

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE CIÊNCIAS DA VIDA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

RAYANE SOL AMARAL SILVA SGARBOSSA

**AVALIAÇÃO DA DIMETILARGININA SIMÉTRICA (SDMA) EM CÃES COM
HIPERADRENOCORTICISMO ESPONTÂNEO**

**EVALUATION OF SYMMETRIC DIMETHYLARGININE (SDMA) IN DOGS
WITH SPONTANEOUS HYPERADRENOCORTICISM**

**Curitiba
2018**

RAYANE SOL AMARAL SILVA SGARBOSSA

**AVALIAÇÃO DA DIMETILARGININA SIMÉTRICA (SDMA) EM CÃES COM
HIPERADRENOCORTICISMO ESPONTÂNEO**

**EVALUATION OF SERUM SYMMETRIC DIMETHYLARGININE (SDMA) IN
DOGS WITH SPONTANEOUS HYPERADRENOCORTICISM**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, área de concentração Saúde, Tecnologia e Produção Animal, linha de Pesquisa Clínica e Cirurgia Veterinária, da Escola de Ciências da Vida da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Adj. III Dr. Marconi Rodrigues de Farias.

**Curitiba
2018**

TERMO DE APROVAÇÃO

(Responsabilidade da Secretaria do PPGCA)

(Entregue pela secretaria)

SUMÁRIO

Lista de tabelas.....	v
Lista de figuras	vi
Lista de gráficos.....	vii
Lista de anexos.....	viii
Lista de abreviaturas.....	ix
Agradecimentos.....	xii
FORMATO DA DISSERTAÇÃO	xiii
RESUMO GERAL.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
CAPÍTULO 1.....	1
1 HIPERADRENOCORTICISMO EM CÃES.....	1
1.1 Definição e Epidemiologia	1
1.2 Anatomofisiologia do eixo hipotalâmo-hipófise-adrenais.....	1
1.3 Etiopatogenia	2
1.4 Sinais Clínicos.....	3
1.5 Diagnóstico.....	6
1.5.1 Hemograma	7
1.5.2 Bioquímica Sérica	7
1.5.3 Urinálise e exame químico da urina	8
1.5.4 Testes Endócrinos	9
1.5.5 Testes de Imagem	10
1.6 Tratamento e Monitoramento	12
2 FUNÇÃO RENAL NO HIPERADRENOCORTICISMO EM CÃES ...	16
2.1 Dimetilarginina simétrica	19
CAPÍTULO 2.....	22
INTRODUÇÃO.....	23
MATERIAL E MÉTODOS	25
RESULTADOS	30
DISCUSSÃO.....	36
REFERÊNCIAS	41
CAPÍTULO 3.....	46
1. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	46
REFERÊNCIAS	47
ANEXOS.....	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dados demográficos dos cães do Grupo 1 (n=5), Grupo 2 (n=6) e Grupo 3 (n=7).....	29
Tabela 2: Médias (desvio padrão) dos exames laboratoriais dos cães hígidos (Grupo 1, n=5), cães com HAC não tratados (Grupo 2, n=6) e cães com HAC em tratamento com trilostano (Grupo 3, n=7).....	31
Tabela 3: Valores de coeficiente de correlação (ρ) de Spearman entre SDMA e creatinina, colesterol, DU, leucócitos totais sanguíneos, PAS, RPC urinária e triglicerídeos, e entre RPC urinária e colesterol, PAS e triglicerídeos dos cães do Grupo 1 (n=5), Grupo 2 (n=6) e Grupo 3 (n=7)	34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema representativo do eixo hipotálamo-hipófise-adrenais.....	2
Figura 2: Obesidade central e hipotricose em tronco, em um cão de 9 anos de idade com hiperadrenocorticismo ACTH-dependente.....	5
Figura 3: Alterações cutâneas do hiperadrenocorticismo em cães.	5
Figura 4: Exame ultrassonográfico abdominal evidenciando hiperplasia adrenocortical de glândula adrenal esquerda.....	11
Figura 5: Esquema representativo da esteroidogênese, destacando as enzimas inibidas pelo trilostano, 3 β -HSD, 11 β -hidroxilase e 11 β -HSD..	14

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Representação das concentrações médias, percentis de 25% e 75% e máximo e mínimo (extremidade das barras verticais) da dimetilarginina simétrica (SDMA) ($\mu\text{g/dL}$) dos cães do Grupos 1 (n=5), 2 (n=6) e 3 (n=7)..... 33

Gráfico 2: Correlação entre os valores medianos de SDMA sérica ($\mu\text{g/dL}$) e densidade urinária nos cães com hiperadrenocorticismos não tratados (Grupo 2, n=6)..... 35

Gráfico 3: Correlação entre os valores medianos de colesterol (mg/dL) e relação proteína creatinina (RPC) urinária considerando os cães do Grupo 1 (n=5), 2 (n=6) e 3 (n=7)..... 35

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Protocolo de Aprovação do Comitê de Ética para Uso de Animais em Pesquisa.....	59
Anexo 2: Normas para Publicação no Periódico Journal of Small Animal Practice.	61

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
ALT	Alanino aminotransferase
ANOVA	Análise de variância
CLM	Cromatografia líquida de massa
cm	Centímetros
CRH	Hormônio liberador de corticotrofina
CVE	Clínica Veterinária Escola
dL	Decilítros
DP	Desvio padrão
DRC	Doença renal crônica
DU	Densidade urinária
ECA	Enzima conversora de angiotensina
FA	Fosfatase alcalina
FSR	Fluxo sanguíneo renal
g	Gramas
HAC	Hiperadrenocorticismo
IRIS	Sociedade Internacional de Interesse Renal
ITU	Infecção do trato urinário
kg	Quilos
mg	Miligramas
MHZ	Megahertz
mL	Mililitro
mm	Milímetros
mm³	Milímetros ao cubo
mmHg	Milímetros de mercúrio
ON	Óxido nítrico
µg	Microgramas
p	Valor de P
PAS	Pressão arterial sistólica
PD	Polidipsia
PF	Polifagia

PP	Proteína plasmática
PUCPR	Pontifícia Universidade Católica do Paraná
r ou ρ	Coeficiente de correlação
RC:CU	Relação cortisol:creatinina urinária
RM	Ressonância magnética
RPC	Relação proteína:creatinina
SDMA	Dimetilarginina simétrica
SRAA	Sistema renina angiotensina aldosterona
TFG	Taxa de filtração glomerular
TC	Tomografia computadorizada
teACTH	Teste de estimulação com ACTH
TSBDD	Teste de supressão com baixa dose de dexametasona
UI	Unidades internacionais
vo	Via oral
3β-HSD	3 beta-hidroxiesteroide desidrogenase
11β-HSD	11 beta- hidroxiesteroide desidrogenase
°C	Graus Celsius
$\leq$	Menor ou igual
$\geq$	Maior ou igual

*“A consciência é meu guia.
A paz é meu abrigo.
A experiência é minha escola.
O obstáculo é minha lição.”
(Chico Xavier)*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, primeiramente, por ter me dado a vida e a oportunidade de exercer essa profissão maravilhosa, colocando pessoas incríveis ao longo da minha trajetória. Além dos animais, que por compaixão e amor à vida de cada um, me fazem querer ser uma melhor profissional a cada dia.

Aos meus pais, Mara e Eliezer, meus exemplos de garra e perseverança, que sempre estão presentes nas minhas conquistas e derrotas de cada dia. Sou grata pela maior riqueza que vocês poderiam me dar: minha educação e formação. Aos meus irmãos Cler e Charlie, e demais familiares Sandro e Inelore, e à família Sgarbossa - Claudir, Elizabete, Rafael e Gabriel, muito obrigada pelo incentivo, apoio e amor durante esta trajetória.

Ao meu esposo Maicon, que desde o primeiro dia da graduação está ao meu lado, amando e incentivando. Obrigada por compartilhar comigo todas as vitórias e amarguras do caminho que escolhi seguir e principalmente por acreditar nos meus sonhos. Sem dúvida alguma, você é o meu maior alicerce para que eu tenha chegado até aqui!

Às minhas amigas, Bruna Pacheco, Gisele Sechi, Alaide Lima e Mileine Mosca, obrigada pela amizade, conselhos, apoio e incentivo em todos os momentos na minha jornada em Curitiba.

À Pontifícia Universidade Católica, e todos professores, colaboradores, residentes, que me acolheram desde o período da residência até a finalização do mestrado, sou muito grata pela oportunidade de fazer parte desta família.

A todos que auxiliaram na execução deste projeto: alunas de PIBIC Andressa de Souza, Rafaela Muzzi e Vanessa Gmyterco, obrigada por me cativarem a seguir o caminho da docência; ao médico veterinário Juliano Dal Pizzol por todo o apoio na seleção dos animais; à Larissa Condas, que com zelo e paciência me orientou “estatisticamente” nos últimos meses; ao Laboratório *IDEXX Reference Laboratories* do Brasil, que disponibilizou gratuitamente as análises de SDMA do presente estudo.

E, especialmente aos meus mestres, Carolina Cavalcante e Marconi de Farias, que, com conhecimento e competência, carinho e atenção, acreditaram na minha capacidade profissional, me orientaram profissionalmente e pessoalmente, e me conduziram a essa vitória. Eternamente, obrigada!

FORMATO DA DISSERTAÇÃO

A presente dissertação é composta por capítulos.

O Capítulo 1 é composto por uma introdução e contextualização sobre o hiperadrenocorticismismo em cães, sobre a função renal em cães com essa endocrinopatia, bem como a importância da mensuração da dimetilarginina simétrica sérica nestes pacientes.

O Capítulo 2 trata-se do artigo científico completo, redigido a partir dos resultados obtidos no estudo, contendo as referências utilizadas e formatado nas normas do periódico Journal of Small Animal Practice.

O Capítulo 3 finaliza esta dissertação com considerações finais deste trabalho e sugestões para estudos futuros.

As referências do capítulo 1 encontram-se ao final da dissertação.

RESUMO GERAL

Hiperadrenocorticism (HAC) é uma doença caracterizada pela exposição crônica de cortisol sistêmico e que gera alterações vasculares, hemodinâmicas, glomerulares e tubulares que podem conduzir à complicações renais em cães. A dimetilarginina simétrica (SDMA) é uma molécula produzida no núcleo de todas as células e excretada primariamente via filtração glomerular, de tal modo, que é considerada um biomarcador precoce de alterações na taxa de filtração glomerular (TFG) e disfunção renal em cães. Demonstrou-se diminuição da TFG em cães com HAC após introdução de tratamento medicamentoso ou cirúrgico. Deste modo, o objetivo deste estudo foi avaliar a TFG através da mensuração da concentração sérica da SDMA em cães com HAC espontâneo não tratados e tratados com trilostano, uma ou duas vezes ao dia. Foi realizado estudo prospectivo, transversal e controlado com 13 cães com diagnóstico pregresso de HAC espontâneo e 5 cães hígidos, os quais foram divididos em três grupos: Grupo 1 (controle) composto por cinco cães hígidos; Grupo 2 composto por seis cães recém diagnosticados com HAC e não tratados; Grupo 3 composto por sete cães com HAC tratados com trilostano, uma ou duas vezes ao dia, há pelo menos cinco meses e bom controle da doença. Em todos os cães foram mensuradas as concentrações séricas da SDMA por imunoensaio enzimático validado, além da mensuração da densidade urinária (DU), da relação proteína creatinina urinária (RPC), pressão arterial sistólica (PAS) e parâmetros gerais de bioquímica sérica. As médias entre os grupos foram comparadas por ANOVA e as correlações entre as concentrações da SDMA sérica com as variáveis foram realizadas pela prova não paramétrica de Spearman, considerou-se nível de significância $p \leq 0,05$. Não foram observadas diferenças significativas entre as concentrações médias da SDMA sérica entre os grupos ($p \geq 0,05$), bem como entre os níveis da SDMA com as variáveis RPC e PAS nos cães com HAC. Nos cães com HAC recém diagnosticados e não tratados constatou-se a presença de proteinúria renal e correlação negativa significativa entre os valores medianos da SDMA sérica e DU. Os resultados do presente estudo sugerem que a diminuição da TFG está correlacionada com a inabilidade de concentração urinária em cães com HAC espontâneo não tratados e estes possuem proteinúria renal significante, porém não associada ao aumento das concentrações séricas da SDMA.

Palavras-chave: cortisol, doença renal, hipertensão, proteinúria.

ABSTRACT

Hyperadrenocorticism (HAC) is a disease characterized by chronic exposure to excess of systemic cortisol, which generates vascular, hemodynamic, glomerular and tubular changes that can lead to renal complications in dogs. Symmetrical dimethylarginine (SDMA) is a molecule produced in the nuclei of all cells and excreted primarily via glomerular filtration, so that it is considered an early biomarker of changes in glomerular filtration rate (GFR) and renal dysfunction in dogs. There was a decrease in GFR in dogs with HAC after introduction of medical or surgical treatment. The objective of this study was to evaluate GFR by measuring SDMA serum concentration in dogs with untreated spontaneous HAC and treated with trilostane once or twice daily. A prospective, cross-sectional and controlled study was carried out with 13 dogs with pre-diagnosis of spontaneous HAC and 5 healthy dogs, which were divided into three groups: Group 1 (control) composed of five healthy dogs; Group 2 composed of six untreated dogs newly diagnosed with HAC; Group 3 consists of seven dogs with HAC treated with trilostane once or twice a day for at least five months and good control of the disease. Serum concentrations of SDMA were measured in all dogs by validated enzyme immunoassay, in addition to urine specific gravity (USG), urine protein-to-creatinine ratio (UPC), systolic blood pressure (SBP), and general serum biochemistry parameters. ANOVA was used to compare the means between groups and Spearman's correlation was calculated between SDMA and variables, statistical significance was set at $p \leq 0.05$. SDMA concentration in dogs was not significantly different between groups ($p \geq 0,05$) as well as between SDMA levels with UPC and SBP variables in dogs with HAC. Renal proteinuria was observed in dogs with newly diagnosed and untreated HAC and there was a significant negative correlation between the mean values of serum SDMA and USG in this group. The results suggest that the decrease in GFR is correlated with the inability of urinary concentration in dogs with untreated spontaneous HAC and these dogs have significant renal proteinuria, but not associated to the increase of serum concentrations of SDMA.

Keywords: cortisol, kidney disease, hypertension, proteinuria.

CAPÍTULO 1

1 HIPERADRENOCORTICISMO EM CÃES

1.1 Definição e Epidemiologia

Hiperadrenocorticism (HAC) ou Síndrome de *Cushing* é uma doença caracterizada pela exposição crônica ao cortisol sistêmico, que gera alterações físicas e químicas em todos os sistemas orgânicos (Mélian et al., 2010).

O HAC é a endocrinopatia mais comum na rotina clínica veterinária de animais de companhia, sendo estimada uma prevalência de 0,3% da doença na população de cães do Reino Unido (O'Neill et al., 2016). Desenvolve-se mormente em animais de meia idade a idosos, geralmente acima de seis anos e não há predisposição de gênero (Kooistra e Galac, 2012; Bellumori et al., 2013). Algumas raças são citadas com maior predisposição para a doença, como Poodles, Boxers e Daschunds (Behrend, 2015; Lourenço et al., 2015), enquanto outros estudos identificaram uma prevalência semelhante do HAC em cães de raças puras e mistas (Bellumori et al., 2013).

1.2 Anatomofisiologia do eixo hipotálamo-hipófise-adrenais

Os hormônios esteroidais do córtex adrenal são derivados do colesterol, principalmente das lipoproteínas de baixa densidade, os quais são sintetizados rapidamente a partir da ativação de uma via dependente do eixo biológico entre hipotálamo, hipófise e glândulas adrenais (Behrend, 2015) (Figura 1).

O ciclo inicia-se pela secreção do hormônio liberador de corticotropina (CRH) pela porção anterior do hipotálamo, que estimula a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pela *pars distalis* da hipófise anterior (Mélian et al., 2010). Este estímulo é pulsátil e episódico em cães, em resposta a situações de estresse, como dor, trauma, hipoglicemia, hipóxia, entre outras (Behrend, 2015).

O ACTH desencadeia a síntese dos hormônios esteroidais na região cortical das glândulas adrenais, a partir da hidrólise do colesterol (Behrend, 2015). O córtex adrenal é dividido histologicamente em três camadas com diferentes funções, sendo que as porções mais internas, zona fasciculata e

1 reticular, possuem as enzimas envolvidas na biossíntese do cortisol e
2 hormônios sexuais. Já a porção mais externa, zona glomerulosa, é a
3 responsável pela produção da aldosterona (Mélian et al., 2010). Uma vez que a
4 concentração plasmática de cortisol se eleva, ocorre um feedback negativo e
5 inibição da liberação de CRH e ACTH (Behrend, 2015).

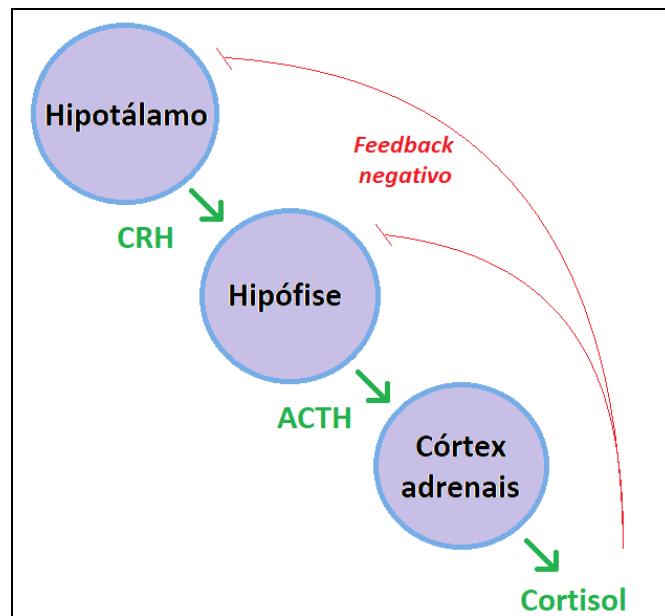


Figura 1: Esquema representativo do eixo hipotálamo-hipófise-adrenais. Fonte: Adaptado de Hypothalamic–pituitary–adrenal axis. Fonte: Wikipedia, 2012.

6 1.3 Etiopatogenia

7 Em cães as etiologias mais comuns do HAC de origem endógena e
8 espontânea são as neoplasias hipofisárias secretoras de ACTH (HAC ACTH-
9 dependentes), e as neoplasias funcionais de adrenal, secretoras autônomas de
10 cortisol (HAC ACTH-independente) (Mélian et al., 2010; Kooistra e Galac,
11 2012).

12 Em cerca de 80 a 85% dos cães, o HAC origina-se de tumores
13 hipofisários, principalmente adenomas da *pars distalis*, que pode ser
14 consequência de uma mutação somática de uma única célula ou menos
15 provavelmente do estímulo hipotalâmico excessivo (Castilho e Gallelli, 2010;
16 De Marco et al., 2017), o que leva à hipersecreção de ACTH, hiperplasia
17 adrenocortical e o excesso de cortisol. Assim, devido à hiperplasia ou à
18 neoplasia, o controle do feedback negativo não é efetivo (Behrend, 2015).

