

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

FERNANDA NASTRI GOUVÊA

CORRELAÇÃO ENTRE CORTISOL PÓS-ACTH, VARIÁVEIS DIAGNÓSTICAS E A
POSOLOGIA DO TRILOSTANO EM CÃES PORTADORES DE HIPERCORTISOLISMO
ACTH DEPENDENTE

Uberlândia
2022

FERNANDA NASTRI GOUVÊA

CORRELAÇÃO ENTRE CORTISOL PÓS-ACTH, VARIÁVEIS DIAGNÓSTICAS E A
POSOLOGIA DO TRILOSTANO EM CÃES PORTADORES DE HIPERCORTISOLISMO
ACTH DEPENDENTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre Ciências Veterinárias

Área de concentração: Clínica Médica e Investigação Etiológica

Orientadora: Profa. Dra. Sofia Borin-Crivellenti

Uberlândia
2022

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

G719 2022	<p>Gouvea, Fernanda Nastri, 1993- Correlação entre cortisol pós-ACTH ao diagnóstico, espessura adrenal e a posologia do trilostano em cães portadores de hipercortisolismo pituitário dependente [recurso eletrônico] / Fernanda Nastri Gouvea. - 2022.</p> <p>Orientadora: Sofia Borin-Crivellenti. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Ciências Veterinárias. Modo de acesso: Internet. Disponível em: http://doi.org/10.14393/ufu.di.2022.38 Inclui bibliografia. Inclui ilustrações.</p> <p>1. Veterinária. I. Borin-Crivellenti, Sofia, 1983-, (Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.</p>
--------------	--

CDU: 619

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Secretaria da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências
Veterinárias

BR 050, Km 78, Campus Glória, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
Telefone: (34) 2512-6811 - www.ppgcv.famev.ufu.br - mesvet@ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	CIÊNCIAS VETERINÁRIAS				
Defesa de:	DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO PPGCVET Nº 001/2022				
Data:	11 de janeiro de 2022	Hora de início:	08:00	Hora de encerramento:	10:30
Matrícula do Discente:	12012MEV005				
Nome do Discente:	FERNANDA NASTRI GOUVÊA				
Título do Trabalho:	Correlação entre cortisol pós-ACTH, variáveis diagnósticas e a posologia do trilostano em cães portadores de hipercortisolismo ACTH dependente				
Área de concentração:	SAÚDE ANIMAL				
Linha de pesquisa:	INVESTIGAÇÃO ETIOLÓGICA				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Avaliações clínicas, epidemiológicas, diagnósticas e terapêuticas das moléstias clínicas dos animais domésticos				

Reuniu-se por Videoconferência (meio eletrônico), da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, assim composta: Professores Doutores: Carolina Franchi João - FAMEV-UFU; Alan Gomes Pöppel - UFRGS; Sofia Borin Crivellenti - FAMEV-UFU orientadora da candidata.

Iniciando os trabalhos a presidente da mesa, Dr(a). Sofia Borin Crivellenti, apresentou a Comissão Examinadora e o candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado(a).

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Sofia Borin Crivellenti, Professor(a) do Magistério Superior**, em 11/01/2022, às 10:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Carolina Franchi João, Professor(a) do Magistério Superior**, em 11/01/2022, às 10:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Álan Gomes Pöpl, Usuário Externo**, em 11/01/2022, às 11:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 3287012 e o código CRC 2F75668F.

AGRADECIMENTOS

Baseado na abundância de amor, força, resiliência e oportunidades que recebo constantemente, minha eterna gratidão será sempre à Jesus, pois independente das suas formas e interpretações, Ele está sempre em minha vida, me permitindo ser alguém melhor a cada dia.

Agradeço à minha amada mãe Fátima Natri, que jamais hesitou em me apoiar e seguir com meus propósitos, e ao meu pai Miguel Gouvêa, que desde cedo me ensinou a amar os animais e andar pelo caminho da verdade. Agradeço ao meu irmão Fábio, minhas tias Maria Aparecida, Gecilda e Gerseli, meus primos Damarys e Rafael pelo carinho e zelo, é uma honra compartilhar a minha vida e conquistas com todos vocês. Aos meus cunhados de vida e consideração Thais, Bruno e Fernanda agradeço por serem pessoas que torcem por mim e compartilham da minha alegria. Aos meus sogros Laura Regina dos Santos e Lucas Pennacchi, deixo minha gratidão pelo apoio nos momentos difíceis que vivi no início da maternidade e final de mestrado. Obrigada por serem parte da minha rede de apoio.

Em especial, dedico meu esforço e conquistas à minha querida e eternamente amada avó Izaura Natri, a mulher mais forte que a vida me apresentou. Aos meus pequeninos sobrinhos Vinicius, Benício, Eduardo, Samuel e Rafaela que tornam minha vida mais alegre. Falando em alegria, deixo meu amor e gratidão aos peludos e plumados Floquinho, Mag, Tony Rodriguez, Toddy, Zequinha, Nina, Lola, Babaloo, Kiko e Suzi pelos seus latidos, “cui-cuis” e piadas, pois eles me permitiram sentir o sabor de amar, respeitar e zelar pela vida, ainda quando criança.

Gratidão à Ma. Alessandra Vargas por ter contribuído diretamente na decisão de trilhar pela endocrinologia veterinária, da mesma forma, obrigada por todas as oportunidades que me foram dadas, inclusive participar como colaboradora deste projeto. Serei eternamente grata a você e ao Dr. André Luis S. Santos.

Agradeço pela oportunidade de ser orientada por uma das pessoas que mais me inspiram na profissão, a professora Dra. Sofia Borin Crivellenti. Ao longo da nossa trajetória, sempre transpareci meu carinho e admiração, mas hoje quero agradecer imensamente pelos aprendizados, lições, tarefas e tudo que vivemos (mesmo com o distanciamento social). Essa possibilidade me devolveu o sonho de contribuir para uma medicina veterinária melhor, e poder mostrar ao mundo o meu amor pela endocrinologia veterinária. Ao meu querido “padrinho” científico, professor Dr. Leandro Zuccolotto Crivellenti deixo carinhosamente um

enorme apreço e admiração por você. Obrigada por confiar no meu trabalho e contribuir para minha evolução profissional e pessoal. Junto desses grandes profissionais, aproveito para agradecer imensamente pela paciência e atenção do professor Dr. Ednaldo Carvalho Guimarães. Suas orientações e sugestões contribuíram imensamente para o desenvolvimento deste trabalho.

Muito obrigada à Universidade Federal de Uberlândia, especialmente ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPCVET-UFU) que me acolheu nesta instituição, a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo incentivo à pesquisa e ao Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária (HV-FAMEV), que contribuiu imensamente para o meu aprimoramento profissional acadêmico e prático na rotina da endocrinologia. Não deixo de incluir minhas parceiras da endocrinologia Luana Branco, Paula Barbosa e Hévila Dutra, pois sou grata por compartilharmos conhecimentos, risos e angústias durante a pós-graduação.

Por último e longe de ser menos importante, meus agradecimentos ao meu colega veterinário, amigo, parceiro e amor Caio Pennacchi, por acreditar em mim e nos meus sonhos. Obrigada por cruzar horizontes ao meu lado, se reinventar por nós e trazer a sua paz para a nossa jornada. Finalizo e dedico este trabalho ao meu novo motivo de viver, minha amada filha Marcela Nastri Gouvêa Pennacchi. Em meio à turbulência da rotina, você me mostrou que basta ter fé e lembrar que os anjos da luz olham e cuidam de nós.

“Crê em ti mesmo, age e verás os resultados. Quando te
esforças, a vida também se esforça para te ajudar.”

Chico Xavier

“A vida é construída nos sonhos e concretizada no amor.”

Chico Xavier

RESUMO

O trilostano é considerado uma ótima terapia para o controle do hipercortisolismo pituitário dependente (HPD) em cães. Divergências posológicas associadas ao risco de hipocortisolismo iatrogênico têm causado atraso no controle da doença e na necessidade da realização de uma sequência de testes hormonais de custo e tempo relativamente elevados para ajuste da dose, uma vez que a maior parte dos indivíduos acaba requerendo acréscimos para atingir o controle do hipercortisolismo. A falta de perspectivas terapêuticas mais concretas gera ansiedade em toda equipe envolvida com o tratamento do paciente, quando não a desistência do tratamento ou a não realização do correto protocolo de ajuste de doses por parte dos tutores, pondo em xeque a eficácia do tratamento e a saúde do paciente. Baseado no fato de que o teste de estimulação com ACTH fornece informação a respeito da capacidade de resposta das adrenais a um estímulo para secreção de cortisol, este trabalho teve como objetivo correlacionar o valor do cortisol pós-ACTH no diagnóstico de HPD com a dose final de trilostano necessária para atingir o controle do cortisol endógeno em cães, supondo que quanto maior a concentração sérica de cortisol pós-ACTH, maior a dose de trilostano necessária para controlar a doença. Para isso, 67 prontuários de cães portadores de HPD tiveram os dados dos exames laboratoriais, de imagem e valor de cortisol ao diagnóstico tabulados e correlacionados com a dose requerida para atingir normocortisolemia. A análise de odds evidenciou que para cada unidade de acréscimo na espessura do polo caudal adrenal direito dentro das categorias estabelecidas de acordo com as faixas de peso, tem-se 8,861 vezes mais chance do paciente apresentar valores de cortisol pós-ACTH ≥ 27 ao diagnóstico. De maneira independente, cães que possuem cortisol pós-ACTH ≥ 27 $\mu\text{g/dL}$ também no diagnóstico têm 33,5% mais chances de necessitarem de doses mais altas de trilostano para controlar o hipercortisolismo. Logo, o cortisol pós-ACTH possui correlação tanto com o tamanho da glândula adrenal direita, quanto com a dose final de trilostano para o controle do HPD em cães.

