism. *Journal of American Veterinary Medical Association* , 209 (10), 1724-1729.
- Peterson, M. E. (2007). Diagnosis of hyperadrenocorticism in dogs. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* , 22 (1), 2-11.
- Peterson, M. E., & Nichols, R. (2004). Investigation of Polyuria and Polydipsia. In C. T. Mooney, & M. E. Peterson, *BSAVA Manual of Canine and Feline Endocrinology* (3<sup>a</sup> ed., pp. 16-25). BSAVA.
- Plumb, D. (2005). Trilostane. In D. Plumb, *Veterinary Drug Handbook* (5<sup>a</sup> ed.). Ames: Iowa State University Press.
- Plummer, C., Specht, A., & Gelatt, K. (2007). Ocular manifestations of endocrine disease. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* , 29 (12), 733-743.
- Quintana, O. F., & Ojeda, M. M. (1999). Diagnóstico de Laboratorio de las Principales Endocrinopatías: Las Glándulas Adrenales. *Canis et Felis: Aula Veterinaria* , 38, 12-29.
- Ramsey, I. K. (2010). Trilostane in dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* , 40 (2), 269-283.
- Ramsey, I., & Neiger, R. (2007). Treatment of canine hyperadrenocorticism. *In Practice* , 29 (9), 512-519.
- Ramsey, I., & Ristic, J. (2007). Diagnosis of canine hyperadrenocorticism. *In Practice* , 29 (8), 446-454.
- Ramsey, I., Richardson, J., Lenard, Z., Tebb, A., & Irwin, P. (2008). Persistent isolated hypocortisolism following brief treatment with trilostane. *Australian veterinary Journal* , 86 (12), 491-495.
- Ramsey, I., Tebb, A., Harris, E., Evans, H., & Herrtage, M. (2005). Hyperparathyroidism in dogs with hyperadrenocorticism. *Journal of Small Animal Practice* , 46 (11), 531-536.
- Randall, D., Burggren, W., & French, K. (1998). Hormones: Regulation and Action. In D. Randall, W. Burggren, & K. French, *Eckert Animal Physiology* (4<sup>a</sup> ed., pp. 329-380). W. H. Freeman and Company.
- Raymond, J. L., Tarpley, H. L., Latimer, K. S., & Bain, P. J. (2004). *Alkaline phosphatase activity as a clinical chemistry diagnostic Aid*. Obtido em 12 de Novembro de 2010, de Veterinary Clinical Pathology Clerkship Program: <http://vet.uga.edu/vpp/clerk/raymond/index.php>
- Reine, N. P. (2007). Medical management of pituitary-dependent hyperadrenocorticism: mitotane versus trilostane. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* , 22 (1), 18-25.
- Reusch, C., Steffen, T., & Hoerauf, A. (1999). The efficacy of L-Deprenyl in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Journal of Veterinary Internal Medicine* , 13 (4), 291-301.
- Rijnberk, A. (1996). Adrenals. In A. Rijnberk, *Clinical Endocrinology of Dogs and Cats* (1<sup>a</sup> ed., pp. 61-94). U.S.A.: Kluwer Academic Publishers.
- Rijnberk, A., der Kinderen, P., & Thijssen, J. (1968). Spontaneous hyperadrenocorticism in the dog. *Journal of Endocrinology* , 41, 397-406.
- Ruckstuhl, N. S., Nett, C. S., & Reusch, C. E. (2002). Results of clinical examinations, laboratory tests, and ultrasonography in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism treated with trilostane. *American Journal of Veterinary Research* , 63 (4), 506-512.
- Sahdev, A., Reznik, R. H., Evanson, J., & Grossman, A. B. (2007). Imaging in Cushing's syndrome. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia* , 51 (8), 1319-1328.
- Schotanus, B., Meij, B., Vos, I., Kooistra, H., & Everts, M. (2006). Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase content in skeletal muscle of dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Domestic Animal Endocrinology* , 30 (4), 320-332.
- Seita, R. P. (2009). *Hipotiroidismo Canino*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa - Faculdade de Medicina Veterinária.
- Sieber-Ruckstuhl, N., Boretti, F., Wenger, M., Maser-Gluth, C., & Reusch, C. (2006). Cortisol, aldosterone, cortisol precursor, androgen and endogenous ACTH concentrations in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism treated with trilostane. *Domestic Animal Endocrinology* , 31 (1), 63-75.