As neoplasias de adrenal estão presentes em 10 a 15% dos cães com HAC, dentre as quais os adenomas são as mais frequentes em 65% dos casos, seguidos dos carcinomas (De Marco et al., 2015b). Normalmente são unilaterais, solitárias e secretam cortisol de modo autônomo e independente do estímulo hipotalâmico-hipofisário, contudo, existem relatos de tumores bilaterais (Mélian et al., 2010). Nos casos unilaterais, ativa-se o feedback negativo e supressão do CRH e ACTH, que resulta na atrofia da adrenocortical contralateral (Kooistra e Galac, 2012).

1.4 Sinais Clínicos

A hipercortisolemia crônica provoca alterações físicas e bioquímicas em todos os sistemas orgânicos em decorrência dos efeitos gliconeogênicos, lipogênicos, catabólicos, imunossupressivos e anti-inflamatórios do cortisol (Mélian et al., 2010).

Atualmente os cães apresentam sinais clínicos mais discretos e sutis ao diagnóstico (Nagata et al., 2017) devido ao reconhecimento precoce por parte dos tutores e médicos veterinários, visto que a intensidade dos sinais está relacionada com os níveis de cortisol secretados (Behrend, 2015). Entretanto, cada animal apresenta uma sensibilidade individual à hipercortisolemia e esta correlação pode variar (Boretti et al., 2016). Os sinais clínicos mais comuns são poliúria, polidipsia, polifagia, distensão abdominal, alopecia atrófica, ofegância e fraqueza muscular (Kooistra e Galac, 2012; Behrend, 2015).

A síndrome poliúria (PU) e polidipsia (PD) consiste no diabetes insípido nefrogênico secundário, em que a hipercortisolemia inibe a liberação e ação da vasopressina nos túbulos coletores renais distais, o que resulta na depuração urinária maior que 50 mL/kg de peso corporal ao dia (Nelson, 2015). Além disso, ocorre aumento da taxa de filtração glomerular (TFG) que também contribui para a PU do HAC (Smets et al., 2012a). Para manutenção da osmolalidade extracelular e do volume intravascular do organismo, desenvolve-se PD compensatória, identificada pela ingestão de água maior que 100 mL/kg de peso corporal ao dia (Nelson, 2015).

1 Polifagia (PF) é outra característica clínica muito comum em cães com
2 HAC e embora o mecanismo não esteja completamente elucidado (Behrend,
3 2015), demonstrou-se haver efeito direto do cortisol sobre os neuropeptídeos
4 hipotalâmicos envolvidos com o apetite em ratos com hiperfagia estimulada por
5 glicocorticoides (Nakayama et al., 2011).

6 O excesso de cortisol desencadeia um importante catabolismo proteico
7 dos tecidos periféricos, como musculatura e pele, em prol da liberação de
8 aminoácidos para a gliconeogênese. Desta forma, atrofia muscular apendicular
9 é uma característica clínica comumente constatada em cães com HAC, os
10 quais podem apresentar fraqueza muscular, letargia, intolerância a exercícios e
11 até alterações osteoarticulares secundárias (Kooistra e Galac, 2012; Behrend,
12 2015).

13 A obesidade central também é outra característica clássica do HAC em
14 cães e ocorre por vários fatores, tanto pela atrofia da musculatura abdominal
15 em associação à hepatomegalia, quanto pela redistribuição e acúmulo de
16 gordura no mesentério e pela distensão da vesícula urinária (Nelson e Couto,
17 2010) (Figura 2). A hepatomegalia decorre do aumento dos hepatócitos, pelo
18 acúmulo de glicogênio em vacúolos nos hepatócitos ou pelo acúmulo de
19 lipídeos, que conduzem à hepatopatia esteroide e esteatose hepática,
20 respectivamente (Behrend, 2015).

21 Sinais dermatológicos também são frequentes e podem ser as únicas
22 manifestações clínicas do HAC em alguns casos (Zur e White, 2011). A
23 hipercortisolemia provoca anormalidades cutâneas na queratinização, inibição
24 da proliferação dos fibroblastos e produção do colágeno, atrofia da unidade
25 pilossebácea, mineralização distrófica e imunossupressão (Miller et al., 2013;
26 Outerbridge, 2013). Consequentemente são quadros comuns: hipotricose ou
27 alopecia simétrica bilateral no tronco, geralmente não inflamatória; hipotonia
28 cutânea e telangiectasia com predisposição à formação de estrias; flebectasia,
29 hematomas e má cicatrização de feridas; melanose tegumentar e discromia da
30 pelagem; disqueratose e comedões; calcinose cutânea que varia de placas
31 róseas a crostas firmes e ulceradas; infecções bacterianas e fúngicas

- 1 secundárias ou demodicose de início adulto, situações estas que podem ser
- 2 acompanhadas de prurido (Zur e White, 2011; Miller et al., 2013) (Figura 3).



Figura 2: Obesidade central e hipotricose em tronco, em um cão de 9 anos de idade com hiperadrenocorticismo ACTH-dependente. Fonte: Kooistra e Galac, 2010.



Figura 3: Alterações cutâneas do hiperadrenocorticismo em cães. A – Hipotonia e hipotricose cutânea; B – Flebectasia em abdômen (setas); C – Hipotricose, comedões e obesidade central; D – Comedões e milia (setas) em abdômen. Fonte: Miller et al., 2013

1 Ofegância pode desenvolver-se como consequência da mineralização
2 distrófica, diminuição da complacência e hipertensão pulmonar, além do
3 aumento da pressão no diafragma pelo acúmulo de gordura intra-abdominal,
4 em associação à fraqueza dos músculos envolvidos na respiração (Mélian et
5 al., 2010). Dispneia e angústia respiratória podem ocorrer na presença de
6 tromboembolismo pulmonar, que é uma complicação rara secundária à
7 hipercoagulabilidade do HAC (Pace et al., 2013).

8 Hipertensão arterial sistólica secundária ao HAC é reportada entre 46% a
9 86% dos cães (Ortega et al., 1996; Lien et al., 2010) e tem origem multifatorial,
10 como pelo efeito mineralocorticoide do cortisol, aumento da sensibilidade
11 periférica aos vasoconstritores e inibição da vasodilação promovida pelo
12 sistema do óxido nítrico (ON) (Goy-Thollot et al., 2002; Martínez et al., 2005).
13 Além disto, a hipersecreção de ACTH em cães com HAC ACTH-dependentes
14 pode conduzir a transformações na zona glomerulosa adrenal e diminuição dos
15 níveis de aldosterona (Javadi et al., 2003; Galac et al., 2010), sendo sugerida
16 relação com a ativação do sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA) e
17 hipertensão (Mélian et al., 2010). Conforme a duração e intensidade da
18 hipertensão, alguns animais podem desenvolver alterações hemodinâmicas
19 persistentes mesmo após o tratamento do HAC (Goy-Thollot et al., 2002;
20 Soares et al., 2016).

21 Alterações reprodutivas, como atrofia testicular ou anestro, bem como
22 sinais neurológicos do sistema nervoso central também são descritos em cães
23 com HAC, entretanto são raros (Behrend, 2015).

24 **1.5 Diagnóstico**

25 O diagnóstico presuntivo do HAC consiste na observação de sinais
26 clínicos e histórico compatíveis com a doença, em associação com alterações
27 laboratoriais sanguíneas, urinálise e exames de imagem (Kooistra e Galac,
28 2012). Entretanto, não existem anormalidades patognomônicas para a doença
29 e os resultados devem ser interpretados em contexto com os sinais clínicos e
30 histórico identificados (Behrend et al., 2013).

1.5.1 Hemograma

Neutrofilia e monocitose são comuns no HAC, pois a hipercortisolemia inibe a marginação capilar e a saída destas células da circulação. O cortisol promove a linfocitólise e linfopenia, bem como estimula o sequestro de eosinófilos na medula óssea e eosinopenia. Essas anormalidades caracterizam o denominado leucograma de estresse por corticoides (Mélian et al., 2010). Já o eritrograma pode revelar discreta eritrocitose e policitemia devido ao estímulo do cortisol sobre a medula óssea (Herrtage, 2009).

Trombocitose é identificada em cerca de 75 a 80% dos cães com HAC, e parece contribuir para a perpetuação dos coágulos formados e para a tendência à hipercoagulabilidade que existe nestes animais (Pace et al., 2013).

1.5.2 Bioquímica Sérica

A alteração bioquímica mais consistente com o HAC é o aumento da fosfatase alcalina (FA), presente em 85 a 95% dos cães, que decorre da ativação da isoenzima hepática induzida pelos glicocorticoides (Nelson e Couto, 2010). Aumento discreto na atividade da alanina aminotransferase (ALT) pode ocorrer devido ao quadro de hepatopatia esteroide, esteatose hepática e por alteração no fluxo sanguíneo hepático (Behrend, 2015).

Dislipidemia secundária ao HAC desenvolve-se em aproximadamente 90% dos casos, principalmente hipertrigliceridemia (Behrend, 2015). Isto é consequência da ativação da lipase hormônio-sensível, aumento da lipólise da gordura visceral e inativação da lipase lipoproteica induzidas pelo excesso de cortisol (Xenoulis e Steiner, 2010).

Hiperglicemia e diabetes melito também podem ser observados no HAC, em decorrência de inúmeros fatores que conduzem à hiperinsulinemia e resistência insulínica, como o acúmulo de gordura intra-abdominal, aumento de leptina sérica (Cho et al., 2014), e alterações no metabolismo dos lipídeos e carboidratos provocados pela hipercortisolemia, como a gliconeogênese (Miceli et al., 2012).

1 Outras alterações bioquímicas observadas em cães com HAC incluem
2 diminuição sérica da uréia e creatinina, secundária à PU (Behrend et al., 2013);
3 hiperfosfatemia, provavelmente associada à retenção renal de fosfato (Fracassi
4 et al., 2015b) e aumento discreto na concentração dos ácidos biliares (Behrend
5 et al., 2013).

6 **1.5.3 Urinálise e exame químico da urina**

7 A realização de uma urinálise é essencial em cães com HAC e possibilita
8 a avaliação da densidade urinária e identificação de infecção do trato urinário
9 (Chew et al., 2011). A densidade urinária pode revelar isostenúria ou
10 hipostenúria, principalmente devido à disfunção da vasopressina na porção
11 distal dos néfrons ocasionada pelo cortisol (Nelson, 2015), e normalmente é
12 menor que 1,015 em amostras coletadas aleatoriamente (Smets et al., 2012b).

13 Infecção do trato urinário (ITU) pode ser identificada pela análise do
14 sedimento e é uma complicação presente em cerca de 50% dos cães com HAC
15 recém diagnosticados, embora apenas 5% demonstrem sinais clínicos (Nelson
16 e Couto, 2010). Pode ocorrer secundária à PU e distensão vesical persistentes,
17 bem como pela imunossupressão sistêmica. Como estes animais são
18 predispostos à ITUs complicadas e recorrentes, sempre que possível devem
19 ser realizados urocultura quantitativa e testes de susceptibilidade na triagem
20 inicial (Weese et al., 2011; Wong et al.; 2015).

21 Além disto, a partir da análise química da urina é possível a detecção de
22 proteinúria, através da relação proteína creatinina (RPC) urinária (Chew et al.,
23 2011). Proteinúria ocorre em cerca de 60% dos cães com HAC (Fracassi et al.,
24 2015b) e normalmente tem característica leve à moderada, com RPC urinária
25 aproximada de 1,66 (Smets et al, 2012b). A etiologia não está totalmente
26 elucidada, mas sugere-se ser consequência do aumento da permeabilidade
27 glomerular e/ou por um defeito na reabsorção tubular da proteína filtrada
28 (Smets et al., 2012c; Caragelasco et al., 2017). Uma vez identificada
29 proteinúria renal é importante a interpretação em conjunto com a concentração
30 sérica de creatinina, porque a intensidade da perda proteica pode diminuir se
31 houver a progressão de uma doença renal concomitante (Grauer, 2011).

1.5.4 Testes Endócrinos

O diagnóstico definitivo do HAC consiste na identificação da hiperprodução de cortisol ou na diminuição da sensibilidade do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenais ao feedback negativo, através dos testes endócrinos (Kooistra e Galac, 2012).

De acordo com o último consenso do Colégio Americano de Medicina Interna Veterinária para o diagnóstico do HAC em cães (Behrend et al., 2013), os testes endócrinos devem ser indicados nos seguintes casos: a - presença de macrotumor hipofisário ou massa adrenal; b - diabetes melito resistente à insulina; c - hipertensão persistente e d - presença de pelo menos um dos sinais clínicos mais comuns (PU, PD, PF, obesidade central, ofegância, alopecia endócrina, hepatomegalia ou fraqueza muscular).

Os testes endócrinos mais recomendados para o diagnóstico do HAC disponíveis no Brasil incluem o teste de supressão com baixa dose de dexametasona (TSBDD) e o teste de estimulação com ACTH (teACTH). Entretanto, nenhum teste tem acurácia de 100% e resultados falso positivos e falso negativos podem ocorrer (Behrend et al., 2013). Quando os resultados são inesperados ou questionáveis, outro teste deve ser realizado ou o mesmo teste pode ser repetido após três a seis meses (Nelson e Couto, 2010; Behrend et al., 2013).

O TSBDD é a primeira abordagem recomendada devido à alta sensibilidade e especificidade para o diagnóstico do HAC em cães (Behrend, 2015). Consiste na mensuração do cortisol plasmático basal e após quatro, e oito horas da administração de 0,01 mg/kg de dexametasona por via intravenosa. Um resultado positivo condiz com a concentração de cortisol acima da referência do laboratório, após oito horas, indicando diminuição da sensibilidade do eixo ao feedback negativo (Kooistra e Galac, 2012; Behrend et al., 2013). Entretanto, em alguns animais com a doença pode ocorrer um padrão inverso de supressão, com a não supressão de cortisol após quatro horas e resultado normal após oito horas (Mueller et al., 2006).

O teACTH visa estimular ao máximo a reserva adrenocortical, sendo este o principal teste para identificar o HAC iatrogênico e para o monitoramento do tratamento, contudo, apresenta menor sensibilidade para o diagnóstico do HAC espontâneo do que o TSBDD (Behrend et al., 2013). Esse teste consiste na mensuração do cortisol plasmático basal e após uma hora da administração de 5 µg/kg de ACTH sintético de curta ação por via intravenosa (Aldridge et al., 2016) ou então na mensuração após duas a quatro horas da administração intramuscular de 5 µg/kg de ACTH sintético de depósito (Sieber-Ruckstuhl et al., 2015).

Uma vez confirmado o HAC, é de suma importância a diferenciação entre o HAC ACTH-dependente e independente, especialmente para o direcionamento do tratamento e prognóstico. Para tal, o teste mais indicado é a mensuração do ACTH endógeno para identificação da forma ACTH-dependente (Behrend, 2015). Entretanto, este é um teste que demanda de coleta e processamento específicos, o que dificulta a viabilidade na rotina.

Para diferenciação entre as etiologias do HAC, o TSBDD também pode ser utilizado e pode indicar a presença da forma ACTH-dependente quando é observada uma concentração de cortisol após quatro horas da dexametasona menor que o valor de referência, ou 50% menor que a concentração basal em ambos os horários (Behrend, et al., 2013).

1.5.5 Testes de Imagem

Exames complementares de imagem, como ultrassonografia, tomografia computadorizada (TC) e ressonância magnética (RM), também são úteis para auxiliar na diferenciação entre o HAC ACTH-dependente e independente, contudo não são indicados para diagnóstico da doença (Nelson e Couto, 2010; Behrend et al., 2013).

Exame radiográfico permite a identificação de mineralização de brônquios e interstício pulmonar, presença de metástase pulmonar e até a visualização de uma massa calcificada na região da glândula adrenal (Behrend et al., 2013).

O exame ultrassonográfico abdominal permite avaliação do formato, ecogenicidade e tamanho das glândulas adrenais, podendo ter uma especificidade de até 100% na detecção de lesões adrenais (Pagani et al., 2016), bem como permite observação de invasão tumoral adjacente (Kooistra e Galac, 2012).

O tamanho das glândulas adrenais pode ser dimensionado através da espessura máxima dorsoventral no polo caudal, em plano sagital na ultrassonografia, contudo, pode variar de acordo com o peso corporal do animal. Um estudo conduzido por Soulsby e colaboradores (2015) sugeriu as seguintes medidas para a espessura do polo caudal em cães saudáveis: $\leq 0,54$ cm em cães até 10 kg; $\leq 0,68$ cm em cães entre 10 e 30 kg; $\leq 0,80$ cm em cães maiores que 30 kg. Enquanto outro estudo realizado em cães com doenças não-adrenais sugeriu que a espessura máxima do polo caudal em cães de até 12 kg deve ser menor que 0,62 cm, e em cães maiores de 12 kg deve ser menor que 0,72 cm (Bento et al., 2016).

Aumento bilateral simétrico das glândulas adrenais ocorre no HAC ACTH-dependente, que se tornam mais arredondadas e espessas, embora tamanho normal e discreta assimetria também possam ocorrer (Behrend et al., 2013) (Figura 4).



Figura 4: Exame ultrassonográfico abdominal evidenciando hiperplasia adrenocortical de glândula adrenal esquerda. Fonte: Pagani et al., 2016.

Já no HAC ACTH-independente comumente observa-se assimetria entre as glândulas, decorrente de tumor adrenal e atrofia da contralateral. Nodulações menores que 20 milímetros (mm) são sugestivas de hiperplasia ou adenomas adrenocorticais, enquanto massas irregulares maiores que 20 mm, associadas ou não à invasão vascular, são altamente indicativas de malignidade (Pagani et al., 2016). Porém, a identificação de alterações na forma, ecogenicidade e focos de mineralização no parênquima adrenal não permitem a diferenciação entre adenomas e carcinomas (Behrend, 2015; Pagani et al., 2016).

Doença colestática também pode ser identificada através da ultrassonografia abdominal, como a presença de lama biliar, colélitos e/ou mucocoele, e são complicações comuns do HAC em cães (Cook et al., 2016). Estas alterações podem estar relacionadas com a gravidade da hipercortisolemia e hipercolesterolemia do HAC, bem como com fatores genéticos e raciais (Kim et al., 2017).

Exames avançados de imagem como RM e TC são mais sensíveis para avaliação da forma e textura tecidual, e a avaliação contrastada de hipófise sempre deve ser indicada na suspeita de HAC ACTH-dependente, com o objetivo de elucidar sobre possibilidades de tratamento e prognóstico (Kooistra e Galac, 2012). Além disto, estes exames possibilitam a detecção de invasão do tumor adrenal nos vasos adjacentes e metástases, sendo essenciais para o planejamento da adrenalectomia (Mélian et al., 2010; Behrend et al., 2013).