Palavras-chave: Adrenomegalia; Síndrome de Cushing; Teste de estimulação por ACTH

ABSTRACT

Trilostane is considered a great therapy to manage canine pituitary-dependent hypercortisolism (PDH). Dosage divergences associated with the risk of iatrogenic hypocortisolism have caused delays in disease control and the need to perform a sequence of hormonal tests with a relatively high cost and time for dose adjustment, since most individuals end up requiring additions to achieve control of hypercortisolism. The lack of more concrete therapeutic perspectives generates anxiety in the entire team involved with the patient's treatment, when the tutors give up the treatment or do not carry out the correct dose adjustment protocol, jeopardizing the effectiveness of the treatment and the patient's health. Based on the fact that the ACTH stimulation test provides information about the ability of the adrenals to respond to a stimulus for cortisol secretion, this study aimed to correlate the post-ACTH cortisol value in the diagnosis of HPD with the final dose of trilostane needed to achieve endogenous cortisol control in dogs, assuming that the higher the post-ACTH serum cortisol concentration, the higher the dose of trilostane needed to control the disease. For this, 67 medical records of dogs with HPD had the data from laboratory tests, imaging and cortisol value at diagnosis tabulated and correlated with the dose required to achieve normocortisolemia. The odds analysis showed that for each unit of increase in the thickness of the right caudal adrenal pole within the categories established according to weight ranges, there is 8.861 times more chance of the patient to have post-ACTH cortisol values ≥ 27 at diagnosis. . Independently, dogs that have post-ACTH cortisol ≥ 27 $\mu\text{g}/\text{dL}$ also at diagnosis are 33.5% more likely to need higher doses of trilostane to control hypercortisolism. Therefore, post-ACTH cortisol correlates with both the size of the right adrenal gland and the final dose of trilostane for the control of HPD in dogs.

Keywords: Adrenomegaly; Cushing's syndrome; ACTH stimulation test.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Representação de algumas manifestações clínicas observadas em cães com hipercortisolismo.....	15
-----------------	---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

17HP	17-hidroxiprogesterona
3 β -HSD	3 β -hidroxiesteroide desidrogenase
ACTH	Corticotrofina
ALT	Alanina aminotransferase
FA	Fosfatase alcalina
GGT	Gama glutamiltransferase
HAD	Hiperadrenocorticismo adrenal dependente
HC	Hipercortisolismo
HPD	Hiperadrenocorticismo pituitário dependente
TEACTH	Teste de estimulação por ACTH
TSBDD	Teste de supressão com baixa dose de dexametasona
US	Ultrassonografia abdominal

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1	Hipercortisolismo canino	15
2.1.1	Classificação e tipos de hipercortisolismo	15
2.1.2	Assinalamentos e sinais clínicos	15
2.1.3	Achados clínico-laboratoriais.....	16
2.1.4	Exames de imagem.....	17
2.1.5	Testes hormonais para diagnóstico	18
2.1.6	Tratamento medicamentoso do hipercortisolismo ACTH dependente	19

CAPÍTULO 2

	REFERÊNCIAS	19
1	ARTIGO	24
	ANEXO 1 – NORMAS DA REVISTA.....	35

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

O hipercortisolismo (HC) canino é uma síndrome endócrina secundária aos efeitos crônicos de altos níveis de glicocorticoides no organismo, que acabam desencadeando diversos efeitos metabólicos no indivíduo acometido (ESVE, 2021).

A abordagem terapêutica varia de acordo com a origem do distúrbio e, até o momento, o trilostano é considerado uma opção segura para o tratamento de cães com hipercortisolismo pituitário dependente (HPD) (BRADDOCK et al., 2003; SANDERS; KOOISTRA; GALAC, 2018). Devido as divergências na posologia recomendada pela literatura, optar por iniciar com doses maiores expõe o paciente ao risco de induzir hipoadrenocorticismos iatrogênico, porém, utilizar menores concentrações pode demandar mais tempo e investimento para atingir o controle clínico do HC (RAMSEY, 2010; LEMETAYER; BLOIS, 2018).

Dentre os principais métodos diagnósticos que confirmam HC o teste de supressão com baixa dose de dexametasona (TSBDD) não traz nenhuma informação a respeito da capacidade de resposta das adrenais a um estímulo para secreção de cortisol, diferente do observado no teste de estimulação por ACTH (TEACTH) (GILOR; GRAVES, 2011). Frente à essas questões, esta pesquisa hipotetizou que indivíduos com maior capacidade de resposta ao TEACTH, ou seja, que apresentam maiores concentrações de cortisol pós-ACTH ao diagnóstico, requerem maiores doses de trilostano para se atingir o controle da doença. Neste contexto, a influência de outros parâmetros laboratoriais e diagnósticos também foram avaliados.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Hipercortisolismo canino

2.1.1 Classificação e tipos de hipercortisolismo

O hipercortisolismo (HC) é um distúrbio endócrino que desencadeia manifestações multissistêmicas secundárias à exposição exacerbada e crônica aos glicocorticoides (ESVE, 2021). Este quadro se desenvolve a partir dos desequilíbrios nos hormônios contrarregulatórios do cortisol, incluindo o aumento da corticotrofina (ACTH) na adeno-hipófise, produção exacerbada de cortisol pelas adrenais ou em tecidos ectópicos e, também, frente à administração exógena de glicocorticoides (BENNAIM; SHIEL; MOONEY, 2019; SOLER-ARIAS et al., 2021).

É caracterizado como HC pituitário dependente (HPD) aquele indivíduo que possui o aumento da produção deste hormônio de forma autônoma, quando comparada aos níveis circulantes de cortisol. Geralmente está associado a presença de um adenoma hipofisário (GALAC et al., 2005; BENNAIM; SHIEL; MOONEY, 2019). As demais formas espontâneas incluem a presença de neoplasia na glândula adrenal (HAD) ou então de origem alimentar, sendo a última extremamente rara (GALAC et al., 2008). Geralmente o HPD corresponde a cerca de 80-85% dos casos, enquanto o HAD, apenas 15-20% (BEHREND et al., 2013).

2.1.2 Assinalamentos e sinais clínicos

O HC é considerado uma das endocrinopatias mais comuns da rotina clínica e acomete cães de idade média a avançada, com média de 9 a 11 anos (GALLELLI; CABRERA-BLATTER; CASTILHO, 2010). Algumas literaturas referem que as fêmeas tendem a ser mais predispostas, porém ainda há controvérsias (BEHREND et al., 2013).

Cerca de 75% do desenvolvimento de HPD está relacionado ao acometimento de raças com até 20 kg, ao passo que quase 50% dos cães com HAD apresentam mais de 20 kg (BEHREND, 2015). As raças mais acometidas incluem os Poodles miniaturas, Dachshund, Bassett hound, Yorkshire terrier, Pastor Alemão e Boxers (LING et al., 1979; HOFFMAN et al., 2018; MARTINS et al., 2019).

As manifestações clínicas mais frequentes incluem poliúria, polidipsia, polifagia, alopecia endócrina (poupando cabeça e membros; figura 1A e 1B), hepatomegalia que leva à distensão abdominal (figura 1C), ofegância, atrofia muscular e hipertensão arterial sistêmica. Alguns cães apresentam comedões, hiperpigmentação (figura 1D), telangiectasia e estrias

(figura 1E) (ARENAS et al., 2014; BENNAIM; SHIEL; MOONEY, 2019; ZUR; WHITE, 2011). Também é possível observar alterações como depósito de lipídeos (figura 1F) e/ou cálcio na córnea (LAUS et al., 2002).



Figura 1. Diversas manifestações clínicas observadas em cães com hipercortisolismo. A) Alopecia concentrada em tronco, que poupa cabeça e membros; B) Alopecia de cauda também presente na alopecia endócrina; C) Aumento de volume abdominal devido à hepatomegalia e infiltrado gorduroso; D) Hiperpigmentação cutânea e comedões em região de abdômen; E) Moderado acúmulo de estrias e telangiectasia abdominal. Importante evidência de vasos cutâneos; F) Depósito de lipídeo corneano. Fonte: arquivo pessoal e Serviço de Endocrinologia Clínica do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia.

2.1.3 Achados clínico-laboratoriais

O HC canino desencadeia inúmeras consequências clínicas, metabólicas e laboratoriais no indivíduo portador. Tal fato ocorre principalmente devido aos efeitos glicogênicos, catabólicos e imunossupressores do cortisol, que se encontra em excesso na circulação (FERGUSON; IRVIN; CHERNIACK, 1990; BEHREND, 2015).