- Sieber-Ruckstuhl, N., Boretti, F., Wenger, M., Maser-Gluth, C., & Reusch, C. (2008). Serum concentrations of cortisol and cortisone in healthy dogs and dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism treated with trilostane. *The Veterinary Record* , 163 (16), 477-482.
- Silva, L. S. (2005). *Hormônios da Glândula Adrenal*. Seminário de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.
- Smets, P., Meyer, E., Maddens, B., & Daminet, S. (2010). Cushing's syndrome, glucocorticoids and the kidney. *General and Comparative Endocrinology* , 169 (1), 1-10.
- Smiley, L. E., & Peterson, M. E. (1993). Evaluation of a urine cortisol:creatinine ratio as a screening test for hyperadrenocorticism in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* , 7 (3), 163-168.
- Spearman, J., & Little, P. (1978). Hyperadrenocorticism in dogs: A study of eight cases. *Canadian Veterinary Journal* , 19 (2), 33-39.
- Stewart, P. M. (2008). The Adrenal Cortex. In H. Kronenberg, S. Melmed, K. Polonsky, & P. Larsen, *Williams Textbook of Endocrinology* (11<sup>a</sup> ed.). Philadelphia: Elsevier.
- Tebb, A., Arteaga, A., Evans, H., & Ramsey, I. (2005). Canine hyperadrenocorticism: effects of trilostane on parathyroid hormone, calcium and phosphate concentrations. *Journal of Small Animal Practice* , 46 (11), 537-542.
- Teshima, T., Hara, Y., Takekoshi, S., Nezua, Y., Harada, Y., Yogo, T., et al. (2009). Trilostane-induced inhibition of cortisol secretion results in reduced negative feedback at the hypothalamic-pituitary axis. *Domestic Animal Endocrinology* , 36 (1), 32-44.
- Teshima, T., Hara, Y., Taoda, t., Koyama, H., Takahashi, K., Nezu, Y., et al. (2008). Cushing's disease complicated with thrombosis in a dog. *The Journal of Veterinary Medical Science* , 70 (5), 487-491.
- Tizard, I. R. (2004). Drugs and Other Agents That Affect the Immune System. In I. R. Tizard, *Veterinary Immunology: An Introduction* (7<sup>a</sup> ed.). Philadelphia: Saunders.
- Vaessen, M. M., Kooistra, S., Mol, J. A., & Rijnberk, A. (2004). Urinary corticoid:creatinine ratios in healthy pet dogs after oral low-dose dexamethasone suppression tests. *Veterinary Record* , 155 (17), 518-521.
- Vaughan, M. A., Feldman, E. C., Hoar, B. R., & Nelson, i. W. (2008). Evaluation of twice-daily low dose trilostane treatment administered orally in dogs with natural occurring hyperadrenocorticism. *Journal of American Veterinary Medical Association* , 232 (9), 1321-1328.
- Vermeer, H., Hendriks-Stegeman, B., van Suylekom, D., Rijkers, G., van Bull-Offers, S., & Jansen, M. (2004). An in vitro bioassay to determine individual sensitivity to glucocorticoids: induction of FKBP51 mRNA in peripheral blood mononuclear cells [Abstract] . *Molecular and Cellular Endocrinology* , 218 (1-2), 49-55.
- Vlugt-Meijer, R. H., Voorhout, G., & Meij, B. P. (2002). Imaging of the pituitary gland in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Molecular and Cellular Endocrinology* , 197 (1-2), 81-87.
- Voorhout, G., Rijnberk, A., Sjollem, B., & van den Ingh, T. (1990). Nephrotomography and ultrasonography for the localization of hyperfunctioning adrenocortical tumors in dogs. *American Journal of Veterinary Research* , 51, 1280-1285.
- Wenger, M., Sieber-Ruckstuhl, N. S., Müller, C., & Reusch, C. E. (2004). Effect of trilostane on serum concentrations of aldosterone, cortisol, and potassium in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *American Journal of Veterinary Research* , 65 (9), 1245-1250.
- Willard, M., Tvedten, H., & Turnwald, G. (1999). *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods* (3<sup>a</sup> ed.). Philadelphia: W. B. Saunders.
- Witt, A., & Neiger, R. (2004). Adrenocorticotropic hormone levels in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism following trilostane therapy. *Veterinary Record* , 154 (13), 399-400.
- Wood, F. D., Pollard, R. E., Uerling, M. R., & Feldman, E. C. (2007). Diagnostic imaging findings and endocrine test results in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism that did or did not have neurologic abnormalities: 157 cases (1989-2005). *Journal of American Veterinary Medical Association* , 231 (7), 1081-1085.
- Yin, S. (2007). *Small Animal Veterinary notebook* (3<sup>a</sup> ed.). Paperback.

- Zerbe, C. A. (2000a). Differentiating tests to evaluate hyperadrenocorticism in dogs and cats. *Compendium on Continuing Education for the Practicing veterinarian* , 22 (2), 149-158.
- Zerbe, C. A. (1999). Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis and pathophysiology of hyperadrenocorticism. *Compendium On Continuing Education For The Practicing Veterarian* , 21 (12), 1134-1137.
- Zerbe, C. A. (2000b). Screening tests to diagnose hyperadrenocorticism in cats and dogs. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* , 22 (2), 17-31.
- Zwicker, K., Bain, P. J., Rakich, P. M., & Latimer, K. S. (2003). *Canine hyperadrenocorticism, Diabetes mellitus, or both?* Obtido em 15 de Novembro de 2010, de Veterinary Clinical Pathology Clerkship Program: <http://www.vet.uga.edu/vpp/clerk/Zwicker/>

# **ANEXOS**



# ANEXO 1 – POSTER APRESENTADO NO VI CONGRESSO HOSPITAL VETERINÁRIO MONTENEGRO – EMERGÊNCIAS VETERINÁRIAS



Dr. Joaquim Chaves  
LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS

## RUPTURA DE VESÍCULA BILIAR EM CANÍDEO UMA URGÊNCIA RARA

FERREIRA, D.; LEITÃO, N.; ALMEIDA, C.; PONTES, J.; BOM, R.; LEAL, R.