1.6 Tratamento e Monitoramento

A escolha do tratamento depende de alguns fatores como a origem e gravidade do HAC e a presença de metástase ou doenças concomitantes, bem como das opções disponíveis e disponibilidade do tutor (Mélian et al., 2010). Para ambas as formas, ACTH-dependente e independente, existem alternativas terapêuticas médicas e cirúrgicas, cujo intuito é reduzir os níveis sanguíneos de cortisol e consequentemente os sinais clínicos, melhorando a qualidade de vida do animal e do tutor (De Marco, 2015a).

1 Terapia medicamentosa é a principal opção disponível para os casos de
2 HAC ACTH-dependentes no Brasil, isso porque a remoção cirúrgica do tumor
3 hipofisário é viável apenas na Europa e em alguns poucos centros nos Estados
4 Unidos (Behrend, 2015; De Marco, 2015a). No entanto, o tratamento
5 medicamentoso não obtém cura, mas representa melhor prognóstico e
6 sobrevida em relação a nenhum tratamento (Nagata et al., 2017).

7 Atualmente, os principais medicamentos utilizados para o tratamento do
8 HAC são o mitotano e o trilostano. O mitotano é um fármaco citotóxico
9 adrenocortical, que provoca necrose ou atrofia da camada fasciculata e
10 reticular, amplamente utilizado nos últimos anos para o tratamento do HAC
11 (Zini e Berlanda, 2018). Esse medicamento apresenta boa eficácia e boa
12 resposta clínica para o tratamento do HAC ACTH-dependente (Reine, 2012),
13 entretanto, apresenta alto índice de efeitos colaterais decorrentes de
14 hipocortisolemia, como náusea, vômito, diarreia, anorexia, fraqueza e até crise
15 Addisoniana (Behrend, 2015; Galac, 2015).

16 O protocolo recomendado com mitotano compreende duas fases, uma
17 fase inicial de indução e uma fase de manutenção. Na fase de indução, a dose
18 do mitotano é de 30 a 50 mg/kg ao dia, dividida em duas administrações por via
19 oral, junto ao alimento, até o tutor observar diminuição da sede, apetite ou
20 efeitos colaterais (Behrend, 2015; Zini e Berlanda, 2018). Em seguida, deve-se
21 realizar um teACTH com ACTH sintético de curta ação, na dose de 5 µg/kg por
22 via intravenosa, embora, doses mais baixas de 1 µg/kg por via intravenosa
23 também tenham sido eficazes para o monitoramento destes pacientes (Aldridge
24 et al., 2016; Martins e Jericó, 2017).

25 Durante a fase de manutenção, o mitotano deve ser indicado na dose de
26 25 a 50 mg/kg por semana, dividida em várias administrações, iniciadas a partir
27 da observação do cortisol entre 1 e 5 µg/dL no teACTH, em associação à
28 melhora dos sinais clínicos, e deve ser mantida durante toda a vida do animal
29 (Behrend, 2015). O monitoramento com o teACTH deve ser realizado após um
30 mês do ajuste de cada dose e em seguida a cada três a seis meses,
31 juntamente com exames bioquímicos complementares (Zini e Berlanda, 2018).

Para os casos de HAC ACTH-independentes, a adrenalectomia é a opção terapêutica recomendada, exceto na presença de metástases ou animais em condições debilitantes, para os quais o tratamento medicamentoso também é recomendado (Zini e Berlanda, 2018). Nestas situações, o mitotano pode ser utilizado com o objetivo de destruir as células tumorais adrenais. Porém, como já foi demonstrado que o tempo de sobrevida é semelhante tanto com o uso do mitotano quanto com o trilostano, recomenda-se o trilostano devido à menor incidência de efeitos colaterais (Arenas et al., 2014; Galac, 2015).

O trilostano é um esteroide sintético, altamente eficaz em suprimir a secreção do cortisol através da inibição competitiva reversível de enzimas envolvidas na esteroidogênese, principalmente da 3 β -hidroxisteroide desidrogenase (3 β -HSD) (Ramsey, 2010; King e Morton, 2017) (Figura 5). Atualmente, é o fármaco mais utilizado em cães com HAC devido à boa eficácia e menor incidência de efeitos colaterais em comparação ao mitotano (Cho et al., 2013; Galac, 2015).

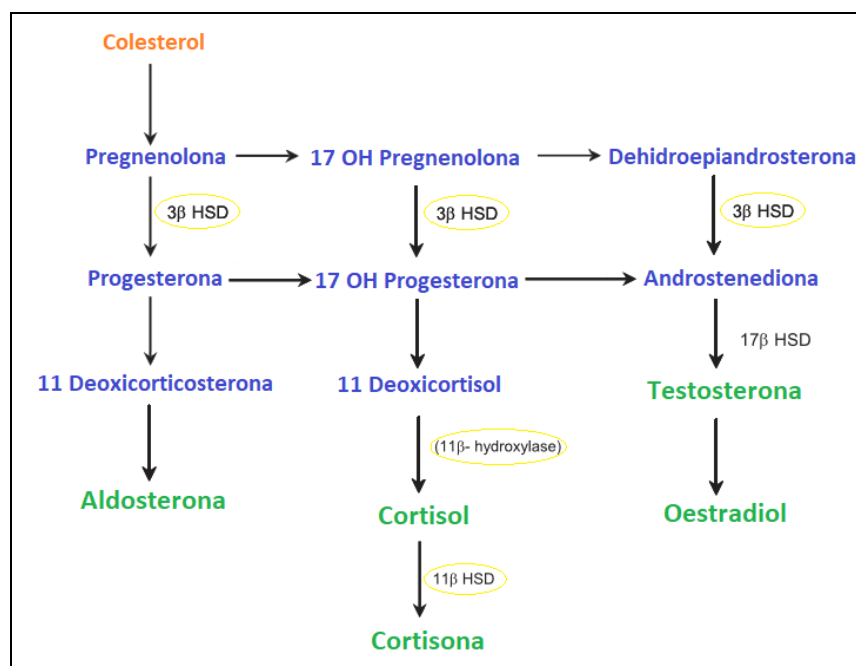


Figura 5: Esquema representativo da esteroidogênese, destacando as enzimas inibidas pelo trilostano, 3 β -HSD, 11 β -hidroxilase e 11 β -HSD. Fonte: Adaptado de Ramsey et al., 2010.

1 A dose inicial de trilostano recomendada atualmente é de 2 mg/kg uma
2 vez ao dia ou preferencialmente 1 mg/kg duas vezes ao dia, sempre junto ao
3 alimento para melhor absorção (Behrend, 2015). Ambos os protocolos são
4 eficazes, mas a administração de doses mais baixas de trilostano, duas vezes
5 ao dia, demonstrou melhor controle dos sinais clínicos (Arenas et al., 2013;
6 Cho et al., 2013; Midence et al., 2015; Boretti et al., 2016).

7 O monitoramento do tratamento também pode ser realizado com o
8 teACTH, conforme descrito acima para o mitotano. O primeiro teACTH deve ser
9 realizado após 10 a 14 dias do início do trilostano ou na presença de efeitos
10 colaterais. A amostra deve ser coletada entre quatro e seis horas após a
11 administração do trilostano por via oral (Behrend, 2015; Aldridge et al., 2016),
12 embora, alguns estudos sugerem entre duas e quatro horas (Bonadio et al.,
13 2014; Griebisch et al., 2014). De qualquer forma, é importante salientar que seja
14 realizado sempre no mesmo horário (Bonadio et al., 2014). A mensuração
15 isolada do cortisol basal não é indicada para o monitoramento nestes casos
16 (Burkhardt et al., 2013; Woolcock et al., 2016).

17 Obtem-se bom controle terapêutico com o cortisol entre 1 e 5 µg/dL, antes
18 e após o ACTH, entretanto, concentrações aproximadas de 9 µg/dL podem ser
19 toleradas se houver bom controle dos sinais clínicos (Behrend, 2015). Caso
20 necessário, a dose pode ser alterada em 25% em cada ajuste e o teACTH deve
21 ser realizado a cada duas semanas, até obtenção do resultado ideal esperado.

22 De modo geral, os sinais clínicos metabólicos melhoram nas primeiras
23 semanas de tratamento, enquanto alguns sinais dermatológicos podem
24 demorar até três meses (Zur e White, 2011; Reine, 2012). Uma vez atingido
25 bom controle clínico e laboratorial da doença, o monitoramento deve ser
26 repetido em 30 e 90 dias, e em seguida a cada três meses (Behrend, 2015),
27 pois alguns animais com excesso de supressão adrenocortical não apresentam
28 sinais de hipocortisolemia (Woolcock et al., 2016).

29 Cerca de 15% a 40% dos cães tratados com trilostano desenvolvem
30 efeitos adversos de hipoadrenocorticism, como hiporexia, fraqueza, letargia,
31 vômito e diarreia (Arenas et al., 2013; King e Morton, 2017). Esse quadro pode

ser consequência de necrose adrenocortical estimulada por alta concentração de ACTH, como demonstrado em ratos (Burkhardt et al., 2011) e sugerido em cães tratados com trilostano (Galac et al., 2010); ou por interferência no sistema enzimático 3 β -HSD e em toda via de produção da aldosterona, embora os níveis de eletrólitos nem sempre estejam alterados (Griebsch et al., 2014).

O tempo de sobrevida em cães com HAC ACTH-dependente tratados com mitotano ou trilostano parece ser similar (Reine, 2012). Identificou-se sobrevida média de 852 dias com o uso do trilostano nestes casos, sendo que os animais mais idosos e com altos níveis séricos de fosfato no momento do diagnóstico do HAC apresentaram menor expectativa de vida (Fracassi et al., 2015a). Embora a patogenia dessa hiperfosfatemia ainda não esteja compreendida, sugere-se relação com menor excreção renal de fosfato (Fracassi et al., 2015b).

2 FUNÇÃO RENAL NO HIPERADRENOCORTICISMO EM CÃES

Os glicocorticoides são essenciais para a manutenção do fluxo sanguíneo renal (FSR) e da TFG, porém, ainda são controversos os efeitos provocados na vasculatura glomerular de cães (Novellas et al., 2008; Smets et al., 2010). Sistemicamente, a exposição crônica aos glicocorticoides desencadeia alterações hemodinâmicas que conduzem à vasoconstrição e hipertensão, como o aumento da reatividade aos vasoconstritores e catecolaminas (Martínez et al., 2005) e inibição da vasodilatação promovida pelo sistema do ON (Smets et al., 2010).

Em contrapartida, nos rins sabe-se que os glicocorticoides promovem aumento do FSR e da TFG (Denton et al., 2001; Kubota et al., 2001). Essas características são reconhecidas em cães com HAC, e têm relação com a proteinúria e eventualmente glomeruloesclerose nestes indivíduos (Smets et al., 2012a; Smets et al., 2012b).

Um mecanismo sugerido para o aumento da TFG refere-se ao efeito catabólico do cortisol, que resulta no aumento da concentração plasmática de aminoácidos e consequentemente no FSR (Smets et al., 2010). Ainda, os glicocorticoides podem suprimir a atividade da enzima conversora da angiotensina (ECA) no córtex renal e atenuar a ação da angiotensina II, que

1 pode conduzir à diminuição da resistência vascular e vasodilatação renal
2 (Kubota et al., 2001).

3 A hipertensão sistêmica é outra característica que contribui para o
4 aumento da TFG e promove alterações hemodinâmicas importantes de acordo
5 com o grau e cronicidade, como o aumento da pressão e dano intraglomerular,
6 que conduzem à proteinúria e deterioração da função renal (Brown et al., 2007;
7 Schellenberg et al., 2008; Lien et al., 2010; Reusch et al., 2010). Deste modo,
8 por meio de inúmeros mecanismos vasculares, hemodinâmicos, glomerulares e
9 tubulares os cães com HAC podem ser mais predispostos a complicações
10 renais (Smets et al., 2012a).

11 Proteinúria renal é uma consequência comumente observada frente à
12 exposição aos glicocorticoides e é sugerida sua associação com hipertensão
13 arterial sistêmica, apresentando relação direta entre causa e efeito nos cães
14 com HAC (Schellenberg et al., 2008; Harley e Langston, 2012). Por outro lado,
15 muitos estudos não evidenciaram correlação entre microalbuminúria,
16 albuminúria e hipertensão arterial sistêmica em cães com HAC (Lien et al.,
17 2010; Cavalcante et al., 2013; Chen et al., 2016).

18 Sugere-se que a proteinúria renal do HAC pode ser consequência do
19 aumento da permeabilidade glomerular e/ou também por um defeito na
20 reabsorção tubular da proteína filtrada (Smets et al., 2012c). De fato,
21 demonstrou-se predomínio de proteínas de baixo peso molecular na urina de
22 cães com HAC, indicativo de lesão tubular proximal (Caragelasco et al., 2017).
23 Além disso, albuminúria também foi relacionada a distúrbios no metabolismo
24 dos lipídeos em pessoas com HAC (Koh et al., 2000), devido à
25 hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia, que também são fatores
26 independentes para incitação de doença renal em humanos devido à
27 nefrotoxicidade lipídica (Gyebi et al., 2012).

28 A proteinúria pode predispor à glomeruloesclerose, inflamação intersticial
29 e fibrose tubular renal, contribuindo para o desenvolvimento ou perpetuação da
30 doença renal (Harley e Langston, 2012, Smets et al., 2012a). Somado a isso,
31 sabe-se que quanto maior a magnitude da proteinúria, maior o risco de
32 progressão da doença renal e da mortalidade em cães e gatos (Grauer, 2011).

1 Cerca de 38% dos cães com HAC permanecem proteinúricos mesmo
2 após tratamento medicamentoso ou cirúrgico (Smets et al., 2012b; Caragelasco
3 et al., 2017). Entretanto, não foi demonstrada relação entre proteinúria,
4 hipertensão e menor tempo de sobrevida em uma população de cães com HAC
5 ACTH-dependente tratados com trilostano (Fracassi et al., 2015a).

6 A sobrecarga compensatória na TFG e na função dos túbulos renais
7 predispõe à perpetuação das lesões tubulointersticiais, fibrose e a perda de
8 néfrons (Grauer, 2011). De acordo com o tempo de exposição à
9 hipercortisolemia e evolução do HAC em humanos, observou-se diminuição na
10 TFG e maior risco para complicações renais durante a progressão da doença
11 (Haentjens et al., 2005).

12 São escassos os estudos longitudinais que avaliaram a TFG em cães com
13 HAC espontâneo, e parece haver diminuição nesta taxa após introdução de
14 tratamento medicamentoso ou cirúrgico (Smets et al., 2012b; Marynissen et al.,
15 2016). Embora nenhum destes animais tenha desenvolvido azotemia durante o
16 período avaliado, a alteração resultante na TFG deve alertar para uma possível
17 insuficiência renal nestes cães no futuro (Smets et al., 2012b).

18 Deste modo, deve-se ressaltar a importância de detectar esses fatores de
19 risco nos cães com HAC, bem como a detecção precoce de disfunção renal, a
20 fim de buscar medidas preventivas e de controle destas alterações (Haentjens
21 et al., 2005).

22 A avaliação quantitativa da excreção renal, por meio da mensuração
23 direta da TFG é o principal teste para dimensionar a massa renal funcional do
24 qual existem vários métodos validados para cães e gatos (Heine e Lefebvre,
25 2013; Hokamp e Nabity, 2016). Entre eles, a mensuração da concentração
26 sérica da creatinina é o teste mais amplamente utilizado na prática clínica
27 veterinária.

28 A mensuração da creatinina sérica avalia indiretamente a TFG e é
29 utilizada para diagnóstico e estadiamento da doença renal crônica (DRC) em
30 cães e gatos (Elliott e Watson, 2016; Hokamp e Nabity, 2016). Entretanto, este
31 teste tem baixa sensibilidade para detecção de alterações precoces e somente

se altera quando 75% da massa renal funcional está comprometida (Pressler, 2013). Além disso, a creatinina sérica sofre interferências de acordo com a massa muscular corporal, idade e nível de hidratação corporal (Hall et al., 2015).

Outros marcadores alternativos da TFG incluem a avaliação da depuração urinária da inulina, depuração plasmática do iohexol, concentração sérica da cistatina C e de moléculas radiomarcadas, no entanto, são testes complicados e com várias limitações (Pressler, 2013; Hokamp e Nabity, 2016). Deste modo, são necessários biomarcadores renais endógenos mais sensíveis e específicos para avaliação da TFG e muitos estudos estão focados nesta investigação (Relford et al., 2016).

Recentemente, a Sociedade Internacional de Interesse Renal (IRIS) incluiu a mensuração da dimetilarginina simétrica (SDMA) no protocolo de estadiamento e monitoramento da DRC de cães e gatos, visto que também avalia indiretamente a TFG e pode detectar precocemente uma disfunção renal (Elliott e Watson, 2016; Relford et al., 2016). Embora existam poucos estudos que avaliaram a SDMA sérica em doenças não renais em cães e gatos, a sua mensuração pode ser promissora na rotina clínica veterinária e endócrina (Langhorn et al., 2018; Peterson et al., 2018).

2.1 Dimetilarginina simétrica

As dimetilargininas, dimetilarginina assimétrica (ADMA) e SDMA, são moléculas produzidas no núcleo de todas as células, a partir da modificação pós-translacional e metilação dos resíduos de arginina de várias proteínas envolvidas no metabolismo celular básico, e subsequente proteólise (Schwedhelm e Böger, 2011). A ADMA é ligada a proteínas plasmáticas e transportada para vários órgãos, onde sofre degradação enzimática, e pequena porção é excretada via renal. Em contrapartida, cerca de 90% da SDMA é excretada através de livre filtração glomerular, visto que não é ligada às proteínas plasmáticas e tem baixo peso molecular e carga positiva, além disto, não sofre reabsorção ou secreção tubular, características que a tornam um biomarcador relevante da função renal (Relford et al., 2016).

1 Estudos conduzidos em cães e gatos identificaram a relevância do uso da
2 SDMA sérica como biomarcador da função renal endógena, através da
3 avaliação da TFG, visto que tende a aumentar no sangue de pacientes com
4 disfunção renal e possibilita a detecção precoce de alterações na TFG (Braff et
5 al., 2014; Hall et al., 2014; Brown, 2015; Hall et al., 2016). Em estudo realizado
6 com cães portadores de nefropatia hereditária ligada ao cromossomo X,
7 demonstrou-se que os níveis da SDMA aumentam durante a progressão da
8 forma pré-clínica até o estágio final da doença renal, com boa correlação com o
9 aumento da creatinina e diminuição da TFG (Nabity et al., 2015).

10 Estudos demonstram que um valor de corte da SDMA de 14 µg/dL
11 identifica em média uma redução de 49% da TFG de cães, numa média de 9.8
12 meses (variação de 2.2 a 27 meses) antes do aumento sérico da creatinina
13 (Hall et al., 2016). Da mesma forma, observou-se o aumento deste
14 biomarcador em gatos cerca de 17 meses antes da elevação da creatinina
15 (variação de 1.5 a 48 meses) (Hall et al., 2014). Assim, a mensuração da
16 SDMA permite a detecção mais precoce de alteração na TFG em relação à
17 creatinina sérica, em animais com DRC.