Diversas alterações laboratoriais podem ser encontradas no hemograma, perfil hepático, renal e urinálise de cães com HC espontâneo ou iatrogênico (GILOR; GRAVES, 2011). A presença de eritrocitose é justificada pelo efeito direto do cortisol na medula óssea, mas também pode ser secundária a hipóxia crônica associada à fraqueza dos músculos respiratórios, tromboembolismo e desidratação, muitas vezes combinada com a obesidade (BERRY et al., 2000; BENNAIM; SHIEL; MOONEY, 2019). Ainda no hemograma, também é possível observar o leucograma de estresse (leucocitose sem desvio à esquerda, eosinopenia,

linfopenia, neutrofilia e monocitose) e trombocitose (METZGER; REBAR, 2012; BENNAIM et al., 2018).

No perfil de bioquímica sérica hepática pode ser encontrado aumento da atividade da fosfatase alcalina (FA), principalmente a isoforma induzida por esteroides, alanina aminotransferase (ALT) e outros componentes referentes ao sistema hepatobiliar, como gama glutamiltransferase (GGT). Essas alterações costumam vir acompanhadas de comorbidades como hiperplasia nodular hepática, hepatopatia esteroideal e mucocele biliar e, portanto, não estão associadas ao grau de evolução do HC (GILOR; GRAVES, 2011; SMALLE; CAHALANE; KÖSTER, 2015). De forma semelhante, o cortisol leva ao aumento dos triglicérides e colesterol (PETERSON, 2007). Segundo Bennaïm et al., (2019), a FA e a ALT apresentaram correlação positiva com os sinais clínicos, de tal forma que quanto mais intensas forem as manifestações, mais elevadas as atividades dessas enzimas.

Ao exame de urinálise, são observadas principalmente redução da densidade urinária (com isostenúria ou até mesmo hipostenúria), porém, sob restrição hídrica parcial, é possível notar aumento da concentração urinária, revelando inibição relativa da vasopressina devido ao cortisol (PETERSON, 2007; GILOR; GRAVES, 2011).

2.1.4 Exames de imagem

Os exames de imagem, principalmente a ultrassonografia abdominal (US), contribuem consideravelmente para consolidar a suspeita de HC. Entretanto, o diagnóstico não pode ser instituído apenas com base nestas ferramentas (PETERSON, 2007; BEHREND et al., 2013).

A partir da US, Melián e colaboradores (2021) padronizaram intervalos de referência para adrenais de cães de acordo com suas respectivas faixas de peso. Durante o exame, é possível detectar adrenomegalia de uma ou ambas as glândulas. No HPD há estímulo contínuo das adrenais pelo ACTH e, portanto, classicamente é observado hiperplasia bilateral das mesmas. Já nos cães portadores de HAD devido a neoplasia adrenal, são notadas irregularidades em uma das glândulas associado a atrofia da contralateral, e até mesmo alteração do parênquima e de estruturas adjacentes (COOK; SPAULDING; EDWARDS, 2014). É relevante considerar que a ausência de adrenomegalia não descarta a suspeita de HC em cães (PETERSON, 2007; BEHREND et al., 2013).

A US também possibilita ver a morfologia das adrenais, avaliar seu parênquima, considerar neoformações e possibilidade de metástases (PETERSON, 2007). Da mesma forma, observar outros órgãos que comumente se alteram na presença de HC, tais como o fígado pelo infiltrado gorduroso e/ou hiperplasia nodular hepática (GILOR; GRAVES, 2011),

vesícula biliar (SMALLE; CAHALANE; KÖSTER, 2015), possibilidade de urólitos e calcificação de tecidos moles (SWIETON, 2018).

A radiografia permite realizar uma avaliação mais restrita do ponto de vista da inspeção do parênquima dos órgãos, mas é possível observar mineralização bronquial e de tecidos moles, hepatomegalia e osteopenia, quando presente (HERRTAGE, 2009). Em contrapartida, os exames de ressonância magnética e tomografia computadorizada apresentam elevada acurácia para analisar tanto as glândulas adrenais e demais órgão abdominais, quanto a adeno-hipófise (KIPPERMAN et al., 1992; PETERSON, 2007).

2.1.5 Testes hormonais para diagnóstico

O diagnóstico é instituído pela soma das manifestações clínicas, exames laboratoriais de triagem e testes hormonais confirmatórios, sendo a supressão com baixa dose de dexametasona (TSBDD) e estimulação com ACTH (TEACTH) os mais utilizados e recomendados (RISTIC et al., 2002; BEHREND et al., 2013; LEMETAYER; BLOIS, 2018).

O TSBDD possui maior sensibilidade para diagnosticar HC em cães, principalmente quando o indivíduo testado possui maior suspeita de HPD (BENNAIM; SHIEL; MOONEY, 2019), e devido à melhor acurácia, este é considerado o padrão ouro (BEHREND et al., 2013). O teste consiste na aplicação de 0,01-0,015 mg/kg de dexametasona, via intravenosa, para que este glicocorticoide passe a suprimir a secreção de ACTH, considerando a fisiologia de indivíduos saudáveis. As coletas para avaliação do cortisol são feitas imediatamente antes da aplicação, 4 e 8 horas após. Cães que apresentam cortisol $\geq 1,4 \mu\text{g/dL}$ ($\geq 40 \text{ nmol/L}$) são classificados como portadores de HC (GILOR; GRAVES, 2011).

Como alternativa diagnóstica, o TEACTH pode ser realizado. Nele é feito a aplicação de ACTH sintético na dose de 5 $\mu\text{g/kg}$, via intravenosa ou intramuscular. As coletas de sangue para determinar o cortisol também são realizadas imediatamente antes da aplicação e uma hora após a mesma (ALDRIDGE et al., 2016). Cães saudáveis submetidos a administração de doses supra fisiológicas de ACTH apresentam cortisol pós estímulo por volta de 10 $\mu\text{g/dL}$ ($\geq 300 \text{ nmol/L}$), enquanto aqueles com HC tendem a apresentar uma resposta exacerbada e superior a 20-22 $\mu\text{g/dL}$ ($\geq 600 \text{ nmol/L}$) (PETERSON, 2007).

Parte da população canina apresenta manifestações clínicas e exames de triagem compatíveis com HC, entretanto, não possuem testes hormonais convencionais evidenciando hipercortisolismo (RISTIC et al., 2002). Mesmo frente à várias controvérsias sobre esse grupo de pacientes, até o momento eles ainda são classificados como HC atípico (BEHREND; KENNIS, 2010). O diagnóstico é instituído a partir da dosagem de um precursor do cortisol, a

17-hidroxiprogesterona (17HP) após a aplicação de ACTH sintético (RISTIC et al., 2002; GILOR; GRAVES, 2011).

Independente do teste utilizado para diagnóstico, é imprescindível diferenciar a origem do HC, uma vez que a abordagem terapêutica e prognóstico são divergentes em cada caso (SANDERS; KOOISTRA; GALAC, 2018).

2.1.6 Tratamento medicamentoso do hipercortisolismo ACTH dependente

O trilostano é um fármaco classificado como inibidor competitivo da enzima 3 β -hidroxiesteroide desidrogenase, que atua de forma dose dependente e reversível. A 3 β -HSD converte a pregnenolona em progesterona, essencial para a síntese de cortisol (NEIGER et al., 2002; LEMETAYER; BLOIS, 2018). Este é considerado uma terapia segura para cães portadores de HPD (BRADDOCK et al., 2003; RAMSEY, 2010) por ser seguro e eficaz para a maioria dos pacientes (NEIGER et al., 2002).

Há diversas recomendações referentes a posologia do trilostano. Segundo as orientações do fabricante, a dose recomendada é de 2,2 a 6,6 mg/kg/dia (VETORYL, 2019), enquanto que há outros estudos que reportam doses iniciais variando de 0,2 a 20 mg/kg/dia (NEIGER et al., 2002; BRADDOCK et al., 2003; VAUGHAN et al., 2008; FELDMAN, 2011; CHO et al., 2013) e parece ser prudente iniciar com doses menores, pois levam ao controle a longo prazo e evitam os efeitos colaterais (FELDMAN, 2011; LEMETAYER; BLOIS, 2018). Já aos portadores de HAD, a adrenalectomia é preferencialmente indicada, dado que há excisão da neoplasia produtora de cortisol (BEHREND et al., 2013).

A monitoração e o ajuste de dose do tratamento medicamentoso são feitos por meio da avaliação dos sinais clínicos do paciente e exames laboratoriais, associados à uma série de TEACTH (BRADDOCK et al., 2003; VAUGHAN et al., 2008).