### 1. INTRODUÇÃO

A ruptura de vesícula biliar associada a colelitíase raramente ocorre no cão, não sendo clara a sua fisiopatologia. A formação de cálculos biliares, geralmente secundária a colestase e infecção, é acompanhada por alterações inflamatórias, aumento da produção de muco e fibrose da parede da vesícula biliar. A sintomatologia associada a ruptura de vesícula biliar é de instalação tardia, comportando esta condição um prognóstico reservado.<sup>1,2,3</sup>

### 2. CASO CLÍNICO

#### HISTÓRIA PREGRESSA

- Cadela Syberian Husky, ovariectomizada, de 14 anos;
- História de parésia dos posteriores, anorexia e vômito alimentar desde há 4 dias;
- Prostração severa e aguda desde há 4 horas.

#### EXAME CLÍNICO

- Animal em decúbito lateral;
- Choque hipovolémico severo (mucosas pálidas e secas, TRC aumentado);
- Temperatura de 39.1°C;
- Palpação abdominal: dolorosa, sinal de Murphy;
- Taquipneia e taquicárdia à auscultação;
- Pulso femoral bilateral fraco.

#### ESTABILIZAÇÃO DE URGÊNCIA

- Colóides: 10 ml/kg em bolus durante 10-20 minutos;
- Cristalóides: 60-90ml/kg com reajustes cada 15 minutos;
- Analgesia: Morfina a 0,2 mg/kg;

→ Posteriormente, a fim de uma melhor estabilização clínica, o animal foi hospitalizado:

- Continuação de Fluidoterapia em taxa variável (20ml/kg com reajustes em função dos parâmetros vitais do animal);
- Antibioterapia: Metronidazol 10mg/kg, Cefoxitina 40mg/kg;
- Analgesia: dada a fraca resposta do animal após incremento da dose de morfina, foi instaurado o protocolo MLK (Morfina 0,24mg/kg/h, Lidocaina 0,3mg/kg/h, Ketamina 0,6mg/kg/h).

#### DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS

- Pancreatite aguda
- Úlcera perfurante gástrica/intestinal
- Ruptura de bexiga
- Corpo estranho intestinal penetrante
- Ruptura de vesícula biliar

#### EXAMES COMPLEMENTARES

- **Hemograma:** Leucopenia com linfopenia, trombocitopenia ligeiras.
- **Perfil Bioquímico:** Aumento dos valores séricos de ureia [281 mg/dl (0-54)], creatinina [3,35 mg/dl (0,5-1,4)], fosfatase alcalina [1620 U/L (47-254)] e bilirrubina [2,74 mg/dl (0,1-0,6)].
- **Radiografia torácica:** Sem alterações evidentes.
- **Radiografia abdominal latero-lateral direita. (Figura 1):** Perda de detalhe abdominal generalizado, moderada dilatação gástrica.



Figura 1: Radiografia Abdominal evidenciando perda de detalhe abdominal

- **Ecografia abdominal (Quick Eco) (Figura 2):** líquido hipocogénico livre em todo o abdómen, peritónio e mesentério reactivos (aumento da ecogenicidade de ambos), não visualização da vesícula biliar, fígado normodimensionado, mas com diminuição difusa da ecogenicidade, ao nível do hilo do fígado aumento severo da ecogenicidade peri-portal.



Figura 2: Ecografia Abdominal



Figura 3: Líquido de derrame

- **Abdominocentese e análise do líquido de derrame (Figura 3):** cor amarelo vivo, densidade de 1.020, compatível com transudado modificado. Doseamento de bilirrubina de 5,38 mg/dl.

#### DIAGNÓSTICO

Tendo em conta os achados ecográficos e o valor aumentado da bilirrubina no líquido de derrame face aos valores séricos desta, a ruptura de vesícula biliar constituiu o principal diagnóstico tendo sido recomendada cirurgia.

#### LAPAROTOMIA EXPLORATÓRIA

- Após estabilização em 12 horas foi realizada a laparotomia exploratória;
- A anestesia foi induzida com Propofol e mantida com Sevoflurano;
- A celiotomia foi realizada pela linha média para uma melhor exposição da região abdominal cranial;



Figura 4: Vesícula biliar necrosada



Figura 5: Cálculo biliar retirado da vesícula

- Os sinais de peritonite química biliar eram exuberantes com reacção intensa da serosa intestinal, omento e restantes órgãos da cavidade abdominal;
- Foi observada ruptura e necrose extensa da parede da vesícula biliar com presença de um cálculo de 15 mm de diâmetro (Figuras 4 e 5);
- Durante a realização da colecistectomia o animal desenvolveu fibrilhação ventricular não responsiva à medicação e evolutiva para paragem cardio-respiratória, a qual foi irreversível;

- O cálculo biliar (Figura 6) foi enviado para análise, a qual revelou a presença maioritária de colesterol.