18 A SDMA não sofre interferência de acordo com a dieta, e da massa
19 corporal magra como acontece com a creatinina sérica em cães (Hall et al.,
20 2015), bem como é menos afetada pelo nível de desidratação corporal, em
21 comparação à creatinina (Guess, 2016). Além disso, a avaliação da TFG pode
22 ajudar a avaliação da função renal de animais com PU e PD, bem como no
23 esclarecimento das imprecisões e variações não-renais associadas com a
24 mensuração da creatinina (Relford et al., 2016).

25 Além da relação com a TFG, muitos estudos vêm investigando o papel
26 patofisiológico da SDMA no desenvolvimento de complicações sistêmicas.
27 Inicialmente, acreditava-se que a SDMA não representava um fator patológico,
28 de tal modo que o foco foi direcionado para o papel do acúmulo da ADMA, visto
29 que essa inibe a enzima óxido nítrico sintase e está associada com maior risco
30 de doenças cardiovasculares, hipertensão e mortalidade (Schwedhelm e
31 Böger, 2011; Tain e Hsu, 2017). Entretanto, recentemente demonstrou-se que
32 a SDMA prediz de forma mais consistente a progressão da DRC e eventos

1 cardiovasculares do que a ADMA (Emrich et al., 2017). No caso, a SDMA
2 também inibe o sistema do ON, a partir da competição com a L-arginina,
3 predispondo à inflamação vascular, aumento da resistência vascular e
4 diminuição da perfusão renal (Emrich et al., 2017; Tain e Hsu, 2017).

5 São escassos na literatura estudos que avaliaram a SDMA em cães com
6 HAC e deste modo, o objetivo do presente estudo consistiu na avaliação da
7 SDMA sérica em cães com HAC espontâneo não tratados e tratados com
8 trilostano há pelo menos cinco meses. Uma vez que esses cães comumente
9 apresentam fatores de riscos para incitação e progressão da doença renal (Del
10 Palácio, 2013) e alguns estudos demonstraram uma diminuição da TFG após
11 início do tratamento com trilostano (Smets et al., 2012b; Marynissen et al.,
12 2016), a hipótese do presente estudo foi de que cães tratados e com bom
13 controle terapêutico do HAC poderiam apresentar aumento nas concentrações
14 séricas da SDMA, em relação aos cães com HAC não tratados.

CAPÍTULO 2

Artigo científico a ser submetido para publicação no periódico:

Journal of Small Animal Practice.

Evaluation of Serum Symmetric Dimethylarginine (SDMA) in Dogs with Spontaneous Hyperadrenocorticism

R. S. A. S. Sgarbossa¹, C. Z. Cavalcante¹, J. Dal Pizzol², L. A. Z. Condas¹, A. B. R. Gizzi³, A. F. Souza¹, R. S. Muzzi¹, M. R. Farias¹

¹ School of Life Sciences, Pontifical Catholic University of Paraná, Imaculada Conceição 1155, Prado Velho, Curitiba, PR, BR; ² Autonomous Veterinarian, Clinivet Veterinary Hospital, Holanda 894, Boa Vista, Curitiba, PR, BR; ³ IDEXX Reference Laboratories of Brazil, Brigadeiro Faria Lima 4300, Itaim Bibi, São Paulo, SP, BR. Data for correspondence: rayane.sgarbossa@gmail.com, +55 (41) 99646-2171.

Summary

Objectives: To evaluate the glomerular filtration rate, by measuring the serum concentration of Symmetrical Dimethylarginine (SDMA) in dogs with spontaneous hyperadrenocorticism.

Methods: A cross-sectional, controlled study with thirteen dogs with pre-diagnosis of spontaneous hyperadrenocorticism and five healthy dogs, divided into three groups: Group 1 (Control) composed of five healthy dogs; Group 2 composed of six untreated dogs newly diagnosed with hyperadrenocorticism; Group 3 consists of seven dogs with hyperadrenocorticism treated with

trilostane for at least five months and with good disease control. Serum concentrations of SDMA were measured in all dogs by validated enzyme immunoassay, in addition to measuring urine protein-to-creatinine ratio, urine specific gravity, systolic blood pressure and general parameters of serum biochemistry. ANOVA was used to compare means among groups and Spearman's correlation was calculated among SDMA and the variables. Statistical significance was set at $p \leq 0.05$

Results: There were no significant differences in means SDMA concentrations among groups, as well as between the SDMA levels with the variables urine protein-to-creatinine ratio and systolic blood pressure in dogs with hyperadrenocorticism. In Group 2, there was a significant renal proteinuria and negative correlation between SDMA values and urine specific gravity.

Clinical Significance: SDMA values are negatively associated to urine specific gravity in dogs with untreated spontaneous hyperadrenocorticism, and these have significant renal proteinuria, but not related with increased serum concentrations of SDMA.

Keywords: cortisol, renal disease, hypertension, proteinuria.

INTRODUÇÃO

Hiperadrenocorticism (HAC) é uma doença caracterizada pela exposição crônica ao cortisol sistêmico que ocorre, em 85% dos casos, secundária às neoplasias hipofisárias secretoras do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) (Kooistra e Galac 2012, Behrend 2015). A hipercortisolemia crônica provoca alterações físicas e bioquímicas em todos os sistemas orgânicos, em

1 decorrência dos efeitos gliconeogênicos, lipogênicos, catabólicos,
2 imunossupressivos e anti-inflamatórios do cortisol (Mélian et al. 2010).

3 Nos cães com HAC, a hipercortisolemia crônica desencadeia alterações
4 hemodinâmicas que conduzem à vasoconstrição e hipertensão (Goy-Thollot et
5 al. 2002, Martínez et al. 2005, Galac et al. 2010, Reusch et al. 2010). Em
6 contrapartida, os glicocorticoides promovem aumento do fluxo sanguíneo renal
7 (FSR) e da taxa de filtração glomerular (TFG) (Denton et al. 2001, Kubota et al.
8 2001, Smets et al. 2012b), além de proteinúria renal como consequência do
9 aumento da permeabilidade glomerular, ou por defeito na reabsorção tubular
10 da proteína filtrada (Smets et al. 2012a, Caragelasco et al. 2017).

11 Deste modo, inúmeros mecanismos vasculares, hemodinâmicos,
12 glomerulares e tubulares, predis põem à deterioração da função renal nos cães
13 com HAC crônico. A sobrecarga compensatória na TFG e na função dos
14 túbulos renais podem perpetuar a perda dos néfrons residuais (Smets et al.
15 2010).

16 Segundo Haentjens e colaboradores (2005) há diminuição da TFG e
17 maior risco para complicações renais de acordo com o tempo de exposição à
18 hipercortisolemia e evolução do HAC em humanos. Embora sejam escassos
19 estudos que avaliaram a TFG em cães com HAC espontâneo, sua diminuição
20 foi observada após a introdução de tratamento medicamentoso ou cirúrgico
21 (Smets et al. 2012c, Marynissen et al. 2016). Assim, é importante ressaltar a
22 relevância de detectar fatores de risco para o desenvolvimento de doença renal
23 nos cães com HAC, bem como detectar de forma precoce lesões renais a fim

de buscar medidas preventivas e de controle destas alterações (Del Palácio 2013).

A avaliação quantitativa da excreção renal por meio da mensuração direta da TFG é o principal teste para dimensionar a massa renal funcional (Hokamp e Nabity 2016). Existem vários métodos validados para avaliar a TFG em cães e gatos, como a avaliação da depuração urinária da inulina, depuração plasmática do iohexol, concentração sérica da cistatina C e de moléculas radiomarcadas, no entanto, todos esses testes são de difícil execução prática e possuem várias limitações para aplicação clínica (Elliott e Watson 2016).

Recentemente a Sociedade Internacional de Interesse Renal (IRIS) incluiu a mensuração da dimetilarginina simétrica (SDMA) no protocolo de estadiamento e monitoramento da doença renal crônica (DRC) de cães e gatos, visto que avalia indiretamente a TFG e pode detectar precocemente uma diminuição na TFG (Brown 2015, Nabity et al. 2015, Elliott e Watson 2016, Hall et al. 2016). Deste modo, a avaliação da SDMA é promissora na rotina clínica veterinária geral e de pacientes com doenças endócrinas, para identificar doença renal ainda não detectada pelos métodos de triagem convencionais.

O presente estudo investigou o uso da SDMA sérica como biomarcador precoce de alterações na TFG em cães com HAC espontâneo não tratados e tratados com trilostano.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado estudo transversal, controlado, não aleatorizado após submissão e aprovação do Comitê de Ética para uso de Animais em Pesquisa

da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), sob registro 01123A/01123B (Anexo 1). O estudo foi realizado com cães atendidos na Clínica Veterinária Escola (CVE) da PUCPR e no Hospital Veterinário Clinivet, Curitiba, Paraná, Brasil.

Foram incluídos no estudo cães hígidos, normohidratados, independente de raça, gênero e com idade igual ou superior a oito anos, para comporem o Grupo 1 (Controle); e cães com diagnóstico pregresso de HAC espontâneo, independente de raça, gênero e idade, recém diagnosticados (Grupo 2) ou já tratados com trilostano uma ou duas vezes ao dia (Grupo 3).

O diagnóstico presuntivo do HAC espontâneo foi realizado de acordo com o preconizado pelo Colégio Americano de Medicina Interna Veterinária (Behrend et al., 2013), a partir da conjunção de sinais clínicos e alterações laboratoriais comuns na doença. O diagnóstico definitivo foi obtido com a observação de valores séricos de cortisol acima de 1,4 µg/dL após oito horas no Teste de Supressão com Baixa Dose de Dexametasona ou 22 µg/dL após duas horas do Teste de Estimulação com o ACTH (teACTH), conforme padronizado pelo laboratório utilizado.

Os animais triados para o estudo foram submetidos ao exame clínico geral e à aferição da pressão arterial sistólica (PAS) no início da avaliação clínica. A PAS foi aferida por três vezes consecutivas em cada animal, com o aparelho Doppler (Doppler Ultrasound Parks Medical® Model 811B) e manguitos compatíveis com a circunferência de seus membros torácicos, considerando-se a média das mensurações. Hipertensão foi estabelecida na

1 observação de pressão arterial sistólica igual ou superior a 160 mmHg (Brown
2 et al. 2007).

3 Amostras sanguíneas foram obtidas de todos os animais, sob jejum
4 alimentar de doze horas, através de venopunção jugular. As amostras foram
5 acondicionadas em frascos contendo EDTA para a realização de hemograma e
6 em frascos com ativador de coágulo para análise da bioquímica sérica após a
7 separação do soro (albumina, ALT, creatinina, colesterol, FA, glicose, uréia e
8 triglicerídeos).

9 Os soros foram armazenados em microtubos e conservados a -20°C até
10 análise no Laboratório *IDEXX Reference Laboratories* do Brasil, São Paulo –
11 Brasil, para a mensuração da concentração da SDMA. A análise foi realizada
12 por imunoensaio homogêneo automatizado, validado para cães e gatos (Patch
13 et al. 2015, Prusevich et al. 2015), com conjugado de glicose-6-fosfato
14 desidrogenase e anticorpo monoclonal anti-SDMA.

15 Realizou-se coleta de urina através de cistocentese para realização de
16 urinálise e determinação da relação proteína creatinina (RPC) urinária.

17 Exame ultrassonográfico abdominal exploratório foi realizado em todos os
18 cães com o aparelho Esaote© Mylab™ 40 Vet e o transdutor linear multi-
19 frequencial Esaote© modelo LA332, e frequências de 5 e 10 MHZ. Previamente
20 ao exame, os animais foram submetidos a jejum alimentar de doze horas e ao
21 uso oral de Simeticona 125 mg/animal por três dias. Em todos os cães com
22 HAC foi identificada hiperplasia bilateral simétrica de adrenais ou tamanho
23 normais, observações sugestivas de HAC ACTH-dependente (Behrend et al.
24 2013).

Nos cães triados com HAC já tratados com trilostano foi realizado o teACTH, com a administração de 5 µg/kg de ACTH (Synacthen Depot®, Novartis) por via intramuscular, após quatro horas da administração oral do trilostano. O cortisol sérico foi mensurado através de radioimunoensaio, em amostra de soro obtida após duas horas da administração do ACTH. Foram considerados cães com HAC bem controlados aqueles com níveis séricos de cortisol entre 1 e 5 µg/dL após o teACTH, associado a melhora dos sinais clínicos (Behrend 2015).

Foram excluídos do estudo cães com concentração sérica de creatinina >1,4 mg/dL; com doenças cardíacas classes B2, C e D; com doenças crônicas, infecciosas e autoimunes; que fizeram uso de algum medicamento quimioterápico, anestésico, antifúngico, anti-inflamatório e antibiótico pelo prazo de três meses antes da inclusão no projeto; cães que faziam uso regular de medicamentos anti-hipertensivos e diuréticos e cães tratados para o HAC que não apresentaram cortisol sérico após o teACTH entre 1 e 5 µg/dL.

Após avaliação subsidiada pelos critérios de inclusão e exclusão, dos nove cães hígidos triados, cinco (55,5%) foram incluídos no Grupo 1 do estudo. Dos 26 cães com HAC espontâneo triados, 13 foram incluídos no estudo, sendo seis cães sem tratamento incluídos no Grupo 2 e sete cães em tratamento com trilostano incluídos no Grupo 3. Os dados demográficos dos cães incluídos no estudo estão descritos na Tabela 1.

Os cães com HAC espontâneo do Grupo 3 estavam em tratamento com trilostano manipulado ou comercial (Vetoryl®, Dechra) pelo período médio de

1 17 meses, com dose média de 1 mg/kg/vo, uma ou duas vezes ao dia e bom
2 controle terapêutico.

Tabela 1: Dados demográficos dos cães do Grupo 1 (n=5), Grupo 2 (n=6) e Grupo 3 (n=7).

Identificação	Idade (anos)	Raça	Gênero	Peso (kg)	Esterilizado
Grupo 1					
1	10	Daschund	Fêmea	10,9	Sim
2	8	Poodle	Fêmea	5,3	Não
3	10	Border Collie	Fêmea	21,2	Não
4	10	Mestiço	Fêmea	9,8	Sim
5	8	Pinscher	Fêmea	7,1	Não
Grupo 2					
1	6	Pitt Bull	Macho	26,7	Sim
2	12	Daschund	Fêmea	8,2	Sim
3	15	Yorkshire	Fêmea	3,0	Sim
4	15	Daschund	Fêmea	7,4	Sim
5	6	Maltês	Macho	4,9	Não
6	10	Mestiço	Macho	7,2	Não
Grupo 3					
1	11	Yorkshire	Macho	2,5	Sim
2	17	Daschund	Macho	9,1	Sim
3	10	Mestiço	Fêmea	28,5	Sim
4	10	Yorkshire	Macho	5,4	Sim
5	9	Yorkshire	Macho	4,6	Sim
6	14	Mestiço	Fêmea	20,6	Sim
7	7	Maltês	Fêmea	3,6	Sim

3 Análise estatística foi realizada com o Software Stata Versão 14 College
4 Station, Texas, USA.

5 Os dados foram analisados quanto ao teste de normalidade Kolmogorov-
6 Smirnov e os valores médios foram comparados entre os Grupos 1, 2 e 3 por

ANOVA, seguido pelo post hoc de Tukey (Doho et al. 2009). Os dados paramétricos foram expostos em médias e desvio padrão, considerando nível de significância a 5% ($p \leq 0,05$).

Para investigação de correlações entre os dados contínuos das concentrações da SDMA com as variáveis creatinina, colesterol, densidade urinária (DU), leucócitos totais sanguíneos, PAS, RPC urinária e triglicerídeos; e da RPC urinária com as variáveis colesterol, PAS e triglicerídeos, foram realizadas correlações não paramétricas de Spearman (Spearman 1904). Valores do coeficiente de correlação de Spearman (ρ) e respectiva significância ($p \leq 0,05$) foram utilizados na apresentação dos dados.

RESULTADOS

Os valores das médias e desvio padrão das variáveis de hemograma, bioquímica sérica, RPC urinária, SDMA sérica, DU e PAS dos animais incluídos no estudo estão dispostos na Tabela 2.

Tabela 2: Médias (desvio padrão) dos exames laboratoriais dos cães hípidos (Grupo 1, n=5), cães com HAC não tratados (Grupo 2, n=6) e cães com HAC em tratamento com trilostano (Grupo 3, n=7).

	Valores de referência	Cães Hígidos (Grupo 1)	Cães com Hiperadrenocorticismo				Valor de <i>P</i> ^b
			Não tratados (Grupo 2)	Valor de <i>P</i> ^a	Tratados (Grupo 3)	Valor de <i>P</i> ^a	
Hemograma							
Eritrócitos	5,5 – 8,5 m/mm ³	7,6 (0,38)	6,33 (0,45)	0,06	7,84 (0,22)	0,5	0,2
Hemoglobina	12 – 18 g/dL	19,08 (0,58)	15,75 (0,45)	0,06	17,65 (0,87)	0,4	0,12
Hematócrito	37 – 55%	53,2 (1,46)	46,75 (1,88)	0,06	52,85 (1,51)	0,9	0,11
Leucócitos t.	6 – 17 / mm ³	7,60 (0,38)	9,77 (0,35)	0,06	8,71 (0,88)	0,15	0,06
PP	5,8 – 7,8 g/dL	7,12 (0,16)	8,1 (0,87)	0,06	7,85 (0,23)	0,16	0,12
Bioquímicos							
Albumina	2,6 – 3,3 g/dL	2,82 (0,21)	2,87 (0,32)	0,9	3,6 (0,26)	0,11	0,09
ALT	0 – 102 UI/L	59,42 (10,56)	202,70 (86,95)	0,04 ^d	93,77 (23,86)	0,04 ^d	0,14
Colesterol	135 – 270 mg/dL	193,4 (28,1)	376,08 (156,17)	0,03 ^d	257,22 (29,05)	0,13	0,03 ^c
Creatinina	0,5 – 1,4 mg/dL	1,03 (0,008)	0,73 (0,13)	0,2	0,73 (0,11)	0,16	0,13
FA	20 – 156 UI/L	19,6 (4,03)	473,8 (203,85)	0,04 ^d	840,07 (455,8)	0,02 ^d	0,27
Glicose	70 – 110 mg/dL	78,8 (2,13)	85 (9,21)	0,8	83,14 (6,07)	0,9	0,8
RPCu	< 0,5	0,08 (0,008)	1,13 (0,6)	0,04 ^d	1,21 (0,85)	0,09	0,35
SDMA	< 14 µg/dL	10,2 (0,96)	12,6 (3,14)	0,7	8,57 (0,97)	0,8	0,35
Triglicerídeos	< 250 mg/dL	25,6 (9,46)	229,8 (137,65)	0,04 ^d	228,42 (111,69)	0,04 ^d	0,18
Uréia	21,4 – 59,9 mg/dL	38,6 (4,36)	52,67 (14,28)	0,5	44,13 (8,69)	0,9	0,5
Urinalise							
DU	1,015 – 1,045	1,038 (6,22)	1,025 (4,87)	0,3	1,027 (5,61)	0,4	0,3
PAS	< 160 mg/dL	154 (11,22)	161,66 (15,36)	0,9	150 (12)	1,0	0,82

ALT= alanino aminotransferase; DU= densidade urinária; FA= fosfatase alcalina; p = significância; Leucócitos t. = leucócitos totais; PAS= pressão arterial sistólica; PP= proteína plasmática; RPCu= relação proteína creatinina urinária; SDMA= dimetilarginina simétrica. ^a Valores de p referente a comparação com os cães do Grupo 1. ^b Valor de p geral considerando todos os grupos. ^c Diferença estatística significativa entre todos os grupos ($p \leq 0,05$). ^d Diferença estatística significativa em comparação aos cães do Grupo 1 ($p \leq 0,05$).