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. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 30, n. 5, p. 1637–1641, 2016. <https://doi.org/10.1111/jvim.14528>

ARENAS, C.; MELIÁN, C.; PÉREZ-ALENSA, M. D. Long-term survival of dogs with adrenal-dependent hyperadrenocorticism: a comparison between mitotane and twice daily trilostane treatment. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 28, n. 2, p. 473-480, 2014. <https://doi.org/10.1111/jvim.12303>

BEHREND, E. N. Canine hyperadrenocorticism. In: FELDMAN, E. C.; NELSON, R. W.; REUSCH, C. E.; SCOTT-MONCRIEFF, S. C. (Eds.) **Canine and Feline Endocrinology**. 4th ed. WB Saunders, Philadelphia, PA, 2015, p. 377-451. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-4456-5.00010-9>

BEHREND, E. N.; KENNIS, R. Atypical Cushing's Syndrome in dogs: arguments for and against. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 40, n. 2, p. 285–296, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2009.11.002>

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). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, n. 6, p. 1292–1304, 2013. <https://doi.org/10.1111/jvim.12192>

BENNAIM, M.; CENTOLA, S.; RAMSEY, I.; SETH, M. Clinical and clinicopathological features in dogs with uncomplicated spontaneous hyperadrenocorticism diagnosed in primary care practice (2013-2014). **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 55, n. 4, p. 178–186, 2019. <https://doi.org/10.5326/JAAHA-MS-6789>

BENNAIM, M.; SHIEL, R. E.; FORDE, C.; MOONEY, C. T. Evaluation of individual low-dose dexamethasone suppression test patterns in naturally occurring hyperadrenocorticism in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n.3, 967–977, 2018. <https://doi.org/10.1111/jvim.15079>

BENNAIM, M.; SHIEL, R. E.; MOONEY, C. T. Diagnosis of spontaneous hyperadrenocorticism in dogs. Part 1: Pathophysiology, aetiology, clinical and clinicopathological features. **Veterinary Journal**, v. 252, p. 105342, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2019.105342>

BERRY, C. R.; HAWKINS, E. C.; HURLEY, K. J.; MONCE, K. Frequency of pulmonary mineralization and hypoxemia in 21 dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 14, n. 2, p. 151–156, 2000. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2000.tb02229.x>

BRADDOCK, J. A.; CHURCH, D. B.; ROBERTSON, I. D.; WATSON, A. D. J. Trilostane treatment in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. **Australian Veterinary Journal**, v. 81, n. 10, p. 600–607, 2003. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2003.tb12498.x>

CHO KD, KANG JH, CHANG D, NA KJ, YANG MP. Efficacy of low and high-dose trilostane treatment in dogs (< 5 kg) with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, n.1, p. 91–98, 2013. <https://doi.org/10.1111/jvim.12007>

COOK, A.; SPAULDING, A.; EDWARDS, J. Clinical findings in dogs with incidental adrenal gland lesions determined by ultrasonography: 151 cases (2007 – 2010). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 244, n. 10, p. 1181-1185, 2014. <https://doi.org/10.2460/javma.244.10.1181>

ESVE. European Society of Veterinary Endocrinology. Disponível em: <<https://www.esve.org/alive/search.aspx>>. Acesso: 13 de janeiro 2022.

FELDMAN E. C. Evaluation of twice-daily lower-dose trilostane treatment administered orally in dogs with naturally occurring hyperadrenocorticism. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 238, n. 11, p. 1441–1451, 2011. <https://doi.org/10.2460/javma.238.11.1441>

FERGUSON, G. T.; IRVIN, C. G.; CHERNIACK, R. M. Effect of corticosteroids on respiratory muscle histopathology. **The American Review of Respiratory Disease**, v. 142, n. 5, p. 1047–1052, 1990. <https://doi.org/10.1164/ajrccm/142.5.1047>

GALAC, S.; KARS, V. J.; VOORHOUT, G.; MOL, J. A.; KOOISTRA, H. S. ACTH-independent hyperadrenocorticism due to food-dependent hypercortisolemia in a dog: A case report. **Veterinary Journal**, v. 177, p. 141-143, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.04.008>

GALAC, S.; KOOISTRA, H. S.; VOORHOUT, G.; VAN-DEN-INGH, T. S. G. A. M.; MOL, J. A.; VAN-DEN-BERG, G.; MEIJ, B. P. Hyperadrenocorticism in a dog due to ectopic secretion of adrenocorticotrophic hormone. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 28, p. 338-48, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2004.11.001>

GALLELLI, M. F.; CABRERA-BLATTER, M. F.; CASTILLO, V. A comparative study by age and gender of the pituitary adenoma and ACTH and alpha-MSH secretion in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. **Research in Veterinary Science**, v. 88, n. 1, p. 33-40, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2009.06.011>

GILOR, C.; GRAVES, T. K. Interpretation of laboratory tests for canine cushing's syndrome. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 26, n. 2, p. 98–108, 2011. <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2011.03.001>

HERRTAGE, M. E. Hiperadrenocorticismo Canino. In: MOONEY, C. T.; PETERSON, M. E. **Manual de Endocrinologia Canina e Felina**. 3a ed. São Paulo: ROCA, 2009, p. 181-206.

HOFFMAN, J. M.; LOURENÇO, B. N.; PROMISLOW, D.; CREEVY, K. E. Canine hyperadrenocorticism associations with signalment, selected comorbidities and mortality within North American veterinary teaching hospitals. **The Journal of small animal practice**, v. 59, n. 11, p. 681–690, 2018. <https://doi.org/10.1111/jsap.12904>

KIPPERMAN, B. S.; FELDMAN, E. C.; DYBDAL, N. O.; NELSON, R. W. Pituitary tumor size, neurologic signs, and relation to endocrine test results in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism: 43 cases (1980-1990). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 201, n. 5, p. 762–767, 1992.

LAUS, J. L.; DOS SANTOS, C.; TALIERI, I. C.; ORIÁ, A. P.; BECHARA, G. H. Combined corneal lipid and calcium degeneration in a dog with hyperadrenocorticism: a case report. **Veterinary ophthalmology**, v. 5, n. 1, p. 61–64, 2002. <https://doi.org/10.1046/j.1463-5224.2002.00209.x>

LEMETAYER, J.; BLOIS, S. Update on the use of trilostane in dogs. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 59, n. 4, p. 397–407, 2018.

- LING, G. V.; STABENFELDT, G. H.; COMER, K. M.; GRIBBLE, D. H.; SCHECHTER, R. D. Canine hyperadrenocorticism: pretreatment clinical and laboratory evaluation of 117 cases. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 174, n. 11, p. 1211-1215, 1979.
- MARTINS, F. S. M.; CARVALHO, G. L. C.; JESUS, L.; PÖPPL, A. G.; GONZÁLEZ, F. H. D. Aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais em uma série de cães com hiperadrenocorticismo: 115 casos (2010-2014). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 39, n. 11, p. 900-908, 2019. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-6105>
- MELIÁN, C.; PÉREZ-LÓPEZ, L.; SAAVEDRA, P.; RAVELO-GARCÍA, A. G.; SANTOS, Y.; JABER, J. R. Ultrasound evaluation of adrenal gland size in clinically healthy dogs and in dogs with hyperadrenocorticism. **The Veterinary Record**, v. 188, n. 8, p. e80, 2021. <https://doi.org/10.1002/vetr.80>
- METZGER, F. L.; REBAR, A. H. Clinical Pathology Interpretation in Geriatric Veterinary Patients. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 42, n. 4, p. 615–629, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2012.04.004>
- NEIGER, R.; HURLEY, K. J.; RAMSEY, I.; O'CONNOR, J.; MOONEY, C. T. Trilostane treatment of 78 dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. **Veterinary Record**, v. 150, n. 26, p. 799–804, 2002. <https://doi.org/10.1136/vr.150.26.799>
- PETERSON, M. E. Diagnosis of Hyperadrenocorticism in Dogs. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 22, n. 1, p. 2–11, 2007. <https://doi.org/10.1053/j.ctsap.2007.02.007>
- RAMSEY, I. K. Trilostane in dogs. **Veterinary Clinics of North America – Small Animal Practice**, v. 40, n.2, p. 269–283, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2009.10.008>
- RISTIC, J. M. E.; RAMSEY, I. K.; HEATH, E.; EVANS, H. J.; HERRTAGE, M. E. The Use of 17-Hydroxyprogesterone in the diagnosis of canine Hyperadrenocorticism. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 16, n. 4, p. 433–439, 2002. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2002.tb01261.x>
- SANDERS, K.; KOOISTRA, H. S.; GALAC, S. Treating canine Cushing's syndrome: current options and future prospects. **The Veterinary Journal**, v. 241, p. 42-51, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.09.014>
- SMALLE, T. M.; CAHALANE, A. K.; KÖSTER, L. S. Gallbladder mucocoele: A review. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 86, n. 1, p. 1318, 2015. <https://doi.org/10.4102/jsava.v86i1.1318>
- SOLER-ARIAS, E. A.; CASTILLO, V. A.; LOUISET, E.; LEFEBVRE, H. Cushing's syndrome caused by intra-adrenocortical adrenocorticotrophic hormone in a dog [published online ahead of print, 2021 Dec 3]. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 2021. <https://doi.org/10.1111/jvim.16320>
- SWIETON, N. Urinary calculi in a shih tzu dog with hyperadrenocorticism. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 59, n. 8, p. 905–907, 2018.