Figura 6: Cálculo biliar de colesterol

### 3. DISCUSSÃO

A ruptura da vesícula biliar é secundária a múltiplas causas decorrentes neste órgão. Devido a uma saturação da bilis com colesterol, o esvaziamento biliar é retardado, dando origem a estase e à consequente formação de cálculos. Em resposta a esta estase, a mucosa da vesícula biliar secreta uma quantidade excessiva de mucina, a qual pode causar uma obstrução do ducto cístico e posterior ruptura da vesícula biliar. A hipercolesterolemia pode ocorrer secundariamente a diversas doenças tais como hipotireoidismo, diabetes mellitus, hiperadrenocorticismo, obesidade, pancreatite ou insuficiência hepática.<sup>2,3</sup>

O cálculo biliar posteriormente identificado, não foi detectado à radiografia ou mesmo durante a ecografia abdominal. Tal facto pode ser atribuído a vários motivos, como à ausência de mineralização do cálculo e pobre contraste das estruturas adjacentes ou devido à presença de gás intestinal na ecografia.<sup>1</sup>

O diagnóstico da ruptura biliar é baseado principalmente na abdominocentese, que indica a presença de transudado modificado cuja concentração de bilirrubina é superior à sanguínea. O tratamento de eleição para a colelitíase é cirúrgico, sendo que nos casos de lesão severa da vesícula biliar opta-se por uma colecistectomia.<sup>1,2</sup> Entre os factores que influenciam o prognóstico desta patologia são determinantes a idade, o estado clínico pré-cirúrgico e o tempo decorrente até à cirurgia. No caso em estudo, a idade avançada, e o estado de choque (ainda que revertido) e o tempo necessário à estabilização foram desfavoráveis ao sucesso terapêutico.

### 4. CONCLUSÃO

A colelitíase é de muito baixa incidência nos cães, quando comparada com os humanos. Tal facto pode ser explicado pela baixa concentração de colesterol e elevada quantidade de componentes solubilizadores de colesterol na bilis canina quando comparada com a bilis humana. Também a presença de factores antinucleares que diminuem a precipitação de carbonato de cálcio na bilis canina, e a absorção do cálcio biliar pela parede da vesícula biliar previnem a formação de cálculos calcificados. Devido ao elevado conteúdo em ácido taurocólico da bilis canina, a peritonite biliar em cães é considerada de pior prognóstico que nos humanos. Com efeito, a ruptura de vesícula biliar nos cães comporta um prognóstico muito reservado, com a taxa de mortalidade a atingir os 90 a 100 por cento, sendo por isso de maior importância o rápido diagnóstico.<sup>1</sup>

Bibliografia: <sup>1</sup>Bromel C., et al (1998) Gallbladder perforation associated with cholelithiasis and cholecystitis in a dog. Journal of Small Animal Practice, 39, 541-544 (USA) 1998. <sup>2</sup>Ward, R. (2006) Obstructive cholelithiasis and cholecystitis in a Keeshond, The Canadian Veterinary Journal, 47 (11) 1119-1121 (Canada) 2006. <sup>3</sup>Nelson, Richard W., Couto, C. Guilherme. Medicina Interna de Pequenos Animais. Tradução da 3ª edição. Mosby, Philadelphia, 2006; pp. 521.

Agradecimentos: ao Laboratório Grupo Joaquim Chaves

### Complicações...

Podem ocorrer complicações graves associadas a este distúrbio se o animal não for tratado corretamente, tais como:

- ◆ Formação de cristais de oxalato de cálcio
- ◆ Diabetes Mellitus
- ◆ Tromboembolismo Pulmonar

### Cuidados a ter...

O tratamento médico é apenas uma parte do processo para se conseguir uma boa recuperação, sendo também necessário ter outros cuidados em casa por parte dos donos:

- ✓ Alimentação reduzida em ácidos gordos e restringir "guloseimas" (um animal com Síndrome de Cushing tem tendência para engordar)
- ✓ Ter água sempre à disposição
- ✓ Realizar uma boa higienização do local onde habita o animal e fazer as suas desparasitações (interna e externa), de acordo com o recomendado pelo médico veterinário (visto terem maior possibilidade de desenvolver infeções dermatológicas)

**Para mais informações,  
consulte o seu médico veterinário**

► HOSPITAL ESCOLAR F.M.V. - U.T.L.

Faculdade de Medicina Veterinária  
Avenida da Universidade Técnica  
Pólo Universitário da Ajuda  
1300 - 477 Lisboa

Tel.: +351 21 365 2893  
Fax: +351 21 365 2822



**Autoria**

Nuno Luís Bizarro Neves Leitão



**Colaboração**

Prof.ª Dra.ª Teresa Villa de Brito  
Dra.ª Joana Pontes  
Dr. Rodolfo Oliveira Leal

► HOSPITAL ESCOLAR F.M.V. - U.T.L.