Dentre os parâmetros analisados, os valores médios de proteína plasmática, ALT, colesterol, FA, PAS e RPC urinária do Grupo 2 foram maiores que os da referência. Quando analisados os valores médios das variáveis, constatou-se diferença significativa em ALT ($p=0,04$), colesterol ($p=0,03$), FA ($p=0,04$), RPC urinária ($p=0,04$) e triglicerídeos ($p=0,04$) entre os cães do Grupo 2 e cães hígidos.

No Grupo 3, os valores médios de albumina, FA e RPC urinária foram maiores que os da referência. Os valores médios observados de ALT ($p=0,04$), FA ($p=0,02$) e triglicerídeos ($p=0,04$) foram significativamente diferentes entre os cães do Grupo 3 e cães hígidos.

Não foram constatadas diferenças significativas nos valores médios das demais variáveis avaliadas entre os grupos de cães com HAC espontâneo, em relação ao grupo de cães hígidos, bem como quando da comparação entre os Grupos 2 e 3.

Não houve diferença significativa entre os valores médios da SDMA sérica nos grupos avaliados (Gráfico 1). Dos seis animais pertencentes ao Grupo 2, um (16,6%) apresentou valores de SDMA acima dos valores de referência (27 $\mu\text{g/dL}$) e um (16,6%) apresentou valores limítrofes (14 $\mu\text{g/dL}$).

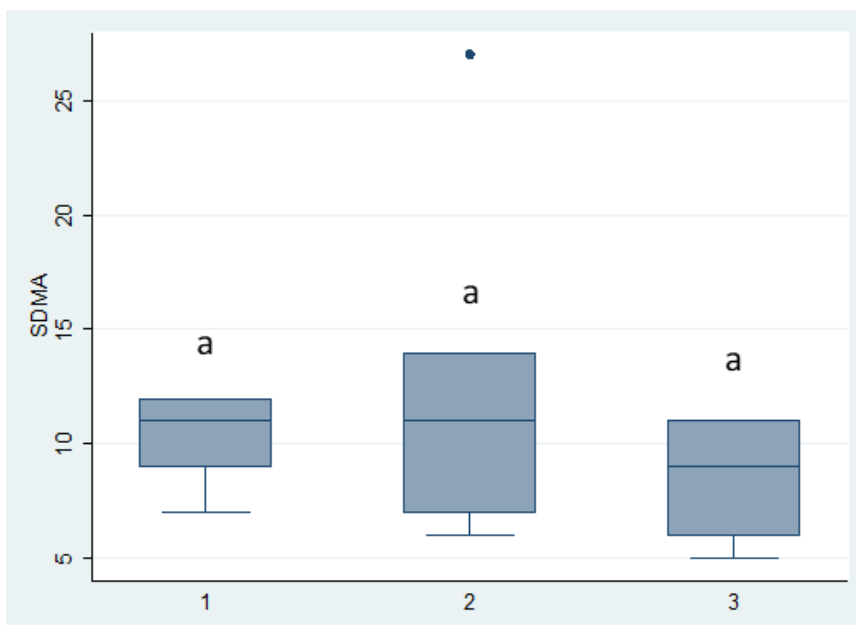


Gráfico 1: Representação das concentrações médias, percentis de 25% e 75% e máximo e mínimo (extremidade das barras verticais) da dimetilarginina simétrica (SDMA) ($\mu\text{g/dL}$) dos cães dos Grupos 1 ($n=5$), 2 ($n=6$) e 3 ($n=7$). Letras iguais indicam $p \geq 0,05$.

- 1 Foram testadas as correlações de SDMA com as seguintes variáveis:
- 2 creatinina, colesterol, DU, leucócitos totais sanguíneos, PAS, RPC urinária e
- 3 triglicerídeos. Também foram correlacionados os valores de RPC com
- 4 colesterol, PAS e triglicerídeos. Os dados das correlações entre as variáveis
- 5 estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Valores de coeficiente de correlação (ρ) de Spearman entre SDMA sérica e creatinina, colesterol, DU, leucócitos totais sanguíneos, PAS, RPC urinária e triglicerídeos, e entre RPC urinária e colesterol, PAS e triglicerídeos dos cães do Grupo 1 (n=5), Grupo 2 (n=6) e Grupo 3 (n=7).

Variável	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
SDMA e Creatinina	$r = 0,23$	$r = 0,54$	$r = -0,29$
SDMA e Colesterol	$r = -0,87^*$	$r = 0,70$	$r = -0,11$
SDMA e DU	$r = -0,94^*$	$r = -1,00^*$	$r = 0,14$
SDMA e Leucócitos totais	$r = 0,56$	$r = 0,60$	$r = 0,59$
SDMA e PAS	$r = 0,15$	$r = 0,26$	$r = 0,05$
SDMA e RPC urinária	$r = 0,94^*$	$r = -0,50$	$r = -0,22$
SDMA e Triglicerídeos	$r = 0,55$	$r = -0,30$	$r = -0,51$
RPC urinária e colesterol	$r = -0,71$	$r = -0,50$	$r = 0,10$
RPC urinária e PAS	$r = 0,28$	$r = 0,50$	$r = 0,80$
RPC urinária e triglicerídeos	$r = 0,76$	$r = 0,50$	$r = 0,10$

DU= densidade urinária; PAS= pressão arterial sistólica; r = coeficiente de correlação (ρ); RPC= relação proteína creatinina; SDMA= dimetilarginina simétrica. * Indica correlação significativa entre as variáveis ($p \leq 0,05$).

1 No Grupo 1, constatou-se correlação negativa significativa entre as
2 concentrações medianas da SDMA e colesterol ($p=0,05$), e entre SDMA e DU
3 ($p=0,01$); e correlação positiva significativa entre SDMA e RPC urinária
4 ($p=0,01$). No Grupo 2, houve correlação negativa significativa entre os valores
5 medianos da SDMA e DU ($p=0,000$) (Gráfico 2).

6 Ainda, constatou-se correlação significativa entre as medianas de RPC
7 urinária e colesterol, considerando os Grupos 1, 2 e 3 ($r=0,57/ p=0,04$) (Gráfico
8 3). Não foram constatadas correlações significativas entre os valores medianos
9 das demais variáveis nos grupos.

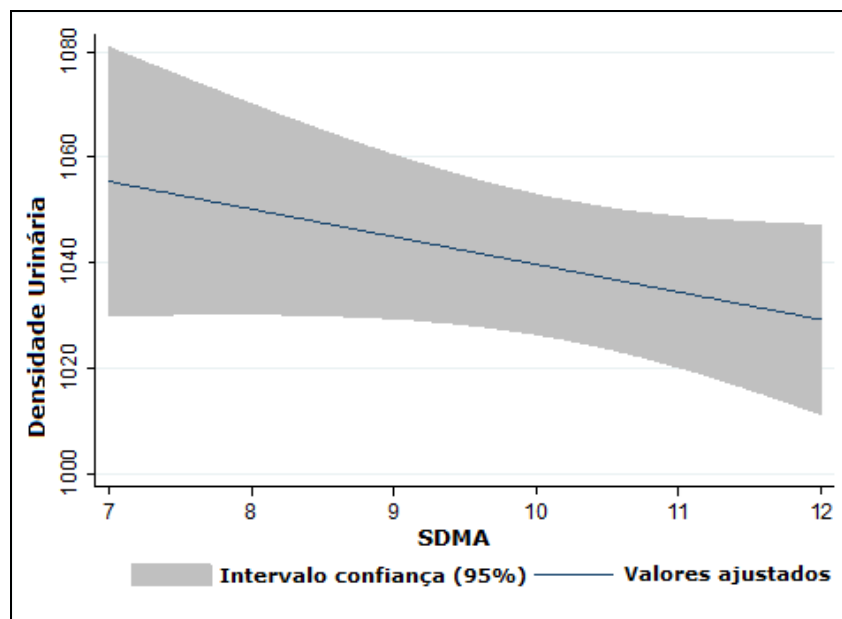


Gráfico 2: Correlação entre os valores medianos de SDMA sérica ($\mu\text{g/dL}$) e densidade urinária nos cães com hiperadrenocorticism não tratados (Grupo 2, $n=6$).

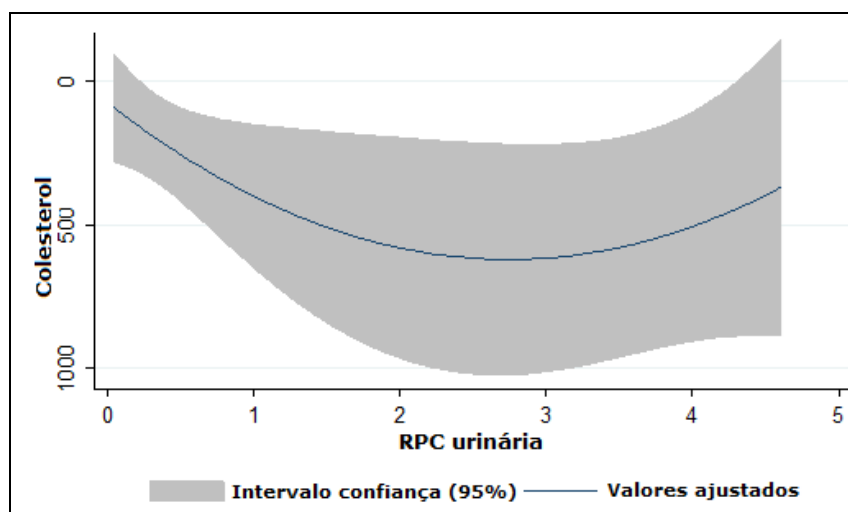


Gráfico 3: Correlação entre os valores medianos de colesterol (mg/dL) e relação proteína creatinina (RPC) urinária considerando os cães do Grupo 1 ($n=5$), 2 ($n=6$) e 3 ($n=7$).

DISCUSSÃO

A SDMA é uma molécula primariamente excretada pela via renal de cães e sua mensuração sérica avalia indiretamente a TFG, o que permite a detecção precoce de disfunção renal em comparação à creatinina (Brown 2015, Hall et al. 2014). Os resultados das concentrações médias da SDMA sérica em todos os grupos foram abaixo do valor de referência ($\leq 14 \mu\text{g/dL}$ - *IDDEX Reference Laboratories* do Brasil) e não foi possível constatar diferença significativa dessa tanto no grupo de animais com HAC ACTH-dependentes não tratados, quanto nos tratados, em comparação ao grupo controle. Como a mensuração da SDMA foi validada para detecção precoce de disfunção glomerular em cães e gatos (Braff et al. 2014, Nabity et al. 2015) e valores $\geq 14 \mu\text{g/dL}$ indicam uma redução de aproximadamente 49% da TFG em cães (Hall et al. 2016), esses resultados indicam que não havia diminuição significativa nessa taxa nos cães incluídos no momento avaliado.

A observação de resultados da SDMA sérica dentro dos valores de referência ($12,6 \mu\text{g/dL} \pm 3,14 \mu\text{g/dL}$) no Grupo 2 pode sugerir o possível aumento da TFG e hiperfiltração glomerular no momento avaliado, como observado em cães com HAC espontâneo não tratados no estudo de Smets e colaboradores (2012c). Resultados semelhantes foram identificados em estudos com gatos hipertireoideos (Peterson et al. 2018) ou diabéticos (Langhorn et al. 2018), nos quais o diagnóstico recente ou o mau controle destas morbidades conduziram à hiperfiltração renal e detecção de valores baixos da SDMA sérica.

Os glicocorticoides podem desencadear aumento da TFG por promoverem hipertensão arterial sistêmica e intraglomerular, bem como pelo seus efeitos catabólicos que resultam no aumento da concentração plasmática de aminoácidos, osmolaridade e do FSR, ou ainda devido à supressão da enzima conversora de angiotensina e da angiotensina II no córtex renal, que conduz à diminuição da resistência vascular, vasodilatação renal e aumento da superfície de filtração glomerular (Kubota et al. 2001, Schellenberg et al. 2008, Lien et al. 2010, Smets et al. 2010).

Além disso, estudos conduzidos em humanos identificaram a SDMA sérica como um marcador inflamatório, sendo citada como um fator pró-inflamatório e pró-oxidante no organismo (Schwedhelm e Böger 2011, Feliens et al. 2015, Emrich et al. 2017, Tain e Hsu 2017). Nesse contexto, outra possibilidade que justificaria a ausência de alteração na SDMA sérica nos cães com HAC espontâneo não tratados seriam os efeitos anti-inflamatórios relacionados ao excesso de cortisol sérico.

No entanto, dois dos seis animais do Grupo 2 apresentaram aumento ou valor limítrofe da SDMA sérica, o que de acordo com Hall e colaboradores (2016) corresponde a aproximadamente 49% de redução da TFG, e hipertensão arterial sistólica (>170 mmHg). Deste modo, nestes cães, constatou-se diminuição da TFG, que pode estar relacionada com a perda funcional de néfrons associada ao tempo de exposição à hipercortisolemia, como demonstrado em um estudo longitudinal em humanos com HAC (Haentjens et al. 2005), e possivelmente com alterações vasculares e hemodinâmicas decorrentes da hipertensão (Brown et al. 2007, Schellenberg et al. 2008, Lien et al. 2010, Reusch et al. 2010).

Já no Grupo 3, as concentrações médias da SDMA dentro dos valores de referência ($8,6 \mu\text{g/dL} \pm 0,97 \mu\text{g/dL}$) não diferiram significativamente dos valores dos demais grupos, embora o resultado médio final tenha sido menor em relação ao Grupo 2 ($12,6 \mu\text{g/dL} \pm 3,14 \mu\text{g/dL}$). Esses resultados diferem do esperado, isto porque dois estudos longitudinais em cães com HAC ACTH-dependentes evidenciaram diminuição da TFG após seis e 12 meses de tratamento medicamentoso ou cirúrgico (Smets et al. 2012c, Marynissen et al. 2016). Todavia, no presente estudo foi realizada avaliação transversal da TFG, a partir da mensuração da SDMA sérica, em dois grupos distintos de cães com HAC, não uma avaliação longitudinal antes e após o início do tratamento.

Foram incluídos no estudo apenas cães com creatinina $< 1,4 \text{ mg/dL}$ e quando comparados os valores medianos de creatinina sérica com as concentrações da SDMA sérica não foram constatadas correlações significativas em todos os grupos. Embora estudos tenham demonstrado que a SDMA e a creatinina séricas são fortemente correlacionadas com a TFG em cães com DRC (Nabity et al. 2015), existem poucas informações sobre a influência do HAC afetando a TFG em cães (Heine e Lefebvre 2013). Um possível mecanismo que poderia justificar a ausência de correlação entre a creatinina e SDMA séricas nos cães com HAC refere-se ao efeito catabólico proteico da hipercortisolemia crônica, visto que a creatinina sofre influência direta da massa corporal magra, enquanto a SDMA não (Hall et al. 2015, Relford et al. 2016).

Os valores médios de colesterol sérico acima da referência nos cães com HAC não tratados condizem com o relatado na literatura, visto que a

hipercortisolemia aumenta a lipólise da gordura visceral e inativa a lipase lipoproteica (Xenoulis e Steiner 2010, Behrend 2015).

Dislipidemia crônica, caracterizada por hipercolesterolemia e/ou hipertrigliceridemia, tem sido relacionada com nefrotoxicidade e proteinúria em humanos e cães (Gyebi et al. 2012; Furrow et al. 2016). No presente estudo houve uma correlação significativa entre os valores medianos de RPC urinária e de colesterol sérico ($p=0,04$), considerando todos os grupos estudados. Além disso, um dos cães do Grupo 2 que apresentou aumento sérico da SDMA tinha hipercolesterolemia importante (999 mg/dL), o que poderia sugerir uma correlação entre dislipidemia e nefrotoxicidade lipídica nesse animal.

A DU não diferiu significativamente entre os grupos quando comparados os valores médios. No Grupo 3, valores médios da DU igual a 1,027 refletem uma capacidade moderada de concentração urinária (Watson 2015), e podem ser justificados em resposta ao tratamento do HAC, diminuição dos níveis de cortisol e melhoria da poliúria e polidipsia compensatória, como também identificado no estudo longitudinal conduzido por Smets et al. (2012c) em cães com HAC tratados com trilostano.

A mensuração da SDMA sérica tem relevância no diagnóstico precoce de disfunção renal, pois pode se elevar antes da inabilidade de concentração urinária em cães com DRC (Watson 2015, Relford et al. 2016). No entanto, quando comparadas as concentrações medianas da SDMA sérica com os valores de DU no presente estudo, observou-se uma correlação negativa significativa nos cães dos Grupos 1 e 2, indicando que a diminuição na TFG pode estar relacionada com a inabilidade de concentração urinária nesses

animais. Uma vez que a hipercortisolemia presente nos cães com HAC não tratados desencadeia redução na DU por disfunção da vasopressina na porção distal dos néfrons (Nelson 2015), a identificação de baixa DU em associação ao aumento da SDMA sérica podem ser sugestivos de DRC nestes casos.

A presença de proteinúria renal significativa nos cães com HAC espontâneo não tratados foi de característica leve à moderada e representa uma complicação comum em cerca de 60% dos cães com HAC (Fracassi et al. 2015, Caragelasco et al. 2016). No entanto, é importante observar que a proteinúria renal identificada nestes animais não apresentou correlação significativa com as concentrações medianas da SDMA sérica. Resultado similar também foi demonstrado no estudo de Smets e colaboradores (2012c), no qual não houve relação entre a RPC urinária e marcadores da TFG nos cães com HAC ACTH-dependentes. Esses achados sugerem que a avaliação da TFG não exclui a necessidade de se avaliar a RPC urinária nesses pacientes, a fim de estabelecimento de diagnóstico e estadiamento da DRC e de prognóstico (Elliott e Watson 2016).

Os resultados do presente estudo indicam que as concentrações da SDMA sérica se relacionam de forma negativa com a DU em cães com HAC espontâneo não tratados e estes possuem proteinúria renal significativa, porém não associada ao aumento das concentrações séricas da SDMA.