VAUGHAN, M. A.; FELDMAN, E. C.; HOAR, B. R.; NELSON, R. W. Evaluation of twice-daily, low-dose trilostane treatment administered orally in dogs with naturally occurring hyperadrenocorticism. **Journal of the American Medical Association**, v. 232, n , p. 1321–1328, 2008. <https://doi.org/10.2460/javma.232.9.1321>

VETORYL (trilostano): comprimido. Food and Drug Administration.: **Dechra Veterinary Products**, 2019. 1 bula de remédio. 1 p. Disponível em: https://dechra-us.com/Files/Files/SupportMaterialDownloads/US/O1IN-VET21005-0421-VetorylFullLegal0919.pdf?_ga=2.220266651.2089842058.1640973503-1366709693.1640973503. Acesso em: 31 dez. 2021.

ZUR, G.; WHITE, S. D. Hyperadrenocorticism in 10 dogs with skin lesions as the only presenting clinical signs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 47, n. 6, p. 419–427, 2011. <https://doi.org/10.5326/JAAHA-MS-5623>

1 CAPÍTULO 2

3 **1 ARTIGO**

5 **CORRELAÇÃO ENTRE CORTISOL PÓS-ACTH, VARIÁVEIS DIAGNÓSTICAS E**
 6 **A POSOLOGIA DO TRILOSTANO EM CÃES PORTADORES DE**
 7 **HIPERCORTISOLISMO ACTH DEPENDENTE**

9 **Resumo**

10 O trilostano é considerado uma terapia segura para o controle do hipercortisolismo pituitário
 11 dependente (HPD) em cães. Doses mais elevadas cursam com o risco de hipocortisolismo
 12 iatrogênico, entretanto, condutas mais conservadoras podem acarretar atraso no controle desta
 13 doença, uma vez que a maior parte dos indivíduos acaba requerendo acréscimos na posologia.
 14 Baseado no fato de que o teste de estimulação com ACTH fornece informação a respeito da
 15 capacidade de resposta das adrenais a um estímulo para secreção de cortisol, este trabalho
 16 teve como objetivo correlacionar o valor do cortisol pós-ACTH no diagnóstico de HPD com a
 17 dose de trilostano necessária para atingir o controle das manifestações clínicas e do cortisol
 18 endógeno em cães, supondo que quanto maior a concentração sérica de cortisol pós-ACTH,
 19 maior a dose de trilostano necessária para controlar a doença. Para isso, 67 prontuários de
 20 cães portadores de HPD submetidos à terapia com Vetoryl[®], tiveram os dados dos exames
 21 laboratoriais, de imagem e valor de cortisol ao diagnóstico tabulados e correlacionados com a
 22 dose requerida para atingir cortisol entre 2 e 7 µg/dL e controle das manifestações clínicas. A
 23 análise de Odds evidenciou que para cada unidade acrescida na espessura do polo caudal
 24 adrenal direito dentro das faixas de peso estabelecidas, tem-se 8,861 vezes mais chance do
 25 paciente apresentar valores de cortisol pós-ACTH ≥ 27 ao diagnóstico. De maneira
 26 independente, cães que possuem cortisol pós-ACTH ≥ 27 µg/dL também no diagnóstico têm
 27 33,5% mais chances de necessitarem de doses mais elevadas de trilostano para controlar os
 28 efeitos do hipercortisolismo. Logo, o cortisol pós-ACTH possui correlação tanto com o
 29 tamanho da glândula adrenal direita, quanto com a dose final de trilostano para o controle do
 30 HPD em cães.

32 **Palavras-chave:** adrenomegalia; síndrome de Cushing; Teste de estimulação por ACTH.

34 **1. Introdução**

35 O hipercortisolismo (HC) canino é uma doença endócrina secundária aos efeitos
 36 crônicos de altos níveis de glicocorticoides no organismo [1], cuja fisiopatogenia abrange
 37 distúrbios hormonais de origem hipofisária, adrenal, tecidual ectópica ou iatrogênica,
 38 decorrente da administração exógena excessiva de glicocorticoides [2-4]. Diante do
 39 prognóstico e da abordagem terapêutica serem bastante distintos em cada caso, é

40 imprescindível se ter conhecimento das modalidades e ferramentas diagnósticas que
41 conduzem a diferenciação da origem do HC [5].

42 O trilostano é considerado atualmente uma ótima terapia para controle do HC por
43 disfunção hipofisária, o chamado hipercortisolismo pituitário dependente (HPD) [6,7].
44 Supreendentemente, até o momento a posologia do fármaco originalmente patenteado
45 (Vetoryl[®]) difere significativamente da literatura atual, sendo superior em praticamente todas
46 as situações já descritas [8-11]. Diante desta constatação, dois padrões terapêuticos são
47 geralmente observados: maior chance de hipocortisolismo iatrogênico diante de protocolos
48 utilizando inicialmente doses diárias mais elevadas [6,12], contra a demora em se atingir o
49 controle satisfatório do hipercortisolismo diante de protocolos que se iniciam com doses mais
50 reduzidas e espaçadas.

51 Levando-se em consideração que o trilostano pode desencadear um quadro de
52 hipocortisolismo, sendo esta uma condição extremamente indesejável e grave [7], parece ser
53 mais prudente e preferível pela maioria dos veterinários que a terapia com trilostano seja
54 iniciada com baixa dose e fracionadas [13,14]. A questão é que a maior parte dos indivíduos
55 acaba requerendo acréscimos para atingir o controle do HC [15], o que implica em atraso no
56 controle da doença e na realização de uma sequência de testes hormonais de custo e tempo
57 relativamente elevados para ajuste de dose [16,17]. Tais situações acabam, pela falta de
58 perspectivas terapêuticas mais concretas, gerando ansiedade em toda equipe envolvida com o
59 tratamento do paciente, quando não a desistência do tratamento ou da realização do correto
60 protocolo de ajuste de doses por parte dos tutores, pondo em xeque a eficácia do tratamento e
61 a saúde do paciente.

62 Dentre os principais métodos diagnósticos que confirmam HC, o teste de supressão
63 com baixa dose de dexametasona (TSBDD) não traz nenhuma informação a respeito do
64 quanto as adrenais estão reativas às descargas de ACTH hipofisário, diferente do observado

65 no teste de estimulação por ACTH (TEACTH) [18]. Baseado nesta ferramenta e nas
66 divergências posológicas do trilostano, este trabalho objetivou correlacionar o valor do
67 cortisol pós-ACTH diagnóstico de HPD com a dose final de trilostano necessária para atingir
68 o controle satisfatório das manifestações clínicas, bem como do cortisol endógeno em cães,
69 partindo da hipótese de que quanto maior a concentração sérica de cortisol pós-ACTH ao
70 diagnóstico, maior a dose de trilostano necessária para controlar a doença.

71

72 **2. Material e métodos**

73

74 *2.1. Desenho experimental e fontes de informação*

75 Este estudo observacional longitudinal retrospectivo não controlado foi conduzido a
76 partir do levantamento de prontuários eletrônicos de pacientes caninos atendidos na clínica
77 veterinária especializada em endocrinologia - Endocrinovet, São Paulo/SP, no período de
78 julho de 2009 a maio de 2021.

79

80 *2.2 Critérios de elegibilidade e seleção*

81 Foram considerados elegíveis pacientes caninos portadores de hiperadrenocorticismos
82 pituitário dependente (HPD) submetidos ao TEACTH durante a investigação diagnóstica,
83 segundo os critérios estabelecidos pelo Consenso para Diagnóstico de Hiperadrenocorticismos
84 Espontâneo do Colégio Americano de Medicina Veterinária Interna - ACVIM [19]. Um total
85 de 10.117 prontuários eletrônicos, contendo todos os pacientes atendidos ao longo dos anos,
86 foram submetidos ao filtro contendo os termos “HC + pituitário + dependente” e, após
87 exclusão de repetições (originadas do primeiro atendimento e respectivos retornos), 170
88 prontuários encaixaram-se no perfil de elegibilidade. Foram excluídos a partir de então
89 caninos que tiveram o diagnóstico do HPD confirmado somente pelo TSBDD; que já haviam

90 sido tratados previamente para a desordem endócrina; que tivessem adrenal(is) com > 2 cm de
91 polo, atrofias adrenocorticais contralaterais, destruição da arquitetura normal do(s) tecido(s)
92 glandular(es) ou a combinação desses achados à ultrassonografia como indícios HC adrenal
93 dependente (HAD), devido à um tumor adrenal, bem como pacientes que apresentaram pouca
94 ou nenhuma melhora nos sinais clínicos e/ou exames laboratoriais de seguimento da doença
95 associados a um cortisol pós-ACTH > 7 µg/dL [20].

96 De acordo com os critérios de elegibilidade e fatores de exclusão, foram selecionados
97 os pacientes com HPD que tiveram seu diagnóstico estabelecido pelo TSBBD¹ associado a
98 realização do T₄ACTH² e que, posteriormente, obtiveram o controle satisfatório do
99 hipercortisolismo por meio de terapia medicamentosa com trilostano (cortisol pós-ACTH
100 entre 2 e 5 µg/dL e/ou clara melhora nos sinais clínicos e dos exames laboratoriais associados
101 a um cortisol pós-ACTH ≤ 7 µg/dL), resultando em 67 prontuários correspondentes ao perfil
102 procurado.