Faculdade de Medicina Veterinária  
Avenida da Universidade Técnica  
Pólo Universitário da Ajuda  
1300 - 477 Lisboa

Tel.: +351 21 365 2893  
Fax: +351 21 365 2822



## O seu animal tem Síndrome de Cushing?

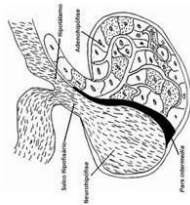


Tel.: +351 21 365 2833

## Síndrome de Cushing

Síndrome de Cushing,, também denominado Hiperadrenocorticismo, é o termo utilizado para definir um conjunto de alterações que podem ocorrer nos animais que sofrem de um aumento da produção de cortisol. Os nossos animais têm naturalmente cortisol no sangue e em todos os tecidos do seu corpo, que é produzido pelas Glândulas Adrenais ou também designadas Suprarenais.

A quantidade de cortisol é regulada pela hipófise anterior que produz uma hormona, ACTH, que vai aumentar a produção de glucocorticóides (cortisol) pelas Adrenais.



Em casos em que há um excesso de cortisol, as funções do organismo são afectadas, prejudicando a saúde do animal.

## As raças susceptíveis...

Há maior predisposição de raças como Caniche, Yorkshire Terrier, Beagle, Boston Terrier, Boxer, Pastor Alemão, Golden Retriever e Labrador Retriever, mas qualquer raça pode ser afectada. Surge geralmente em animais de meia-idade a geriátricos (idosos), mas não significa que um animal novo não possa vir a demonstrar a doença. Alguns autores referem a susceptibilidade maior das fêmeas, mas não há consenso entre todas as fontes.

## Sintomas...

Existem diversos sinais clínicos associados ao Síndrome de Cushing nos cães. Estes sinais surgem muito gradualmente, de tal forma que por vezes é interpretado pelos donos como comportamento normal do animal.

Podem ser mais fácil para os donos identificarem os seguintes sintomas:

- ⇒ Beber muita água (Polidipsia)
- ⇒ Urinar muito (Poliúria)
- ⇒ Comer muito (Polifagia)



⇒ Aparência de "barriga de pote" (obesidade, dilatação abdominal)



⇒ Alterações Dermatológicas

- \* Perda de pêlo bilateral (Alopécia)
- \* Pele muito fina
- \* Crescimento lento do pêlo
- \* Pontos negros/comedões e escurecimento da pele, observável principalmente no abdómen
- \* Infecções de pele recorrentes ou persistentes
- \* Deposição de cálcio na pele (Calcinose cutânea)



⇒ Relutância em saltar ou subir escadas, dificuldades em fazer exercício (Fraqueza muscular)



Podem ainda surgir outros sinais clínicos não tão perceptíveis como sendo: infertilidade/ausência de cio, atrofia testicular, arfar excessivo, hipertensão arterial, alterações sanguíneas

## Tratamento...

O tratamento vai depender da causa primária da doença e do estado clínico do seu animal quando apresentado à consulta. Quanto mais cedo for detectada a doença, melhor o prognóstico. Se verificar no seu animal os sintomas descritos, consulte o seu Médico Veterinário assistente para realizar o tratamento mais adequado.

ANEXO 3 – RESULTADOS DO ESTUDO 1, POR ANIMAL

**Tabela 1** – Caracterização da amostra, indicando os animais por letras

Animal	Raça	Gén.	Idade	PU/PD	PF	Prob. Derm.	Abd. Pend.	Atrof. Musc.	Disp.	Alt. Rep.
<b>A</b>	Boxer	Mi	7	+	+	+	+			
<b>B</b>	Schnauzer	Fc	7	+	+		+	+	+	
<b>C</b>	Caniche	Mi	11	+		+				+
<b>D</b>	Boxer	Mi	13			+	+			+
<b>E</b>	SRD	Fi	9	+		+		+		
<b>F</b>	Pastor Alemão	Mi	10	+		+		+		
<b>G</b>	Yorkshire	Mc	11	+		+	+			
<b>H</b>	SRD	Mi	10	+			+			
<b>I</b>	SRD	Fc	10				+		+	
<b>J</b>	Caniche	Fi	8	+	+	+	+			+
<b>K</b>	SRD	Fc	8	+	+		+	+		
<b>L</b>	Cocker Spaniel	Fi	14	+	+	+			+	
<b>M</b>	Jack Russel	Fc	10	+	+		+	+		
<b>N</b>	Chow-Chow	Mi	8	+	+	+	+			
<b>O</b>	SRD	Mi	15				+			
<b>P</b>	Caniche	Fi	8	+	+	+	+			+
<b>Q</b>	SRD	Mi	4	+			+			
<b>R</b>	Podengo	Mi	9	+	+	+	-			
<b>S</b>	Scotish Terrier	Mi	4			+	+			
<b>T</b>		Fc	9	+	+		+			