Conflito de Interesse: A. B. R. Gizzi atualmente é consultora do Laboratório *IDEXX Reference Laboratories* do Brasil, que disponibilizou gratuitamente as análises da SDMA do presente estudo.

REFERÊNCIAS

- Behrend, E. N. (2015) Canine Hyperadrenocorticism. In: Canine and Feline Endocrinology. 4th edn. Eds E. C. Feldman, R. W. Nelson, C. E. Reusch, C. R. Scott-Moncrieff, E. N. Behrend, Saunders, Riverport Lane. Pp. 452-485.
- Behrend, E. N., Kooistra, H. S., Nelson, *et al.* (2013) Diagnosis of Spontaneous Canine Hyperadrenocorticism: 2012 ACVIM Consensus Statement (Small Animal). *Journal Veterinary Internal Medicine* **27**, 1292–1304.
- Braff, J., Obare, E., Yerramilli, M., *et al.* (2014) Relationship between Serum Symmetric Dimethylarginine Concentration and Glomerular Filtration Rate in Cats. *Journal Veterinary Internal Medicine* **28**, 1699-1701.
- Brown, S. A. Symmetric dimethylarginine (SDMA): new biomarker of renal function in cats and dogs. International Renal Interest Society (2015) http://www.iris-kidney.com/emerging-theme/emerging_theme_index.html [acesso em 09 de maio de 2017]
- Brown, S., Atkins, C., Carr, A., *et al.* (2007) Guidelines for the Identification, Evaluation, and Management of Systemic Hypertension in Dogs and Cats. *Journal Veterinary Internal Medicine* **21**, 542-558.
- Caragelasco, D. S., Kogika, M. M., Martorelli, C. R., *et al.* (2017) Urine protein electrophoresis study in dogs with pituitary dependent hyperadrenocorticism during therapy with trilostane. *Pesquisa Veterinária Brasileira* **37**, 734-740.
- Denton, K. M., Li, M., Anderson, W. P., *et al.* (2001) Glomerular hypertension and hyperfiltration in adrenocorticotrophin-induced hypertension in rats: the role of nitric oxide. *Journal of Hypertension* **19**, 327-334.
- Del Palácio, M. J. F. Risk factors in dogs and cats for development of chronic kidney disease. International Renal Interest Society (2013) http://www.iris-kidney.com/education/risk_factors.html [acesso em 09 de maio de 2017].
- Dohoo, I., W. Martin, and H. Stryhn. (2009) Veterinary epidemiologic research. 2nd edn. AVC Inc., Charlottetown, PE, Canada.

- 1 Elliott, J. & Watson, A. D. J. Overview of the IRIS staging system for CKD.
2 International Renal Interest Society (2016) [http://www.iris-](http://www.iris-kidney.com/education/staging_system.html)
3 [kidney.com/education/staging_system.html](http://www.iris-kidney.com/education/staging_system.html) [acesso em 09 de maio de 2017].
- 4 Emrich, I. E., Zawada, A. M., Martens-Lobenhoffer, *et al.* (2017) Symmetric
5 dimethylarginine (SDMA) outperforms asymmetric dimethylarginine (ADMA)
6 and other methylarginines as predictor of renal and cardiovascular outcome
7 in non-dialysis chronic kidney disease. *Clinical Research in Cardiology*, 1-13.
- 8 Feliers, D., Lee, D-Y., Gorin, Y., *et al.* (2015) Symmetric dimethylarginine alters
9 endothelial nitric oxide activity in glomerular endothelial cells. *Cell Signaling* **27**, 1-
10 5.
- 11 Fracassi, F., Corradini, S., Floriano, D., *et al.* (2015) Prognostic factors for
12 survival in dogs with pituitary-dependent hypercortisolism treated with trilostane.
13 *Veterinary Record* **176**, 49.
- 14 Furrow, E., Jaeger, J. Q., Parker, V. J., *et al.* (2016) Proteinuria and lipoprotein
15 lipase activity in Miniature Schnauzer dogs with and without
16 hypertriglyceridemia. *The Veterinary Journal* **212**, 83-89.
- 17 Galac, S., Buijtsels, J. J. C. W. M., Mol, J. A., *et al.* (2010) Effects of trilostane on
18 the pituitary-adrenocortical and renin–aldosterone axis in dogs with pituitary-
19 dependent hypercortisolism. *The Veterinary Journal* **183**, 75–80.
- 20 Goy-Thollot, I., Péchereau, D., Kéroack, S., *et al.* (2002) Investigation of the
21 role of aldosterone in hypertension associated with spontaneous pituitary-
22 dependent hyperadrenocorticism in dogs. *Journal of Small Animal Practice* **43**,
23 489-492.
- 24 Gyebi, L., Soltani, Z. & Reisin, E. (2012) Lipid nephrotoxicity: New concept for
25 an old disease. *Current Hypertension Reports* **14**, 177-81.
- 26 Haentjens, P., De Meirleir, L., Abs, R., *et al.* (2005) Glomerular filtration rate in
27 patients with Cushing's disease: a matched case-control study. *European Journal*
28 *of Endocrinology* **153**, 819-29.

- 1 Hall, J. A., Yerramilli, M., Obare, E., *et al.* (2016) Serum Concentrations of
2 Symmetric Dimethylarginine and Creatinine in Dogs with Naturally Occurring
3 Chronic Kidney Disease. *Journal Veterinary Internal Medicine* **30**, 794-802.
- 4 Hall, J. A., Yerramilli, M., Obare, *et al.* (2014) Comparison of Serum
5 Concentrations of Symmetric Dimethylarginine and Creatinine as Kidney
6 Function Biomarkers in Cats with Chronic Kidney Disease. *Journal Veterinary*
7 *Internal Medicine* **28**, 1676-1683.
- 8 Hall, J. A., Yerramilli, M., Obare, E., *et al.* (2015) Relationship between Lean
9 Body Mass and Serum Renal Biomarkers in Healthy Dogs. *Journal Veterinary*
10 *Internal Medicine* **29**, 808-12.
- 11 Heine, R. & Lefebvre, H. P. Glomerular filtration rate in dogs and cats.
12 International Renal Interest Society (2013) [http://www.iris-](http://www.iris-kidney.com/education/gfr.html)
13 [kidney.com/education/gfr.html](http://www.iris-kidney.com/education/gfr.html) [Acesso em 23 de janeiro de 2018].
- 14 Kooistra, H. S. & Galac, S. (2012) Recent Advances in the Diagnosis of
15 Cushing's Syndrome in Dogs. *Topics in Companion Animal Medicine* **27**, 21-24.
- 16 Kubota, E., Hayashi, K., Matsuda, H., *et al.* (2001) Role of intrarenal
17 angiotensin II in glucocorticoid-induced renal vasodilation. *Clinical and*
18 *Experimental Nephrology* **5**, 186-192.
- 19 Langhorn, R., Kieler, I. N., Koch, J., *et al.* (2018) Symmetric Dimethylarginine in
20 Cats with Hypertrophic Cardiomyopathy and Diabetes Mellitus. *Journal*
21 *Veterinary Internal Medicine* **32**, 57-63.
- 22 Lien, Y-H., Hsiang, T-Y. & Huang, H-P. (2010) Associations among systemic
23 blood pressure, microalbuminuria and albuminuria in dogs affected with
24 pituitary- and adrenal-dependent hyperadrenocorticism. *Acta Veterinaria*
25 *Scandinavica* **52**, 1-6.
- 26 Martínez, N. I., Panciera, D. L., Abbott, J. A., *et al.* (2005) Evaluation of pressor
27 sensitivity to norepinephrine infusion in dogs with iatrogenic
28 hyperadrenocorticism – Pressor sensitivity in dogs with hyperadrenocorticism.
29 *Research in Veterinary Science* **78**, 25-31.

- Marynissen, S. J. J., Smets, P. M. Y., Ghys, I. F. E., *et al.* (2016) Long-term follow-up of renal function assessing serum cystatin C in dogs with diabetes mellitus or hyperadrenocorticism. *Veterinary Clinical Pathology* **45**, 320-329.
- Mélian, C., Perez-Alenza, M. D. & Peterson, M. E. (2010) Hyperadrenocorticism in dogs. In: Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and the Cat. 7th edn. Eds S. J. Ettinger and E. C. Feldman. Saunders, Philadelphia. Pp.1510-1547.
- Nabity, M. B., Lees, G. E., Bogges, M. M., *et al.* (2015) Symmetric Dimethylarginine Assay Validation, Stability, and Evaluation as a Marker for the Early Detection of Chronic Kidney Disease in Dogs. *Journal Veterinary Internal Medicine* **29**, 1036-1044.
- Nelson, R. W. (2015) Water Metabolism and Diabetes Insipidus. In: Canine and Feline Endocrinology. 4th edn. Eds E. C. Feldman, R. W. Nelson, C. E. Reusch, C. R. Scott-Moncrieff, E. N. Behrend, Saunders, Riverport Lane. Pp. 1-36.
- Patch, D., Obare, E., Prusevich, P., *et al.* (2015) High Throughput Immunoassay for Kidney Function Biomarker Symmetric Dimethylarginine (SDMA). July 28, Georgia, USA. pp. S135.
- Peterson, M. E., Varela, F. V., Rishniw, M., *et al.* (2018) Evaluation of Serum Symmetric Dimethylarginine (SDMA) concentration as a marker for masked Chronic Kidney Disease in Cats with Hyperthyroidism. *Journal Veterinary Internal Medicine* **32**, 295-304.
- Prusevich, P., Patch, D., Obare, E., *et al.* (2015) Validation of a Novel High Throughput Immunoassay for the Quantitation of Symmetric Dimethylarginine (SDMA). July 28, Georgia, USA. pp. S135.
- Relford, R., Robertson, J. & Clements, C. (2016) Symmetric Dimethylarginine: Improving the Diagnosis and Staging of Chronic Kidney Disease in Small Animals. *Veterinary Clinics Small Animal* **46**, 941-960.
- Reusch, C. E., Schellenberg, S. & Wenger, M. (2010) Endocrine Hypertension in Small Animals. *Veterinary Clinics Small Animal* **40**, 335–352.

- Schellenberg, S., Mettler, M., Gentilini, F., et al. (2008) The Effects of Hydrocortisone on Systemic Arterial Blood Pressure and Urinary Protein Excretion in Dogs. *Journal Veterinary Internal Medicine* **22**, 273–281.
- Schwedhelm, E. & Böger, R. H. (2011) The role of asymmetric and symmetric dimethylarginines in renal disease. *Nature Reviews Nephrology* **7**, 275–285.
- Smets, P. M. Y., Lefebvre, H. P., Kooistra, H. S., et al. (2012a) Hypercortisolism affects glomerular and tubular function in dogs. *The Veterinary Journal* **192**, 532-534.
- Smets, P., Lefebvre, H. P., Aresu, I., et al. (2012b) Renal function and morphology in aged Beagle dogs before and after hydrocortisone administration. *Plos One* **7**, e31702.
- Smets, P. M. Y., Lefebvre, H. P., Meij, B. P., et al. (2012c) Long-Term Follow-Up of Renal Function in Dogs after Treatment for ACTH-Dependent Hyperadrenocorticism. *Journal Veterinary Internal Medicine* **26**, 565-573.
- Smets, P., Meyer, E., Maddnes, B., et al. (2010) Cushing's syndrome, glucocorticoids and the kidney. *General and Comparative Endocrinology* **169**, 1-10.
- Spearman, C. (1904) The Proof and Measurement of Association between Two Things. *The American Journal of Psychology* **15**, 72–101.
- Tain, Y-L. & Hsu, C-N. (2017) Toxic Dimethylarginines: Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) and Symmetric Dimethylarginine (SDMA). *Toxins* **9**, 92.
- Watson, A. D. J., Lefebvre, H. P. & Elliott, J. Using urine specific gravity. International Renal Interest Society (2015) http://www.iris-kidney.com/emerging-theme/education/urine_specific_gravity.html [Acesso em 23 de janeiro de 2018].
- Xenoulis, P. G. & Steiner, J. M. (2010) Lipid metabolism and hyperlipidemia in dogs. *The Veterinary Journal* **183**, 12-21.

CAPÍTULO 3

1. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O hiperadrenocorticismo acarreta alterações vasculares, hemodinâmicas, glomerulares e tubulares capazes de desencadear complicações renais em cães de acordo com a evolução da doença.

Constatou-se correlação negativa significativa entre as concentrações medianas da dimetilarginina simétrica sérica e os valores de densidade urinária em cães com hiperadrenocorticismo recém diagnosticados e não tratados do presente estudo, o que sugere que a identificação de aumento da dimetilarginina simétrica sérica em associação a inabilidade de concentração urinária nesses pacientes podem ser sugestivos de doença renal crônica.

Proteinúria renal foi identificada em cães com hiperadrenocorticismo não tratados e apesar disto, não houve aumento nas concentrações séricas da dimetilarginina simétrica. Como a dimetilarginina simétrica sérica é um biomarcador indireto da taxa de filtração glomerular, esses resultados indicam que não houve diminuição nessa taxa nos cães incluídos no período do estudo, entretanto, a proteinúria pode contribuir para a progressão de doença renal.

Devido ao efeito tóxico do excesso da dimetilarginina simétrica sobre a função renal, como por exemplo interferindo no sistema do óxido nítrico e predispondo ao estresse oxidativo glomerular, a mensuração da dimetilarginina simétrica também pode ser essencial para o prognóstico dos cães com hiperadrenocorticismo em risco para doença renal.

REFERÊNCIAS

- Aldridge C, Behrend E N, Kemppainen R J, Lee-Fowler T M, Martin L G, Ward C R, Bruyette D, Pannu J, Gaillard P, Lee H P. Comparison Of 2 Doses For Acth Stimulation Testing in Dogs Suspected of or Treated for Hyperadrenocorticism. *J Vet Intern Med.* 2016; 30: 1637-41.
- Arenas C, Mélian C, Pérez-Alenza M. D. Long-Term Survival of Dogs with Adrenal-Dependent Hyperadrenocorticism: A Comparison between Mitotane and Twice Daily Trilostane Treatment. *J Vet Intern Med.* 2014; 28 (2): 473-80.
- Arenas C, Mélian C, Pérez-Alenza M. D. Evaluation Of 2 Trilostane Protocols for The Treatment of Canine Pituitary-Dependent Hyperadrenocorticism: Twice Daily Versus Once Daily. *J Vet Intern Med.* 2013; 27 (6): 1478-85.
- Behrend E N. Canine Hyperadrenocorticism. In: Feldman E C, Nelson R W, Reusch C E, Scott-Moncrieff C R, Behrend E N. *Canine and Feline Endocrinology*. 4th ed. Riverport Lane: Elsevier Saunders; 2015. P. 452-85.
- Behrend E N, Kooistra H S, Nelson R, Reusch C E, Scott-Moncrieff J C. Diagnosis of Spontaneous Canine Hyperadrenocorticism: 2012 Acvim Consensus Statement (Small Animal). *J Vet Intern Med.* 2013; 27: 1292-1304.
- Bellumori T P, Famula T R, Bannasch D L, Belanger J M, Oberbauer A M. Prevalence of Inherited Disorders Among Mixed-Breed and Purebred Dogs: 27,254 Cases (1995–2010). *J Am Vet Med Assoc.* 2013; 242 (11): 1549-55.
- Bento P L, Center S A, Randolph J F, Yeager A E, Bicalho R C. Associations between sex, body weight, age, and ultrasonographically determined adrenal gland thickness in dogs with non–adrenal gland illness. *J Am Vet Med Assoc.* 2016; 248: 652–660.
- Bonadio C M, Feldman E C, Cohen T A, Kassa P H. Comparison of Adrenocorticotrophic Hormone Stimulation Test Results Started 2 Versus 4 Hours After Trilostane Administration in Dogs with Naturally Occurring Hyperadrenocorticism. *J Vet Intern Med.* 2014; 28 (4): 1239-43.

- 1 Boretti F S, Holzthüm J, Reusch C E, Sieber-Ruckstuhl N. S. Lack of
2 Association Between Clinical Signs and Laboratory Parameters in Dogs with
3 Hyperadrenocorticism Before and During Trilostane Treatment. Schweiz Arch
4 Tierheilkd. 2016; 158 (9): 631-38.
- 5 Braff J, Obare E, Yerramilli M, Elliott J, Yerramilli M. Relationship Between
6 Serum Symmetric Dimethylarginine Concentration and Glomerular Filtration
7 Rate in Cats. J Vet Intern Med. 2014; 28: 1699-1701.
- 8 Brown S A. Symmetric Dimethylarginine (Sdma): New Biomarker of Renal
9 Function in Cats and Dogs. International Renal Interest Society [Internet]. 2015
10 [Acesso em 09 Maio 2017]. Disponível Em: [http://Www.Iris-](http://Www.Iris-Kidney.Com/Emerging-Theme/Emerging_Theme_Index.Html)
11 [Kidney.Com/Emerging-Theme/Emerging_Theme_Index.Html](http://Www.Iris-Kidney.Com/Emerging-Theme/Emerging_Theme_Index.Html).
- 12 Brown S, Atkins C, Carr A, Cowgill L, Davidson M, Egner B, Elliott J, Henik R,
13 Labato M, Littman M, Polzin D, Ross L, Snyder P, Stepien R. Guidelines for the
14 Identification, Evaluation, and Management of Systemic Hypertension in Dogs
15 and Cats. J Vet Intern Med. 2007; 21 (3): 542-58.
- 16 Burkhardt W A, Boretti F S, Reusch C E, Sieber-Ruckstuhl N S. Evaluation of
17 Baseline Cortisol, Endogenous Acth, and Cortisol/Acth Ratio to Monitor
18 Trilostane Treatment in Dogs with Pituitary-Dependent Hypercortisolism. J Vet
19 Intern Med. 2013; 27 (4): 919-23.
- 20 Burkhardt W A, Guscetti F, Boretti F S, Ivos T A, Aldajarov N, Lutz T A, Reusch
21 C E, Sieber-Ruckstuhl N S. Adrenocorticotrophic Hormone, but not Trilostane,
22 Causes Severe Adrenal Hemorrhage, Vacuolization, and Apoptosis in Rats.
23 Domest Anim Endocrinol. 2011; 40 (3): 155-64.
- 24 Caragelasco D S, Kogika M M, Martorelli C R, Kanayama K K, Simões D M N.
25 Urine Protein Electrophoresis Study in Dogs with Pituitary Dependent
26 Hyperadrenocorticism During Therapy with Trilostane. Pesqui. Vet. Bras. 2017;
27 37 (7): 734-40.
- 28 Castilho V A, Gallelli M F. Corticotroph Adenoma in the Dog: Pathogenesis and
29 New Therapeutic Possibilities. Res Vet Sci. 2010; 88 (10): 26-32.