103

104 *2.3 Compilação de dados*

105 Foram tabuladas variáveis epidemiológicas referentes a idade (anos), sexo, estado
106 reprodutivo, raça, peso (kg) e escore corporal (1-9) [21], parâmetros clínicos laboratoriais
107 hematológicos, bioquímicos sanguíneos [ureia, creatinina, alanina aminotransferase (ALT),
108 fosfatase alcalina (FA), 17-hidroxiprogesterona (17HP), triglicérides e colesterol],
109 mensurações ultrassonográficas das glândulas adrenais (comprimento e espessura dos polos
110 craniais e caudais em cm), cortisol basais e pós-ACTH no momento do diagnóstico do HPD,
111 assim como os dados referentes a terapia com trilostano empregada para cada paciente.

¹ Aplicação de dexametasona 0,01 mg/kg, via intravenosa. Coleta de cortisol basal, 4 e 8 horas após dexametasona.

² Aplicação de corticotrofina sintética (Synacthen®) 5 mcg/kg, via intravenosa. Coleta de cortisol basal e uma hora após a corticotrofina.

112 Os TEACTH foram realizados no mesmo local, sendo interpretados a partir dos
113 valores de corte instituídos pelo laboratório veterinário de referência utilizado pela clínica
114 (Laboratório Provet, Medicina Veterinária Diagnóstica, São Paulo, SP, Brasil), o qual
115 considera valores de 17 a 22 $\mu\text{g/dL}$ como suspeitos para HC, e valores $\geq 22 \mu\text{g/dL}$ como
116 compatíveis com hipercortisolismo. Os pacientes que tiveram o cortisol pós-ACTH dentro da
117 faixa considerada suspeita para HC, também foram submetidos a mensuração de 17HP pós-
118 ACTH (precursor do cortisol), sendo incluídos no estudo aqueles que apresentassem
119 resultados superiores ao valor de referência, também instituídos pelo laboratório veterinário
120 Provet, respeitando o sexo e estado reprodutivo (machos castrados 2,6 ng/mL e inteiros 2,8
121 ng/mL; fêmeas castradas 1,6 ng/mL e inteiras 4,4 ng/mL).

122 Todos os 67 cães deste estudo foram submetidos à terapia específica com trilostano
123 (Vetoryl[®]), com doses iniciais que variaram aproximadamente de 0,5-1 mg/kg a cada 12 ou
124 24 horas (Ramsey, 2010), que foram ajustadas ao longo do tratamento até a obtenção do
125 controle satisfatório do hipercortisolismo por meio da resposta ao TEACTH que ocorreram,
126 em média, mensalmente. Como forma de padronização dos dados, as doses do trilostano
127 foram convertidas em doses totais diárias (mg/cão/dia) para comparação dos dados.

128

129 *2.4 Análises estatísticas*

130 Estatísticas descritivas [média \pm desvio padrão para as variáveis quantitativas e
131 mediana (valores mínimo e máximo) para as variáveis qualitativas] e distribuições de
132 frequência e percentagens foram geradas para todas as variáveis e apresentadas de acordo com
133 a pertinência.

134 Inicialmente submetidas aos testes de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e
135 Shapiro-Wilk, as doses totais diárias de trilostano e os valores dos cortisóis pós-ACTH no
136 momento do diagnóstico e de quando se obteve o controle do hipercortisolismo foram

137 comparadas por meio do teste não paramétrico pareado de Wilcoxon. A comparação entre os
138 tamanhos das adrenais ao diagnóstico foi realizada pelo teste *t* a partir dos pontos de corte
139 determinados por Melián e colaboradores [22], o qual considera valores de normalidade para
140 as medidas dos polos adrenais caudais de acordo com uma faixa de peso estabelecida (polo
141 esquerdo medindo 0,51 cm, 0,55 cm e 0,64 cm e polo direito com 0,53 cm, 0,68 cm e 0,75 cm
142 para cães de 2,5 a 5 kg, 5 a 10 kg e maiores que 10 até 20 kg, respectivamente).

143 Os coeficientes de correlação Pearson (paramétrico) e Spearman (não paramétrico)
144 foram utilizados para investigar possíveis correlações entre a dose total final diária de
145 trilostano e demais parâmetros analisados.

146 Na avaliação de Odds, que foi feita com base em um modelo de regressão logística
147 simples avaliou o quanto a alteração de uma unidade em variáveis independentes afeta a dose
148 total final do trilostano para controle da doença. As análises estatísticas foram feitas nos
149 programas GraphPad Prisma 6 (GraphPad Software, Inc., CA, EUA) e SPSS [23], sendo
150 adotada a significância de 5% para todos os testes.

151

152 **3. Resultados**

153

154 Os 67 animais incluídos neste estudo apresentaram idade média de $9,4 \pm 2,2$ anos no
155 momento do diagnóstico do HPD, sendo este representado por 67,2% de fêmeas (45/67) e
156 32,8% de machos (22/67). Foi possível observar 11 (16,4%) indivíduos das raças Shih-Tzu,
157 Poodle e Dachshund, seguido de oito Yorkshires (12%), sete (10,5%) Malteses e mestiços,
158 quatro (5,9%) Schnnauzer Miniaturas e Lhasa-Apsos e apenas um (1,5%) representante das
159 raças Bichon Frisé, Fox Paulistinha, Scottish Terrier e Spitz Alemão.

160 Grande parte dos pacientes ($n=52$; 77,6%) apresentou cortisolóis pós-ACTH
161 compatíveis com hipercortisolismo clássico ($> 22 \mu\text{g/dL}$), variando de $29,95 \pm 6,81 \mu\text{g/dL}$

162 (22,26 – 49,35 µg/dL). Os demais (n=15; 22,4%), que apresentaram cortisolós pós-ACTH
163 suspeitos para HC no momento do diagnóstico (entre 16 e 22 µg/dL), tiveram valores
164 confirmatórios de 17HP pós-ACTH com mediana de 5,46 ng/mL (mín. 2,8; máx. 7,19) para
165 machos castrados e 5,02 ng/mL (mín. 1,76; máx. 10,9) para fêmeas castradas.

166 Foram necessárias, em média, três repetições do TEACTH/cão para que o cortisol
167 alcançasse o intervalo de 2 a 5 µg/dL (tolerado até 7 µg/dL na presença de melhora clínica
168 significativa). Vinte e três cães (34,3%) necessitaram duas repetições do TEACTH, enquanto
169 apenas seis (8,96%) deles obtiveram o controle do hipercortisolismo dentro dos primeiros 30-
170 45 de tratamento. De maneira geral, os pacientes apresentaram cortisolós pós-estabilização de
171 $4,61 \pm 1,17$ µg/dL, variando de 2,20 a 6,56 µg/dL.

172 Embora a maioria dos pacientes tenha iniciado a terapia a partir da dose mínima de
173 0,5-1 mg/kg de trilostano a cada 12 ou 24 horas, grande parte (55/67; 82%) dos cães teve que
174 passar por acréscimos e reajustes, incluindo a troca de intervalo de administração de a cada 24
175 horas para a cada 12 horas (18/67; 26,8%). A mediana da dose total diária inicialmente
176 prescrita foi significativamente inferior ($p < 0,0001$) à necessária para se obter o cortisol entre
177 2 e 7 µg/dL, indo de 1,2 mg/kg/dia (0,8 - 3,7 mg/kg/dia) para 2,0 mg/kg/dia (1,0 - 12,0
178 mg/kg/dia). De forma isolada, observou-se que o indivíduo que apresentou um dos maiores
179 valores de cortisol pós-ACTH (48 µg/dL) também foi aquele que necessitou da maior dose de
180 trilostano (12 mg/kg/dia), porém, o inverso não foi observado. Vale destacar que nenhum
181 animal apresentou intolerância ou efeito adverso à medicação (êmetese, diarreia, prostração,
182 entre outros também relatados) após início do tratamento.

183 A análise de correlação mostrou que quanto mais espessos os polos adrenais [(direito
184 ($r = 0,3741$; $p = 0,0012$) e esquerdo ($r = 0,2457$; $p = 0,0375$)] e quanto maior o valor de
185 cortisol pós-ACTH no momento do diagnóstico ($r = 0,2464$; $p = 0,0369$), maior a dose final
186 do trilostano necessária para controlar a doença.

187 Dentre as variáveis dicotômicas analisadas por este estudo, a espessura do polo caudal
188 da glândula adrenal direita se mostrou acima dos padrões estabelecidos por Melián et al. [22]
189 e apresentou relação com o resultado do cortisol pós-ACTH. O mesmo foi observado pela
190 necessidade de doses mais elevadas de trilostano para o controle do hipercortisolismo. Essas
191 relações possuem p-valores de 0,034 e 0,033 e razão de chance (odds) de 8,861 e 1,335 para a
192 adrenal direita e trilostano, respectivamente. A análise de odds evidenciou que para cada
193 unidade acrescida (cm) na espessura do polo caudal adrenal direito dentro das faixas de peso
194 descritas por Melián e colaboradores [22], tem-se 8,861 vezes mais chance do paciente
195 apresentar valores de cortisol pós-ACTH ≥ 27 ao diagnóstico e, que de maneira independente,
196 cada unidade adicional ($\mu\text{g/dL}$) ao valor de cortisol pós-ACTH quando este se encontra ≥ 27
197 no momento do diagnóstico, aumenta em 33,5% as chances desses cães precisarem de doses
198 mais elevadas de trilostano para satisfazer os critérios de controle do HC.