Legenda: SRD – Sem Raça Determinada; Gén – Género; Mi – Macho inteiro; Mc – Macho castrado; Fi – Fêmea inteira; Fc – Fêmea ovariectomizada; PU/PD – Poliúria/polidipsia; PF – Polifagia; Prob. Derm. – Problemas Dermatológicos; Abd. Pend. – Abdomén Pendular; Atrof. Musc. – Atrofia Muscular; Disp. – Dispneia; Alt. Rep. – Alterações Reprodutivas

**Tabela 2** – Resultados hematológicos dos 17 animais que realizaram hemograma.

	RBC X10 <sup>6</sup> /μ L	Hg g/dl	Ht %	Plq fl	WBC X10 <sup>3</sup> /μ L	Neutrófilo s /μL*	Linfócitos /μL	Eosinófilos /μL	Monócitos /μL
<b>I.R.</b>	5,5- 8,5	12- 18	37- 55	200- 500	6- 17	3000- 11500	1000- 4800	100- 1250	150- 1350
<b>A</b>	6,12	15,2	45,7	305	11,20	9968	784	224	224
<b>B</b>	6,17	14,4	43,4	312	7,54	6107	829	226	377
<b>C</b>	6,46	15,1	46,0	334	8,41	6896	1093	168	252
<b>D</b>	6,42	15,9	48,1	392	10,90	8720	436	327	1417
<b>E</b>	6,94	16,0	52,3	105	6,84	5882	684	0	274
<b>F</b>	5,05	11,0	33,4	447	17,90	14141	1074	537	2148
<b>G</b>	8,09	17,1	51,6	558	10,60	6890	2438	106	1166
<b>H</b>	6,31	14,3	44,5	133	8,59	6013	1289	86	1203
<b>K</b>	7,90	18,6	49,1	358	7,66	5515	1762	77	306
<b>L</b>	5,55	12,3	38,5	123	16,05	12038	2729	0	1284
<b>M</b>	7,04	15,8	47,8	247	16,20	12960	2106	324	810
<b>N</b>	8,62	18,3	57,0	342	8,47	6014	1609	0	847
<b>O</b>	6,91	16,1	49,9	323	9,64	7712	1735	0	193
<b>P</b>	7,09	16,1	49,8	274	16,20	13446	1944	324	486
<b>Q</b>	7,32	14,9	45,5	219	9,67	5995	2998	580	97
<b>R</b>	3,71	8,5	26,6	35	12,80	6784	5120	128	768
<b>S</b>	7,43	16,7	50,3	215	5,73	4294	974	115	344

Legenda: RBC (*Red Blood Cells*) – Eritrócitos; Ht - Hematócrito; Hg – Hemoglobina; Plq – Plaquetas sanguíneas; WBC (*White Blood Cells*) – Leucócitos; I.R. – Intervalo de referência; \* - considerados os neutrófilos segmentados; números assinalados a vermelho – aumentado; números assinalados a azul – diminuído

**Tabela 3** – Resultados das bioquímicas sanguíneas de cada animal.

	FAS UI/L*	ALT UI/L *	Gluc mg/dl	Col mg/dl	Creat mg/dl	BUN mg/d l	Na	K mml /l	Cl	D.urin
IR	47- 254	10- 100	70- 121	110- 320	0,5- 1,8	0- 54	144- 160	3,5- 5,8	109- 122	
A	896	81	91	313	0,50	20				-
B	5304	77	120	-	1,03	21	157	3,9	114	-
C	288	104	121	247	0,83	44	151	3,9	114	1040
D	4443	213	-	-	0,79	35	-	-	-	-
E	1143	153	119	378	0,64	27	-	-	-	-
F	295	117	77	182	0,51	20	151	4,1	116	-
G	2297	162	96	272	0,72	52	-	-	-	1035
H	696	57	-	260	0,50	20	-	5,4	-	1010
I	497	144	-	-	0,80	48	152	4,8	-	-
J	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K	815	52	-	-	0,82	40	-	-	-	1015
L	809	89	87	-	0,52	19	150	4,4	118	-
M	-	-	-	-	-	-	158	4,2	108	1015
N	102	44	115	143	0,64	20	-	-	-	1035
O	908	169	70	-	0,90	105	-	-	-	-
P	478	63	-	-	0,89	70	156	4,7	113	1015
Q		313	-	-	1,75	47				-
R	1143	176	-	-	1,17	80	152	4,2	115	-
S	260	102	-	157	0,54	-	-	-	-	-
T	210	46	73	-	0,85	82	-	-	-	-

Legenda: \* - doseadas a 37°C; I.R. – Intervalo de Referência; D.urinária – densidade urinária; números assinalados a vermelho – aumentado; números assinalados a azul – diminuído.