- 1 Cavalcante C Z, Kogika M M, Bacic A, Santoro M L, Miyashiro S I, Sault J P,
2 Oyafuso M K, Simões D M N. Avaliação da Albuminúria e da Eletroforese de
3 Proteínas Urinárias de Cães com Hiperadrenocorticismo e a Relação com a
4 Pressão Arterial Sistêmica. *Pesqui. Vet. Bras.* 2013; 33 (11): 1357-63.
- 5 Chen H-Y, Lien Y-H, Huang H-P. Association of Renal Resistive Index, Renal
6 Pulsatility Index, Systemic Hypertension, and Albuminuria with Survival in Dogs
7 with Pituitary-Dependent Hyperadrenocorticism. *Int J Endocrinol.* 2016: 1-7.
- 8 Chew D J, Dibartola S P, Schenck P A. Approach to Poliuria and Polydipsia. In:
9 Canine and Feline Nephrology and Urology. 2nd Ed. Riverport Lane: Elsevier
10 Saunders; 2011. P. 465-87.
- 11 Cho K D, Kang J H, Chang D, Na K J, Yang M. O. Efficacy of Low- and High-
12 Dose Trilostane Treatment in Dogs (< 5 Kg) with Pituitary-Dependent
13 Hyperadrenocorticism. *J Vet Intern Med.* 2013; 27 (1): 91-98.
- 14 Cho K D, Paek J, Kang J H, Chang D, Na K J, Yang M P. Serum Adipokine
15 Concentrations in Dogs with Naturally Occurring Pituitary-Dependent
16 Hyperadrenocorticism. *J Vet Intern Med.* 2014; 28 (2): 429-36.
- 17 Cook A K, Jambhekar A V, Dylewski A M. Gallbladder Sludge in Dogs:
18 Ultrasonographic and Clinical Findings in 200 Patients. *J Am Anim Hosp Assoc.*
19 2016; 54 (3): 125-31.
- 20 De Marco V. Hiperadrenocorticismo Canino. In: Jericó M M, Neto J P A, Kogika
21 M M. Tratado de Medicina Interna de Pequenos Animais. Rio De Janeiro: Roca;
22 2015a. P. 1691- 1720.
- 23 De Marco V, Carvalho L R, Guzzo M F, Oliveira P S L, Gomes L G, Mendonça
24 B B. An Activating Mutation in the Crhr1 Gene is Rarely Associated with
25 Pituitary-Dependent Hyperadrenocorticism in Poodles. *Clinics.* 2017; 72 (9):
26 575-81.
- 27 De Marco V, Rodrigo U, Matsumoto V, Machado F, Kahvegian M, Romaldini A,
28 Fernandes T, Soila R, Kage N, Viau P. Epidemiologic Study of Adrenal Tumors
29 in Dogs: 49 Cases (2012-2014). In: Proceedings of the 2015 Acvim Forum

Research Abstract Program; 2015b Jun 3-6; Indianapolis, Indiana, USA. J Vet Intern Med; 2015b; 29 (4): 1176.

Denton K M, Li M, Anderson W P, Withworth J A. Glomerular Hypertension and Hyperfiltration in Adrenocorticotrophin-Induced Hypertension in Rats: The Role of Nitric Oxide. J Hypertens. 2001; 19 (2): 327-34.

Del Palácio M J F. Risk Factors in Dogs and Cats for Development of Chronic Kidney Disease. International Renal Interest Society [Internet]. 2013 [Acesso em 09 Maio 2017]. Disponível em: http://Www.Iris-Kidney.Com/Education/Risk_Factors.Html.

Elliott J, Watson A D J. Overview of the Iris Staging System for CKD. International Renal Interest Society [Internet]. 2016 [Acesso em 09 Maio 2017]. Disponível em: http://Www.Iris-Kidney.Com/Education/Staging_System.Html.

Emrich I E, Zawada A M, Martens-Lobenhoffer J, Fliser D, Wagenpfeil S, Heine G H, Bode-Böger S M. Symmetric dimethylarginine (SDMA) outperforms asymmetric dimethylarginine (ADMA) and other methylarginines as predictor of renal and cardiovascular outcome in non-dialysis chronic kidney disease. Clin Res Cardiol. 2017; 1-13.

Feliers D, Lee D-Y, Gorin Y, Kasinath B S. Symmetric Dimethylarginine Alters Endotelial Nitric Oxide Activity in Glomerular Endotelial Cells. Cell Signal. 2015; 27: 1-5.

Fracassi F, Corradini S, Floriano D, Boari A, Aste G, Pietra M, Bergamini P F, Dondi F. Prognostic Factors for Survival in Dogs with Pituitary-Dependent Hypercortisolism Treated with Trilostane. Vet Rec. 2015a; 176: 49.

Fracassi F, Malerba E, Furlanello T, Caldin M. Urinary Excretion of Calcium and Phosphate in Dogs with Pituitary-Dependent Hypercortisolism: Case Control Study in 499 Dogs. Vet Rec. 2015b; 177:625.

Furrow E, Jaeger J Q, Parker V J, Hinchcliff K W, Johnson S E, Murdoch S J, De Boer I H, Scherding R G, Brunzell J D. Proteinuria and Lipoprotein Lipase

- 1 Activity in Miniature Schnauzer Dogs with and without Hypertriglyceridemia. Vet
2 J. 2016; 212: 83-89.
- 3 Galac S. Selecting The best Treatment Option for a Dog with Cushing`S
4 Syndrome. Acta Vet (Beogr). 2015; 65 (1): 1-19.
- 5 Galac S, Buijtelts J J C W M, Mol J A, Kooistra H S. Effects of Trilostane on the
6 Pituitary-Adrenocortical and Renin–Aldosterone Axis in Dogs with Pituitary-
7 Dependent Hypercortisolism. Vet J. 2010; 183: 75-80.
- 8 Goy-Thollot I, Péchereau D, Kéroack S, Dezempt J-C, Bonnet J-M.
9 Investigation of the role of Aldosterone in Hypertension Associated with
10 Spontaneous Pituitary-Dependent Hyperadrenocorticism in Dogs. J Small Anim
11 Pract. 2002; 43: 489-92.
- 12 Grauer G F. Proteinuria: Measurement and Interpretation. Topics in Compan An
13 Med. 2011; 26 (3): 121-7.
- 14 Griebisch C, Lehnert C, Williams G J, Failing K, Neiger R. Effect of Trilostane on
15 Hormone and Serum Electrolyte Concentrations in Dogs with Pituitary-
16 Dependent Hyperadrenocorticism. J Vet Intern Med. 2014; 28 (1): 160-5.
- 17 Gyebi L, Soltani Z, Reisin E. Lipid Nephrotoxicity: New Concept for an Old
18 Disease. Curr Hypertens Rep. 2012; 14 (2): 177-81.
- 19 Guess S C. Symmetric Dimethylarginine: a novel renal biomarker. Manhattan,
20 Kansas. Tese [Mestre em Ciências] - Kansas State University; 2016.
- 21 Harley H, Langston C. Proteinuria in Dogs and Cats. Can Vet J. 2012; 53 (6):
22 631-38.
- 23 Haentjens P, De Meirleir L, Abs R, Verhelst J, Poppe K, Velkeniers B.
24 Glomerular Filtration Rate in Patients with Cushing's Disease: A Matched Case-
25 Control Study. Eur J Endocrinol. 2005; 153 (6): 819-29.
- 26 Hall J A, Yerramilli M, Obare E, Yerramilli M, Almes K, Jewell D E. Serum
27 Concentrations of Symmetric Dimethylarginine and Creatinine in Dogs with

- 1 Naturally Occurring Chronic Kidney Disease. J Vet Intern Med. 2016; 30: 794-
2 802.
- 3 Hall J A, Yerramilli M, Obare E, Yerramilli M, Jewell D E. Comparison of Serum
4 Concentrations of Symmetric Dimethylarginine and Creatinine as Kidney
5 Function Biomarkers in Cats with Chronic Kidney Disease. J Vet Intern Med.
6 2014; 28:1676-83.
- 7 Hall J A, Yerramilli M, Obare E, Yerramilli M, Melendez L D, Jewell D E.
8 Relationship Between Lean Body Mass and Serum Renal Biomarkers in
9 Healthy Dogs. J Vet Intern Med. 2015; 29: 808-12.
- 10 Herrtage M E. Hiperadrenocorticism Canino. In: Mooney C T, Peterson M E.
11 Manual de Endocrinologia Canina e Felina. 3rd Ed. São Paulo: Roca; 2009. P.
12 181-205.
- 13 Hokamp J A, Nabity M B. Renal Biomarkers Indomestic Species. Vet Clin
14 Pathol. 2016; 45 (1): 28-56.
- 15 Javadi S, Kooistra H S, Mol J A, Boer P, Boer W H, Rijnberk A. Plasma
16 aldosterone concentrations and plasma renin activity in healthy dogs and dogs
17 with hyperadrenocorticism. Vet Record. 2003; 153: 521-525.
- 18 King J B, Morton J M. Incidence and Risk Factors for Hypoadrenocorticism in
19 Dogs Treated with Trilostane. Vet J. 2017; 230: 24-29.
- 20 Kim K-H, Han S-M, Jeon K-O, Kim H-T, Li Q, Ryu M-O, Song W-J, Park S-C,
21 Youn H-Y. Clinical Relationship between Cholestatic Disease and Pituitary-
22 Dependent Hyperadrenocorticism in Dogs: A Retrospective Case Series. J Vet
23 Intern Med. 2017; 31: 335-42.
- 24 Koh J M, Kim J Y, Chung Y E, Park J Y, Shong Y K, Hong S K, Kim G S, Lee K
25 U. Increased Urinary Albumin Excretion in Cushing's Syndrome: Remission
26 After Correction of Hypercortisolemia. Clin Endocrinol. 2000; 54: 349-53.
- 27 Kooistra H S, Galac S. Recent Advances in the Diagnosis of Cushing's
28 Syndrome in Dogs. Top Companion Anim Med. 2012; 27: 21-24.

- 1 Kubota E, Hayashi K, Matsuda H, Honda M, Tokuyama H, Okubo K, Naitoh M,
2 Arakawa K, Saruta T. Role of Intrarenal Angiotensin II in Glucocorticoid-Induced
3 Renal Vasodilation. *Clin Exp Nephrol*. 2001; 5: 186-92.
- 4 Langhorn R, Kieler I N, Koch J, Christiansen L B, Jessen L R. Symmetric
5 Dimethylarginine in Cats with Hypertrophic Cardiomyopathy and Diabetes
6 Mellitus. *J Vet Intern Med*. 2018; 32 (1): 57-63.
- 7 Lien Y-H, Hsiang T-Y, Huang H-P. Associations Among Systemic Blood
8 Pressure, Microalbuminuria and Albuminuria in Dogs Affected with Pituitary-
9 and Adrenal-Dependent Hyperadrenocorticism. *Acta Vet Scand*. 2010; 52 (61):
10 1-6.
- 11 Lourenço B, Hoffman J, Creevy K, Promislow D. Diagnosis of Canine
12 Hyperadrenocorticism is associated with Gender, Age, Breed, and Comorbid
13 Conditions. In: *Proceedings of the 2015 Acvim Forum Research Abstract*
14 *Program*; 2015b Jun 3-6; Indianapolis, Indiana, USA. *J Vet Intern Med*; 2015;
15 29 (4): 1173.
- 16 Martínez N I, Panciera D L, Abbott J A, Ward D L. Evaluation of Pressor
17 Sensitivity to Norepinephrine Infusion in Dogs with Iatrogenic
18 Hyperadrenocorticism – Pressor Sensitivity in Dogs with Hyperadrenocorticism.
19 *Res Vet Sci*. 2005; 78: 25-31.
- 20 Martins R C B, Jericó M M. Uso de baixa dose de ACTH sintético no teste de
21 estimulação da função adrenal para o diagnóstico e controle do
22 hiperadrenocortismo canino: avaliação da eficácia diagnóstica. *Pesq. Vet.*
23 *Bras*. 2017; 37 (3): 241-47.
- 24 Marynissen S J J, Smets P M Y, Ghys L F E, Paepe D, Delanghe J, Galac S,
25 Meyer E, Lefebvre H P, Daminet S. Long-Term follow-Up of renal Function
26 Assessing SerumcystatinC In dogs with Diabetes mellitus Or
27 hyperadrenocorticism. *Vet Clin Pathol*. 2016; 45 (2): 320-29.
- 28 Mélian C, Perez-Alenza M D, Peterson M E. Hiperadrenocorticism in Dogs. In:
29 *Ettinger S J, Feldman E C. Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases*

of the Dog and the Cat. 7th Ed. St. Louis: Elsevier Saunders; 2010. P. 1510-1547.

Miceli D D, Gallelli M F, Cabrera Blatter M F, Martiarena B, Brañas M M, Ortember L R, Gómez N V, Castilho V A. Low Dose of Insulin Detemir Controls Glycaemia, Insulinemia and Prevents Diabetes Mellitus Progression in the Dog with Pituitary-Dependent. *Res Vet Sci.* 2012; 93: 114-20.

Midence J N, Drobatz K J, Hess R S. Cortisol Concentrations in Well-Regulated Dogs with Hyperadrenocorticism Treated with Trilostane. *J Vet Intern Med.* 2015; 29: 1529-33.

Miller W H, Griffin C E, Campbell K L. Endocrine and Metabolic Diseases. In: Miller W H, Griffin C E, Campbell K I. *Muller & Kirk's Small Animal Dermatology.* 7th Ed. St. Louis: Elsevier Saunders; 2013. P. 501-511.

Mueller C, Sieber-Ruckstuhl N, Wenger M, Kaser-Hotz B, Reusch C E. Low-Dose Dexamethasone Test With 'Inverse' Results: A Possible New Pattern of Cortisol Response. *Vet Rec.* 2006; 159 (15): 489-91.

Nabity M B, Lees G E, Bogges M M, Yerrammili M, Obare E, Rakitin A, Aguiar J, Relford R. Symmetric Dimethylarginine Assay Validation, Stability, and Evaluation as a Marker for the Early Detection of Chronic Kidney Disease in Dogs. *J Vet Intern Med.* 2015; 29: 1036-44.

Nagata N, Kojima K, Yuki M. Comparison of Survival Times for Dogs with Pituitary-Dependent Hyperadrenocorticism in a Primary-Care Hospital: Treated With Trilostane versus Untreated. *J Vet Intern Med.* 2017; 31 (1): 22-28.

Nakayama S, Nishiyama M, Iwasaki Y, Shinahara M, Okada Y, Tsuda M, Okazaki M, Tsugita M, Taguchi T, Makino S, Stenzel-Poore M P, Hashimoto K, Terada Y. Corticotropin-Releasing Hormone (CRH) Transgenic Mice Display Hyperphagia with Increased Agouti-Related Protein mRNA in the Hypothalamic Arcuate Nucleus. *Endocr J.* 2011; 58 (4): 279-86.

- 1 Nelson R W. Water Metabolism and Diabetes Insipidus. In: Feldman E C,
2 Nelson R W, Reusch C E, Scott-Moncrieff C R, Behrend E N. Canine and
3 Feline Endocrinology. 4th Ed. Riverport Lane: Elsevier Saunders; 2015. P. 1-36.
- 4 Nelson R W, Couto C G. In: Medicina Interna de Pequenos Animais. 4th Ed. Rio
5 De Janeiro: Elsevier, 2010. p. 812-31.
- 6 Novellas R, De Gopegui R R, Espada Y. Determination of Renal Vascular
7 Resistance in Dogs with Diabetes Mellitus and Hyperadrenocorticism. The Vet
8 Rec. 2008; 163: 592-96.
- 9 O'Neill D G, Scudder C, Faire J M, Church D B, McGreevy P D, Thomson P C,
10 Brodbelt D C. Epidemiology of Hyperadrenocorticism among 210,824 Dogs
11 Attending Primary-Care Veterinary Practices in the Uk from 2009 to 2014. J
12 Small Anim Pract. 2016; 57 (7): 365-73.
- 13 Ortega T M, Feldman E C, Nelson R W, Cowgill L D. Systemic Arterial Blood
14 Pressure and Urine Proteine/Creatinine Ratio in Dogs with
15 Hyperadrenocorticism. J Am Vet Med Assoc. 1996; 209 (10): 1724-9.
- 16 Outerbridge C A. Cutaneous Manifestations of Internal Diseases. Vet Clin North
17 Am Small Anim Pract. 2013; 43: 135-52.
- 18 Pace S L, Creevy K E, Krimer P M, Brainard B M. Assessment of Coagulation
19 and Potential Biochemical Markers for Hypercoagulability in Canine
20 Hyperadrenocorticism. J Vet Intern Med. 2013; 27: 1113-20.
- 21 Patch D, Obare E, Prusevich P, Xie H, Yerrammilli M, Farace G, Cross J,
22 Yerrammilli M V. High Throughput Immunoassay for Kidney Function Biomarker
23 Symmetric Dimethylarginine (SDMA). In: Anais do 2015 Annual Meeting &
24 Clinical Lab Expo; 2015 Jul 28-29; Georgia, USA. Clinical chemistry; 2015; 61
25 (10): S135.
- 26 Pagani E, Tursi M, Lorenzi C, Tarducci A, Bruno B, Mondino E, Zanatta R.
27 Ultrasonographic Features of Adrenal Gland Lesions in Dogs Can aid in
28 Diagnosis. BMC Vet Res. 2016; 12: 267.

- 1 Pressler B M. Clinical Approach to Advanced Renal Function Testing in Dogs
2 and Cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2013; 43: 1193-1208.
- 3 Prusevich P, Patch D, Obare E, Cross J, Xie H, Yerrammilli M, Farace G,
4 Yerrammilli M V. Validation of a Novel High Throughput Immunoassay for the
5 Quantitation of Symmetric Dimethylarginine (SDMA). In: *Anais do 2015 Annual*
6 *Meeting & Clinical Lab Expo*; 2015 Jul 28-29; Georgia, USA. *Clinical chemistry*;
7 2015; 61 (10): S135.
- 8 Ramsey I K. Trilostane in Dogs. *Vet Clin Small Anim.* 2010; 40: 269-83.
- 9 Reine N J. Medical Management of Pituitary - Dependent
10 Hyperadrenocorticism: Mitotane versus Trilostane. *Topics in Companion Med.*
11 2012; 27: 25-30.
- 12 Relford R, Robertson J, Clements C. Symmetric Dimethylarginine: Improving
13 the Diagnosis and Staging of Chronic Kidney Disease in Small Animals. *Vet*
14 *Clin Small Anim.* 2016; 46: 941-60.
- 15 Reusch C E, Schellenber S, Wenger M. Endocrine Hypertension in Small
16 Animals. *Vet Clin Small Anim.* 2010; 40: 335-52.
- 17 Schellenberg S, Mettler M, Gentilini F, Portmann R, Glaus T M, Reusch C E.
18 The Effects of Hydrocortisone on Systemic Arterial Blood Pressure and Urinary
19 Protein Excretion in Dogs. *J Vet Intern Med.* 2008; 22: 273-81.
- 20 Schwedhelm E, Böger R H. The role of asymmetric and symmetric
21 dimethylarginines in renal disease. *Nat. Rev. Nephrol.* 2011; 7: 275–85.
- 22 Sieber-Ruckstuhl N S, Burkhardt W A, Hofer-Inteeworn N, Riond B, Rast I T,
23 Hofmann-Lehmann R, Reusch C E, Boretti F S. Cortisol Response in Healthy
24 and Diseased Dogs after Stimulation with a Depot Formulation of Synthetic
25 ACTH. *J Vet Intern Med.* 2015; 29: 1541-46.
- 26 Smets P, Lefebvre H P, Aresu L, Croubels S, Haers H, Piron K, Meyer E,
27 Daminet S. Renal function and morphology in aged Beagle dogs before and
28 after hydrocortisone administration. *Plos One.* 2012a; 7 (2): e31702.