199

200 **4. Discussão**

201

202 Considerando as várias orientações posológicas do trilostano, temos que doses mais
203 elevadas cursam com o risco de maiores efeitos adversos e hipocortisolismo iatrogênico, em
204 contrapartida, as condutas mais conservadoras podem acarretar atraso no controle do HC
205 canino (Lemetayer; Blois, 2018). Desta forma, este trabalho, propondo analisar a correlação
206 de exames diagnósticos com a posologia do trilostano necessária para se obter o
207 normocortisolemia, evidenciou que cortisol pós-ACTH e as medidas ultrassonográficas dos
208 polos das glândulas adrenais, especialmente a espessura do polo adrenal direito, não
209 configuram somente ferramentas úteis ao diagnóstico, mas também permitem prever que
210 pode ser preciso doses maiores de trilostano aos caninos portadores de HPD.

211 Independente da origem, o HC canino desencadeia diversas consequências clínicas e
212 laboratoriais no indivíduo exposto [19] e, até o presente momento, a magnitude da alteração
213 desses parâmetros não foram correlacionadas à severidade e prognóstico do HC [18]. Nossos
214 resultados, entretanto, evidenciaram que a espessura do polo caudal direito representa uma
215 expectativa sobre o valor de cortisol pós-ACTH, o qual por sua vez, reflete o quanto as
216 adrenais respondem à um estímulo para secreção de cortisol [18]. Desta forma, fica evidente a
217 necessidade de avaliar a morfologia de ambas as glândulas durante o exame de imagem, ainda
218 que exista maior dificuldade de detectar a adrenal direita [24].

219 Devido a uma dispersão de informações contidas em alguns prontuários, não foi
220 possível subclassificar os pacientes quanto ao tempo de evolução e a gravidade das
221 manifestações clínicas do HC. Tais dados poderiam contribuir para a determinação de
222 correlações mais fortes entre o valor do cortisol ao diagnóstico e as demais variáveis avaliadas
223 e, assim, talvez virem a ser incluídos e avaliados conjuntamente aos demais parâmetros
224 analisados, agregando informações no momento de se determinar a posologia do trilostano.

225 O TSBDD possui maior sensibilidade para diagnosticar HC em cães, principalmente
226 naqueles com suspeita de distúrbio na produção do ACTH (HPD) [4] e, portanto, é encorajado
227 que seja realizado como primeiro teste diagnóstico [19]. Dada esta preferência, muitos
228 potenciais cães a serem incluídos neste estudo tiveram que ser descartados (60,58%) em
229 virtude do diagnóstico de HC ter sido previamente instituído somente pelo TSBDD e, não
230 terem realizado, nenhum TACTH previamente ao início do tratamento.

231

232 **5. Conclusão**

233

234 Pacientes caninos portadores de HPD que apresentem cortisol pós-ACTH ≥ 27 $\mu\text{g/dL}$
235 ao diagnóstico possuem maiores chances de requerer doses mais elevadas de trilostano para

236 satisfazer os critérios de controle do HC. Complementarmente, pacientes que apresentar em
237 aumentos na espessura do polo adrenal direito superior as categorias estabelecidas
238 recentemente de acordo com as faixas de peso, possuem chances mais elevadas de obter
239 valores de cortisol pós-ACTH ≥ 27 $\mu\text{g/dL}$ ao diagnóstico.

240

241 **Referências**

242 [1] ESVE. European Society of Veterinary Endocrinology. Disponível em:
243 <<https://www.esve.org/alive/search.aspx>>. Acesso: 13 de janeiro 2022.

244

245 [2] Galac S, Kooistra HS, Voorhout G, van den Ingh TS, Mol JA., van den Berg G, Meij
246 BP. Hyperadrenocorticism in a dog due to ectopic secretion of adrenocorticotrophic
247 hormone. *Domest Anim Endocrinol.* 2005;28:338–348.

248

249 [3] Galac S, Kars VJ, Voorhout G, Mol JA, Kooistra HS. ACTH-independent
250 hyperadrenocorticism due to food-dependent hypercortisolemia in a dog: a case report.
251 *Vet J.* 2008;177:141–143.

252

253 [4] Bennaim M, Shiel RE, Mooney CT. Diagnosis of spontaneous hyperadrenocorticism
254 in dogs. Part 1: Pathophysiology, aetiology, clinical and clinicopathological features.
255 *Vet J.* 2019;252:105342.

256

257 [5] Sanders K, Kooistra HS, Galac S. Treating canine Cushing's syndrome: Current
258 options and future prospects. *Vet J.* 2018;241:42-51.

259

260 [6] Braddock JA, Church DB, Robertson ID, Watson ADJ. Trilostane treatment in dogs
261 with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Aust Vet J.* 2003;81:600–607.

262

263 [7] Ramsey IK. Trilostane in dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2010;40:269–
264 83.

265

- 266 [8] Augusto M, Burden A, Neiger R, Ramsey I. A comparison of once and twice daily
267 administration of trilostane to dogs with hyperadrenocorticism. *Tierarztl Prax K H.*
268 2012;40:415–424.
269
- 270 [9] Cho KD, Kang JH, Chang D, Na KJ, Yang MP. Efficacy of low and high-dose
271 trilostane treatment in dogs (< 5 kg) with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J*
272 *Vet Intern Med.* 2013;27:91–98.
273
- 274 [10] Arenas C, Melián C, Pérez-Alensa MD. Long-term survival of dogs with adrenal-
275 dependent hyperadrenocorticism: a comparison between mitotane and twice daily
276 trilostane treatment. *J Vet Intern Med.* 2014;28:473-480.
277
- 278 [11] Vetoryl (trilostane) [package insert]. Overland Park, KS: Dechra Veterinary Products;
279 2019.
280
- 281 [12] Galac S, Buijtels JJ, Mol JA, Kooistra HS. Effects of trilostane on the pituitary-
282 adrenocortical and renin-aldosterone axis in dogs with pituitary-dependent
283 hypercortisolism. *Vet J.* 2008;183:75–80.
284
- 285 [13] Vaughan MA, Feldman EC, Hoar BR, Nelson RW. Evaluation of twice-daily, low-
286 dose trilostane treatment administered orally in dogs with naturally occurring
287 hyperadrenocorticism. *Journal of the American Medical Association,* 2008;232:1321–
288 1228.
289
- 290 [14] Bruyette, D.S. Pituitary-dependent hyperadrenocorticism in dogs and cats. In:
291 Bruyette, D.S. (eds) *Clinical Small Animal Internal Medicine.* John Wiley & Sons:
292 Hoboken, 2020:49-63.
293
- 294 [15] Feldman EC. Evaluation of twice-daily lower-dose trilostane treatment administered
295 orally in dogs with naturally occurring hyperadrenocorticism. *J Am Vet Med Assoc.*
296 2011;238:1441-1451.
297
- 298 [16] Lemetayer J, Blois S. Update on the use of trilostane in dogs. *Can Vet J.* 2018;59:397-
299 407.

- 300 [17] Bermejo CA, Alenza DP, José PGS, Llauet L, Pérez-López L, Melián C, Feldman
301 EC. Laboratory assessment of trilostane treatment in dogs with pituitary-dependent
302 hyperadrenocorticism. *J Vet Intern Med.* 2020;34:1413-1422.
303
- 304 [18] Gilor C, Graves TK. Interpretation of laboratory tests for canine cushing's syndrome.
305 *Top Companion Anim Med.* 2011;26:98–108.
306
- 307 [19] Behrend EN, Kooistra HS, Nelson R, Reusch CE, Scott-Moncrieff JC. Diagnosis of
308 spontaneous canine hyperadrenocorticism: 2012 ACVIM consensus statement (small
309 animal). *J Vet Intern Med.* 2013;27:1292-1304.
310
- 311 [20] Machado L, de Oliveira MC, Barbieri CR, Riboldi CI, Leotti VB, González F, Valle
312 SF, Siqueira FM, Pöppl ÁG. Clinical and microbiological characterization of
313 subclinical bacteriuria and sporadic bacterial cystitis in dogs with spontaneous
314 hypercortisolism. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2021;75:101624.
315
- 316 [21] WSAVA Nutritional Assessment Guidelines Task Force Members. Freeman L,
317 Becvarova I, Cave N, Mackay, Nguyen P, Rama B, Takashima G, Tiffin R, Tsjimoto
318 H, Van Beukelen P. WSAVA Nutritional Assessment Guidelines. *The Journal of small
319 animal practice,* 2011;52:385–96.
320
- 321 [22] Melián C, Pérez-López L, Saavedra P, Ravelo-García AG, Santos Y, Jaber JR.
322 Ultrasound evaluation of adrenal gland size in clinically healthy dogs and in dogs with
323 hyperadrenocorticism. *Vet Rec.* 2021;188:e80.
324
- 325 [23] Kinneer PR, Gray CD. *IBM SPSS Statistics 18 made simple.* Psychology Press. 2011.
326
- 327 [24] Brinkman EL, Biller DS, Armbrust LJ, O'Brien RT. The Clinical Utility of the Right
328 Lateral Intercostal Ultrasound Scan Technique in Dogs. *J Am Anim Hosp Assoc.*
329 2007;43:179–186.
330

ANEXO 1 – NORMAS DA REVISTA

(Domestic Animal Endocrinology)

Please consult this Guide for Authors for further details on the requirements for submitting your paper to Domestic Animal Endocrinology. The guidelines described in this document should be adhered to carefully, to ensure high-quality and rapid publication of your manuscript.