**Tabela 4** – Resultados dos testes funcionais endócrinos e da avaliação ecográfica das adrenais de cada animal

	Ecografia Abdominal Sonda 7,5MHz		TE-ACTH Cortisol µg/dL		TSDDB Cortisol µg/dL			Dx
	A esq.	A dta	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>0h</sub>	T <sub>4h</sub>	T <sub>8h</sub>	
A	↑	↑	4,30	36,70	-	-	-	HAC-HD
B	-	-	-	-	7,12	3,10	5,16	HAC-HD
C	n	n	-	-	2,44	1,16	3,55	HAC-HD
D	↑	↑	-	-	5,50	0,90	2,90	HAC-HD
E	↑	n	-	-	4,30	0,60	2,40	HAC-HD
F	↑	↑	2,31	19,27	-	-	-	HAC-HD
G	n	n	3,95	7,89	3,80	1,75	2,80	HAC-HD
H	n	n	4,92	26,05	-	-	-	HAC
I	n	n	5,37	22,21	-	-	-	HAC
J	↑	↑	4,89	73,58	-	-	-	HAC-HD
K	n	n	-	-	4,70	2,20	2,80	HAC-HD
L	↑	↑	5,94	27,46	-	-	-	HAC-HD
M	n	n	5,94	41,02	-	-	-	HAC
N	n	n	-	-	2,39	3,91	2,39	HAC
O	↑	n	-	-	8,48	6,38	5,14	HAC
P	↑	↑	10,83	31,49	-	-	-	HAC-HD
Q	n	n	7,34	20,86	-	-	-	HAC
R	↑	n	3,51	20,80	-	-	-	HAC
S	n	n			4,33	3,84	7,65	HAC
T	n	n	-	-	2,35	7,36	3,98	HAC

Legenda: A esq – Adrenal esquerda; A dta – Adrenal direita; Dx – Diagnóstico; ↑ - aumentado; n – normal; HAC-HD – Hiperadrenocorticismismo hipofiso-dependente; HAC-AD – Hiperadrenocorticismismo adreno-dependente. NOTA: Adrenais classificadas como aumentadas quando de espessura superior a 7,5mm.

ANEXO 4 – RESULTADOS DO ESTUDO 2, POR ANIMAL

**Tabela 1** – Peso, dose, frequência de administração e momento das monitorizações de cada animal, durante o tratamento com trilostano

Animal	Peso (kg)	Dose (mg/kg)	Quantidade (mg)	M <sub>1</sub> (dias)	M <sub>2</sub> (dias)	M <sub>3</sub> (dias)
C	4,1	1,95	8		47	100
D	31,6	1,9	60	20	47	150
E	24	1,25	30	15	45	103
F	38,1	1,57	60		30	103
G	6,7	4,48	30	15	38	119
K	27,7	2,17	60	10	40	127
L	13,2	2,27	30		42	100
M	8,3	2,05	17		35	119
N	31	3,87	120	14	38	137
P	13	2,31	30	12	42	90
Q	35,8	2,51	90	18	41	103
R	11,2	2,68	30		30	107
S	10,4	2,88	30	16		

Legenda: M<sub>1</sub> – Monitorização 1 (10-20 dias após o tratamento); M<sub>2</sub> – Monitorização 2 (30-47 dias após o tratamento); M<sub>3</sub> - Monitorização 3 (90-150 dias após o tratamento); Os espaços não preenchidos indicam a não monitorização do animal.



**Tabela 2 – Resultados das bioquímicas sanguíneas de cada animal antes do tratamento e durante as monitorizações**

	FAS 37°C (UI/L)				ALT 37°C (UI/L)				Creatinina (mg/dl)				Ureia (mg/dl)			
	Antes	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	Antes	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	Antes	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	Antes	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>
<b>C</b>	288		119	131	104		59	77	0,83		1,10	1,08	44		54	48
<b>D</b>	4443		1672	404	213			78	0,79	1,14	1,01	1,27	35	30	31	36
<b>E</b>	1143	688	825	766	153	101	116	107	0,64	1,00	1,00	1,00	27	28	19	30
<b>F</b>	295		219	146	117		26	10	0,51		0,60	0,50	20		9	8
<b>G</b>	2297	1600	409	4482	162	97	22	136	0,72	1,30	0,90	0,80	52	33	42	40
<b>K</b>	815	479	98	414	53	78		34	0,82	1,20	1,29	0,90	40	32	30	38
<b>L</b>	809		110	130	89			62	0,52			1,50	19			92
<b>M</b>	1419		1485	1345	80			216	0,60			0,96	20			44
<b>N</b>	102	162	89	75	44	32	27	23	0,64	0,82	0,84	0,88	20	30	42	25
<b>P</b>	478		109	99	63				0,89	1,40	1,30	1,16	105	48	52	81
<b>Q</b>					313	50			1,75	2,60		2,20	70	64		52
<b>R</b>	1143		194	122	176		30	110	1,17		1,40	1,80	47		80	168
<b>S</b>									0,54				80	30		
<b>I.R.</b>	47 - 254				10 - 100				0,5 - 1,8				0 - 54			

Legenda: M<sub>1</sub> – Monitorização 1 (10-20 dias após o tratamento); M<sub>2</sub> – Monitorização 2 (30-47 dias após o tratamento); M<sub>3</sub> - Monitorização 3 (90-150 dias após o tratamento); I.R. – Intervalo de referência; Números assinalados a vermelho indicam valores acima do intervalo de referência; os espaços não preenchidos significam o não doseamento do parâmetro;