- 1 Smets P M Y, Lefebvre H P, Meij B P, Croubels S, Meyer E, Van De Maele I,
2 Daminet S. Long-Term Follow-Up of Renal Function in Dogs after Treatment for
3 ACTH-Dependent Hyperadrenocorticism. *J Vet Intern Med.* 2012b; 26: 565-73.
- 4 Smets P M Y, Lefebvre H P, Kooistra H S, Meyer E, Croubels S, Maddens B E
5 J, Vandenabeele S, Saunders J H, Daminet S. Hypercortisolism affects
6 glomerular and tubular function in dogs. *Vet J.* 2012c; 192: 532-34.
- 7 Smets P, Meyer E, Maddens B, Daminet S. Cushing's syndrome,
8 glucocorticoids and the kidney. *Gen Comp Endocrinol.* 2010; 169: 1-10.
- 9 Soares F A, Matheus J P, Carvalho G L, Neuwald E B, Pöppel A G, Valle S F,
10 González F H D. Cardiocirculatory, biochemical and hemostatic evaluation of
11 dogs with hyperadrenocorticism at diagnosis and after treatment. *Korean J Vet*
12 *Res.* 2016; 56 (3): 161-66.
- 13 Soulsby S N, Holland M, Hudson J A, Behrend E N. Ultrasonographic
14 evaluation of adrenal gland size compared to body weight in normal dogs. *Vet*
15 *Radiol Ultrasound.* 2015; 56 (3): 317-26.
- 16 Tain Y-L, Hsu C-N. Toxic dimethylarginines: Asymmetric dimethylarginine
17 (ADMA) and Symmetric dimethylarginine (SDMA). *Toxins.* 2017; 9 (3): 92.
- 18 Watson A D J, Lefebvre H P, Elliott J. Using urine specific gravity. *International*
19 *Renal Interest Society* [internet]. 2015 [acesso em 23 jan 2018]. Disponível em:
20 <http://www.iris-kidney.com/emerging-theme/education/urinespecificgravity.html>.
- 21 Weese J S, Blondeau J M, Boothe D, Breitschwerdt E B, Guardabassi I, Hillier
22 A, Lloyd D H, Papich M G, Rankin S C, Turnidge J D, Sykes J. E. Antimicrobial
23 Use Guidelines for Treatment of Urinary Tract Disease in Dogs and Cats:
24 Antimicrobial Guidelines Working Group of the International Society for
25 Companion Animal Infectious Diseases. *Vet Med Int.* 2011; 1-9.
- 26 Woolcock A, Bugbee A C, Creevy K E. Evaluation of baseline cortisol
27 concentration to monitor efficacy of twice-daily administration of trilostane to
28 dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism: 22 cases (2008–2012). *J*
29 *Am Vet Med Assoc.* 2016; 246: 814-21.

- 1 Wong C, Epstein S E, Westropp J L. Antimicrobial Susceptibility Patterns in
2 Urinary Tract Infections in Dogs (2010–2013). J Vet Intern Med. 2015; 29 (4):
3 1045-52.
- 4 Xenoulis P G, Steiner J M. Lipid metabolism and hyperlipidemia in dogs. Vet J.
5 2010; 183: 12-21.
- 6 Zini E, Berlanda M. Hyperadrenocorticism in dogs and cats. In: Gram W D,
7 Milner R J, Lobetti R, editores. Chronic Disease Management for Small
8 Animals. 1st ed. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc.; 2018. P. 169-174.
- 9 Zur G, White S. Hyperadrenocorticism in 10 Dogs with Skin Lesions as the Only
10 Presenting Clinical Signs. J Am Anim Hosp Assoc. 2011; 47: 419-27.

ANEXOS

Anexo 1: Protocolo de Aprovação do Comitê de Ética para Uso de Animais em Pesquisa



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comissão de Ética em Pesquisa no Uso de Animais



Curitiba, 22 de junho de 2017.

PARECER DE PROTOCOLO DE PESQUISA

REGISTRO DO PROJETO: 01123 / 01123A / 01123B – 2ª versão

TÍTULO DO PROJETO: AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DA DIMETILARGININA SIMÉTRICA EM CÃES COM HIPERADRENOCORTICISMO ESPONTÂNEO

TÍTULO DO PROJETO A: ÍNDICE DE RESISTIVIDADE RENAL EM CÃES COM HIPERADRENOCORTICISMO ESPONTÂNEO PROTE

TÍTULO DO PROJETO B: PROTEÍNURIA NO HIPERADRENOCORTICISMO ESPONTÂNEO

PESQUISADOR RESPONSÁVEL

Marconi Rodrigues de Farias

EQUIPE DE PESQUISA

Rayane Sol Amaral Silva Sgabossa, Carolina Zaghi Cavalcante, Andressa Froese de Souza, Rafaela Scuthier Muzzi, Ubirajara Iobe Tasqueti

INSTITUIÇÃO

Pontifícia Universidade Católica do Paraná

ESCOLA / CURSO

Escola de Ciências da Vida / Medicina Veterinária

VIGÊNCIA DO PROJETO	06/2017 a 03/2018	QUANTIDADE DE ANIMAIS	60
ESPECIE/LINHAGEM	<i>Canis lupus familiaris</i>	Nº SISBIO (Somente animais de vida livre)	Não se aplica
SEXO	M/F	ATIVIDADES (Somente animais de vida livre)	Não se aplica
IDADE / PESO	Variados, exceto para o grupo controle que será acima de 8 anos	ESPECIE – GRUPO TAXONÔMICOS (de vida livre)	Não se aplica
ORIGEM DO ANIMAL	Proprietários Particulares	LOCAL (IS) (Somente animais de vida livre)	Não se aplica

O colegiado da CEUA certifica que este protocolo que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto homem), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794/2018 e Decreto nº 6.899/2009, e com as normas editadas pelo CONCEA e foi **APROVADO** pela CEUA - PUCPR em reunião de colegiado no dia **22.06.2017**.

Se houver mudança do protocolo o pesquisador deve enviar um relatório à CEUA descrevendo de forma clara e sucinta, a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas. Se a pesquisa, ou parte dela for realizada em outras instituições, cabe ao pesquisador não iniciar antes de receber a autorização formal para a sua realização.

O documento que autoriza o início da pesquisa deve ser carimbado e assinado pelo responsável da instituição e deve ser mantido em poder do pesquisador responsável, podendo ser requerido por esta CEUA em qualquer tempo.

Rua Imaculada Conceição, 1155 Prado Velho CEP 80.215-901 Curitiba Paraná Brasil
Telefone: (41) 3271-2292 www.pucpr.br



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comissão de Ética em Pesquisa no Uso de Animais

Lembramos ao pesquisador que é **obrigatório** encaminhar qualquer **alteração** no protocolo de pesquisa e o **Relatório Final** a esta CEUA.

Atenciosamente,
Prof. Dr. Sérgio Luiz Rocha
Coordenador
Comissão de Ética no Uso de Animais



Rua Imaculada Conceição, 1155 Prado Velho CEP 80.215-901 Curitiba Paraná Brasil
Telefone: (41) 3271-2292 www.pucpr.br

Anexo 2: Normas para Publicação no Periódico Journal of Small Animal Practice.

Author Guidelines - J Small Anim Pract.

FORMAT AND STRUCTURE OF MANUSCRIPTS:

Manuscripts should be headed with the full title, which should describe accurately the subject matter. JSAP operates a system of double-blinded review. Therefore, authors should avoid including within the text the name of the institution at which the work was performed and initials of the authors; institution names must be removed from illustrations to maintain anonymity. All material published in JSAP must adhere to high ethical, welfare and data protection standards. Work performed outside the UK must still comply with the UK Veterinary Surgeons Act or would reasonably be expected to gain a UK Home Office licence if performed in the UK. For a series of cases that have been treated in a similar manner authors should consider whether the information is best presented as a Case Report or as an Original Article. On the whole, the decision depends on how important it is for readers to see the clinical details for each individual animal.

Title page

A title page is needed for all manuscript types, it must contain the title of the paper, names and qualifications of all authors, affiliations and full mailing address including e-mail addresses, and contact telephone number of corresponding author. No author details are to be submitted in the manuscript. In addition details of any acknowledgements should be given on the title page. The title page must also contain details of the source(s) of support in the form of grants, equipment, drugs or all of these.

Original Articles:

Each paper should comprise the following sections:

Structured Summary – concise, <250 words, divided, under separate headings, into Objectives, Methods, Results, and a brief (2 sentence) statement explaining the impact of the work on small animal primary care or referral clinical practice. The Summary should not contain non-standard abbreviations or acronyms.

Keywords – maximum of five, for use as metadata for online searching.

Introduction – description of closely related work which has lead up to the current study plus statement of rationale and objectives.

Materials and Methods – clear description of experimental and statistical methods and procedures (in sufficient detail to allow others to reproduce the work, or provision of references that contain appropriate method descriptions).

Results – stated concisely, and in logical sequence, with tables or figures as appropriate. Avoid duplication between tables, figures and text. Use text to draw attention to details that might not be readily apparent in figures and tables.

Discussion – concise and focused with emphasis on new and important implications of the results and how these relate to other studies.

STYLE OF MANUSCRIPTS:

Writing should conform to UK English, and acceptable English usage must be presented within the manuscript. Where abbreviations are used, the word or phrase must be given in full on the first occasion. Abstracts should not contain any abbreviations or acronyms. If you are not a native English speaker, it is recommended that you have your manuscript professionally edited before submission. [Click here](#) for a list of companies suggested by Wiley-Blackwell that will edit your manuscript for a fee. All Manuscripts must be double-spaced for the purpose of peer reviewing. All units of measurement should be given in the metric system or in SI units. Temperatures should be in °C. Drugs should be referred to by Recommended International Non-Proprietary Name, followed by proprietary name and manufacturer in brackets when first mentioned, eg, fenbendazole (Panacur; Intervet). Anatomical terminology should conform to the nomenclature published in the Nomina Anatomica Veterinaria (1983) 3rd edn. Eds R. E. Habel, J. Frewein and W. O. Sack. World Association of Veterinary Anatomists, Ithaca, New York.

Length

Whilst there is no specified maximum length for submitted manuscripts, it is expected that authors will be concise. It is expected that manuscripts of original research reports will be less than 5000 words in total (excluding abstract and references) and review articles less than 6000 words. Authors should indicate the word count at the beginning of the manuscript.

Tables and Figures

The minimum number of tables and figures necessary to clarify the text should be included and should contain only essential data. *Note:* Tables and Figures must not be submitted within the manuscript (main document) file, but must be uploaded as separate files. Image files submitted during the peer-review process must be in digital format, not a format for publication. For the peer-review process to be completed, please submit files in RGB format.

Statistical analysis

Authors must describe the rationale for statistical testing; for prospective studies this will be clearly apparent and inseparable from the research question. For analysis of retrospective data the rationale and hypothesis must be clearly stated, along with the pre-defined study question and analytical methods. Authors should consider whether statistical analysis aids in interpretation of data and is not necessarily required in any but prospective studies.

Image Guidelines for JSAP

General Considerations

The purpose of an image in a scientific publication is to demonstrate a feature that cannot be as effectively described with text. Select images that illustrate the point you are trying to make. Images should be cropped to a level that focuses on the illustrated feature, while still including a minimum of features that allow anatomical region identification for the reader. Images should be presented in the colour scale they were originally obtained. For most diagnostic imaging modality images, this will be a greyscale image without any colour hue. The label of an image should not exactly replicate the text passage it was indexed in, but should be more specific than the text.

Image format

Figure legends must be given at the end of the manuscript. Sufficient information should be included to allow the figure to be understood without reference to the text. Poor quality images may be removed from a manuscript and where critical to the content may lead to rejection of a manuscript. All illustrations (line drawings, photographs, and photomicrographs) are classified as figures. Figures should be numbered using Arabic numerals, and cited in consecutive order in the text. Each figure should be supplied as a separate file, with the figure number incorporated in the file name.

Preparation of Electronic Figures for Publication: Although low quality images are adequate for review purposes, publication requires high quality images to prevent the final product being blurred or fuzzy. Submit EPS (line art) or TIFF (halftone/photographs) files only. MS PowerPoint and Word Graphics are unsuitable for printed pictures. Do not use pixel-oriented programmes. Scans (TIFF only) should have a resolution of 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size. EPS files should be saved with fonts embedded (and with a TIFF preview if possible). For scanned images, the scanning resolution (at final image size) should be as follows to ensure good reproduction: line art: >600 dpi; half-tones (including gel photographs): >300 dpi; figures containing both halftone and line images: >600 dpi. More advice on figures can be found at Wiley's guidelines for preparation of figures: <http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>. Check your electronic artwork before submitting it: <https://authorservices.wiley.com/bauthor/eachecklist.asp>.

Graphs

To ensure high-quality reproduction, symbols should be clear and even throughout and of sufficient size, that when reduced for publication, each item will still be legible. Letters, Numbers and Titles belong in the legends for illustrations, not on the illustrations themselves. However the A, B, C legends will be transposed onto image by typesetters. When symbols, arrows, numbers or letters are used to identify parts of the illustrations, identify and explain each one clearly in a key. Symbols and arrows identifying specific structures must "touch" these

structures, and not be beside them. The symbol size should be sufficiently big to display well on a 4" x 3" format. Where possible, dot plots (jittered if necessary) are preferred to box-and-whisker or bar charts, especially when animal number is <30.

Tables

These should be limited to those containing data important to understanding and interpreting results and reducing or clarifying the text. Type each table (single line spacing) into a separate document. Number tables consecutively in the order of the first citation in the text and supply a brief title for each. Give each column a short or abbreviated heading. Place explanatory material in footnotes, not in the heading. Explain in the footnotes all non-standard abbreviations that are used in each table.

Checklist for authors:

Area of interest (particularly when arrowed!) is visible on printed image;

Arrows used to point out areas of interest if unusual/ difficult to see;

Image is of sufficient size to clearly show lesion – normally recommend image at least 1.5-2 column width;

Radiographs and other diagnostic images correctly orientated (standard viewing orientation eg DV images presented with left on right side etc);

Radiographs presented greyscale (not colour tinted);

All personal info of client etc removed from images;

No ungloved hands to be visible in surgical images;

Ensure graph axis and lines are labelled and if multiple lines that symbols are easily distinguishable;

Identify statistical measures of variations such as standard deviation and standard error of the mean;

Ensure that each table is cited in the text;

If you use data from another published or unpublished source obtain written permission and acknowledge fully;

Data in table legible;

Tables not to cross 2 pages;

These guidelines were prepared in conjunction with those published in Veterinary Dermatology which were written by Dr Joan Rest and Professor M. D. McGavin. JSAP gratefully acknowledges their permission to incorporate their guidelines. Additional information on production of high quality images for diagnostic imaging modalities was provided by Dr Tobias Schwartz.

REFERENCES

The JSAP takes the Harvard form of reference style. When references are cited in the text, the name of the author and the year should be in brackets, e.g., (Smith 1980). If the author's name is an integral part of the sentence, the date only is placed in brackets, e.g., as reported by Smith (1980). For more than two authors, (Smith *et al.* 1980) should be used. Where several references are quoted together, they should be placed in chronological order as they are referred to in the text but alphabetical of the first author's name. The reference list at the end of the paper should be set out as follows: Staudte, K. L., Hopper, B. J., Gibson, N. R., *et al.* (2004) Use of ultrasonography to facilitate surgical removal of non-enteric foreign bodies in 17 dogs. *J Small Anim Pract.* 45, 395-400. References to books should be listed as follows: Ford, R. B. (1995) Canine hyperlipidaemia. In: Textbook of Veterinary Internal Medicine. 4th edn. Eds S. J. Ettinger and E. C. Feldman. W. B. Saunders, Philadelphia. pp 1414-1419. Conference proceeding abstracts should be listed as follows: Hill, J. R. (2000) Nodular cutaneous dirofilariasis in a cat. Proceedings of the International Society of Veterinary Dermatopathology. August 30 to 31, San Francisco, USA. pp 6-7. Websites should be listed as follows: Author's names and initials (or organisation name), year, website address and the date on which it was accessed.

For example: Animal and Plant Health Inspection Service (2003) <http://www.aphis.usda.gov/lpa/issues/bse/bse.html> [accessed 24 February 2005]. *Please note that the final formatting of references e.g. capitalisation of author's names, will be performed by the typesetter

PEER REVIEW PROCESS

All articles submitted to the journal may be pre-reviewed by the editor and/or the editorial board to ensure they conform to the above guidelines and all submitted manuscript may undergo rapid screening review prior to, or in place of, full peer review. Manuscripts that fail to meet the above requirements may be rejected or will not be sent for review; authors may be asked to resubmit in an appropriate format. *JSAP* reserves the right to reject any manuscript. Manuscripts that enter the peer review process will be examined by at least two expert reviewers. Those approved by the reviewers are accepted for publication subject to the authors addressing all editorial and production concerns. Manuscripts are processed in the order they are received. However, at the editor's discretion, papers of particular merit may be 'fast-tracked' for early publication; original articles will take precedence over case reports. Authors should allow up to three months for initial scientific and editorial assessment of submitted manuscripts, but manuscript progress can be tracked online.

Clinical research assessment and guidance panel

The protocol for proposed studies can be submitted for peer review by a panel convened for this purpose. This panel may offer suggestions for changes in study design and analysis. Upon approval of the study design and analysis plan there will be an assumption that, if the study is carried out according to the approved protocol, the finished article will be accepted for publication. Nevertheless, each such submitted article will be subject to – an accelerated - peer-review.

APPEAL OF DECISIONS

The Editor's decision is final. However, authors who wish to appeal any decision on their submitted manuscript may do so by e-mailing jsap.editor@bsava.com with a detailed explanation of their concerns. If there are concerns regarding the Editor those concerns should be addressed to BSAVA,

FINAL PROOFS

The corresponding author will receive an e-mail alert containing a link to a website. A working e-mail address must therefore be provided for the corresponding author. The proof can be downloaded as a PDF (portable document format) file from this site. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the following website: <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>. This will enable the file to be opened, read on screen and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof. Corrections must be returned to the typesetter at jsap@laserwords.com within 3 days of receipt; authors are requested to fax corrected proofs or minor corrections can be advised by email ensuring that the journal title, paper reference number and corresponding author name are quoted in the body of the message. Authors should note that corrections should be marked as clearly as possible and kept to a minimum.