**Tabela 3** – Alterações nos valores séricos de cortisol pré e pós-estimulação com ACTH de cada animal durante o tratamento

Cortisol sérico ( $\mu\text{g/dL}$ )								
Momento	Antes do tratamento		M <sub>1</sub>		M <sub>2</sub>		M <sub>3</sub>	
TE-ACTH	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>
C					2,32	3,41	2,79	4,57
D			5,91	8,26	4,10	7,16	1,01	1,85
E			0,69	3,80	1,90	8,80	0,62	3,00
F	2,31	19,37			2,53	8,36	0,93	2,42
G			3,30	2,20	5,36	5,77	6,10	7,66
K			1,67	3,12	5,69	7,72	4,52	6,62
L					4,38	8,99	4,33	13,10
M	5,94	41,02			8,41	15,47	5,70	8,88
N			1,30	1,70	5,22	10,00	0,40	0,20
P	10,83	31,49	6,64	10,57	3,22	4,18	1,78	2,03
Q	7,34	20,86	5,94	4,93	3,66	3,15	6,16	7,62
R	3,71	20,80			2,28	2,97	1,20	1,70
S	4,68	24,20	5,60	7,65				

*Intervalo de referência para manutenção da dose: 2 a 8 $\mu\text{g/dL}$*

Legenda: M<sub>1</sub> – Monitorização 1 (10-20 dias após o tratamento); M<sub>2</sub> – Monitorização 2 (30-47 dias após o tratamento); M<sub>3</sub> - Monitorização 3 (90-150 dias após o tratamento); os espaços não preenchidos significam o não doseamento do parâmetro.

**Tabela 4** – Alterações nos valores séricos de sódio e potássio de cada animal antes do tratamento e durante as monitorizações

Animal	Sódio (mmol/l)				Potássio (mmol/l)			
	T <sub>0</sub>	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	T <sub>0</sub>	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>
C	151		152	153	3,9		4,4	4,2
D		159		160		4,9		4,2
E		147	148			4,1	4,2	
F			154	156			5	4,9
G		153		157		4,1		4,1
K		153	150	156		3,8	4,2	4
L	150		152		4,4		5,3	
M	144		151	160	4,2		4,3	4,8
N						4,27	4,6	4,6
P	156	154	151	154	4,7	4,7	4,7	5
Q		152		153		4,9		4,2
R	152		156		4,2		4,7	
S		147				4,1		
I.R.	144 - 160				3,5 -5,8			

Legenda: T<sub>0</sub> – Antes do tratamento; M<sub>1</sub> – Monitorização 1 (10-20 dias após o tratamento); M<sub>2</sub> – Monitorização 2 (30-47 dias após o tratamento); M<sub>3</sub> - Monitorização 3 (90-150 dias após o tratamento); os espaços não preenchidos significam o não doseamento do parâmetro.

ANEXO 5 – PROTOCOLO DE TRATAMENTO COM TRILOSTANO

Nome do animal \_\_\_\_\_

Sexo \_\_\_\_\_ Raça \_\_\_\_\_ Data de nascimento \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Antes do tratamento: TE-ACTH: T<sub>0</sub> \_\_\_\_\_ T<sub>1</sub>: \_\_\_\_\_ FAS (UI/L) \_\_\_\_\_ (I-R.: \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_)

Dose inicial \_\_\_\_\_ (1,5 – 5,0 mg/kg/dia) Frequência \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Clínico \_\_\_\_\_

Dose anterior \_\_\_\_\_ Frequência \_\_\_\_\_

Sinais clínicos: melhorou  manteve  piorou  controlados? Não  / Sim

Efeitos adversos: ↓apetite  vômitos  diarreia  letargia  outros: \_\_\_\_\_

TE-ACTH: T<sub>0</sub> \_\_\_\_\_ T<sub>1</sub>: \_\_\_\_\_ (I.R.: 2,0 – 8,0 µg/dl) FAS (UI/L) \_\_\_\_\_ (I.R.: \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_)

Potássio (mml/l) \_\_\_\_\_ (I.R.: 3,5-5,8) Parar tratamento? Não  / Sim  : Duração \_\_\_\_\_

Nova dose? Não  / Sim  : \_\_\_\_\_ Frequência \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Clínico \_\_\_\_\_

Dose anterior \_\_\_\_\_ Frequência \_\_\_\_\_

Sinais clínicos: melhorou  manteve  piorou  controlados? Não  / Sim

Efeitos adversos: ↓apetite  vômitos  diarreia  letargia  outros: \_\_\_\_\_

TE-ACTH: T<sub>0</sub> \_\_\_\_\_ T<sub>1</sub>: \_\_\_\_\_ (I.R.: 2,0 – 8,0 µg/dl) FAS (UI/L) \_\_\_\_\_ (I.R.: \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_)

Potássio (mml/l) \_\_\_\_\_ (I.R.: 3,5-5,8) Parar tratamento? Não  / Sim  : Duração \_\_\_\_\_

Nova dose? Não  / Sim  : \_\_\_\_\_ Frequência \_\_\_\_\_