Aims and scope

Domestic Animal Endocrinology publishes scientific papers dealing with fundamental, translational, and clinical aspects of the endocrinology of domestic animal species at all levels of organization (organismal, cellular, and molecular). Those manuscripts utilizing other species as models for clinical or production problems associated with domestic animals will also be considered. Clinical Case Reports will generally not be accepted unless the research report provides significant new information regarding mechanisms responsible for a phenomenon. Topics covered include the regulation of hormone secretion, hormone action, and biochemical endocrinology.

Types of article

1. Original Research Papers (Regular Papers)
2. Review Articles
3. Short Communications

- **Original Research Papers** should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.
- **Review Articles** should cover subjects falling within the scope of the journal that are of active current interest. They may be submitted or invited.
- **Short Communications** are concise but complete descriptions of a limited investigation, which will not be included in a later paper. Short Communications should be as completely documented, both by reference to the literature and description of experimental procedures employed, as an Original Research Paper. They should not occupy more than six printed pages (about 12 manuscript pages, including figures, tables and references).

Page charges

This journal has no page charges.

Ethics in publishing

Please see our information on Ethics in publishing.

Policy and ethics

The work described in your article must have been carried out in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>; EU Directive 2010/63/EU for animal experiments http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/legislation_en.htm; Uniform Requirements for manuscripts submitted to Biomedical journals <http://www.icmje.org>. This must be stated at an appropriate point in the article.

Unnecessary cruelty in animal experimentation is not acceptable to the Editors of **Domestic Animal Endocrinology**.

Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential competing interests include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors must disclose any interests in two places: 1. A summary declaration of interest statement in the title page file (if double anonymized) or the manuscript file (if single anonymized). If there are no interests to declare then please state this: 'Declarations of interest: none'. 2. Detailed disclosures as part of a separate Declaration of Interest form, which forms part of the journal's official records. It is important for potential interests to be declared in both places and that the information matches. More information.

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see 'Multiple, redundant or concurrent publication' for more information), that it is not under consideration

for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service Crossref Similarity Check.

Preprints

Please note that preprints can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's sharing policy. Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see 'Multiple, redundant or concurrent publication' for more information).

Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Content should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader; contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition; and use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, stereotypes, slang, reference to dominant culture and/or cultural assumptions. We advise to seek gender neutrality by using plural nouns ("clinicians, patients/clients") as default/wherever possible to avoid using "he, she," or "he/she." We recommend avoiding the use of descriptors that refer to personal attributes such as age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition unless they are relevant and valid. When coding terminology is used, we recommend to avoid offensive or exclusionary terms such as "master", "slave", "blacklist" and "whitelist". We suggest using alternatives that are more appropriate and (self-) explanatory such as "primary", "secondary", "blocklist" and "allowlist". These guidelines are meant as a point of reference to help identify appropriate language but are by no means exhaustive or definitive.

Author contributions

For transparency, we encourage authors to submit an author statement file outlining their individual contributions to the paper using the relevant CRediT roles: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Software; Supervision; Validation; Visualization; Roles/Writing -

original draft; Writing - review & editing. Authorship statements should be formatted with the names of authors first and CRediT role(s) following. More details and an example.

Authorship

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted.

Changes to Authorship

This policy concerns the addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts:

Before the accepted manuscript is published in an online issue: Requests to add or remove an author, or to rearrange the author names, must be sent to the Editor-in-Chief from the corresponding author of the accepted manuscript before development of Author Proofs and before the manuscript is published online. Requests must include: (a) the reason the name should be added or removed, or the author names rearranged and (b) written confirmation (e-mail, fax, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement.

After the accepted manuscript is published in an online issue: Any requests to add, delete, or rearrange author names in an article published in an online issue will follow the same policies as noted above and result in a corrigendum.

Article transfer service

This journal is part of our Article Transfer Service. This means that if the Editor feels your article is more suitable in one of our other participating journals, then you may be asked to consider transferring the article to one of those. If you agree, your article will be transferred automatically on your behalf with no need to reformat. Please note that your article will be reviewed again by the new journal. More information.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see more information on this). An e-mail will be sent to the corresponding author

confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases.

For gold open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'License Agreement' (more information). Permitted third party reuse of gold open access articles is determined by the author's choice of user license.

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. More information.

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can share your research published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Open access

Please visit our Open Access page for more information.

Elsevier Researcher Academy

Researcher Academy is a free e-learning platform designed to support early and mid-career researchers throughout their research journey. The "Learn" environment at Researcher

Academy offers several interactive modules, webinars, downloadable guides and resources to guide you through the process of writing for research and going through peer review. Feel free to use these free resources to improve your submission and navigate the publication process with ease.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's WebShop <https://webshop.elsevier.com/language-editing-services/language-editing/> or visit our customer support site <https://service.elsevier.com> for more information. If it is determined by the Editor-in-Chief that the English grammar usage within a submitted manuscript fails to meet a minimum level of acceptability, the manuscript will be returned to the authors with a request to have it edited by a native English-speaking editor or editing service as described above. Failure to meet minimum language requirements in subsequent submissions of the article will be grounds for rejection of the manuscript.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Submit your article

Please submit your article via <https://www.editorialmanager.com/dae/default.aspx>

Referees

Please submit, as part of the covering letter with the manuscript, the names, full affiliation (department, institution, city and country) and email addresses of 3 potential Referees. Appropriate Referees should be knowledgeable about the subject but have no close connection with any of the authors. You may also suggest reviewers you do not want to review your manuscript, but please state your reasons for doing so.

Queries

For questions about the editorial process (including the status of manuscripts under review) or for technical support on submissions, please visit our Support Center.

Peer review

This journal operates a single anonymized review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. Editors are not involved in decisions about papers which they have written themselves or have been written by family members or colleagues or which relate to products or services in which the editor has an interest. Any such submission is subject to all of the journal's usual procedures, with peer review handled independently of the relevant editor and their research groups. More information on types of peer review.

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format, double-spaced, and with all lines numbered continuously on the left margin to facilitate the review process. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <https://www.elsevier.com/guidepublication>). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Article Structure

Title page

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Use initials only for first and middle names. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names in italicized font. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. Ensure that phone numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Highlights

Highlights are optional yet highly encouraged for this journal, as they increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the examples here: [example Highlights](#).

Highlights should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point).

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, they must be cited in full, without reference to the reference list. Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself. Abstracts must be limited to a single paragraph with no more than 2,500 keystrokes (characters plus spaces).

Graphical abstract

A Graphical abstract is optional and should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership online. Authors must provide images that clearly represent the work described in the article. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531×1328 pixels (h \times w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5×13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. See <https://www.elsevier.com/graphicalabstracts> for examples. Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images also in accordance with all technical requirements: Illustration Service.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Main headings (1. Introduction; 2. Materials; 3. Methods; 4. Results; 5. Discussion) should be written in sentence case, bold font. Subheadings should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering), italicized and not bolded. Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results. Introduction should not exceed 1.5 manuscript pages.

Materials and methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature. Although there are always exceptions, a good rule of thumb is for the Discussion section to not exceed 5 double-spaced manuscript pages and to limit the number of references to no more than 35.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference style

Text: Indicate references by (consecutive) arabic numerals placed within brackets and separated by commas in the order in which they appear in the text.

List: Number the references in the list in the order in which they appear in the text. Place on the left margin in brackets. Please list the names of all co-authors. For further detail and

examples you are referred to the AMA Manual of Style, A Guide for Authors and Editors, Tenth Edition, ISBN 0-978-0-19-517633-9 (see <http://www.amanualofstyle.com>).

Examples:

Reference to a journal publication:

[1] Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. The art of writing a scientific article. *J Sci Commun.* 2010;163:51–59.

Reference to a book:

[2] Strunk W Jr, White EB. *The Elements of Style*. 4th ed. New York, NY: Longman; 2000.

Reference to a chapter in an edited book:

[3] Mettam GR, Adams LB. How to prepare an electronic version of your article. In: Jones BS, Smith RZ, eds. *Introduction to the Electronic Age*. New York, NY: E-Publishing Inc; 2009:281–304.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article, using superscript Arabic numbers. Many word processors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Tables

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Each table should be placed on a separate page following References. To facilitate editing, tables should be created using the word processing program with the caption included. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

Table footnotes

Indicate each footnote in a table with a superscript lowercase letter.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions in a separate “List of figures”, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (not on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Figures

Each figure should be placed on a separate page following the tables. Do not place figures or illustrations in the text of the manuscript.

Artwork**Image manipulation**

While it is accepted that authors sometimes need to manipulate images for clarity, manipulation for purposes of deception or fraud will be seen as scientific ethical abuse and will be dealt with accordingly. For graphical images, this journal is applying the following policy: no specific feature within an image may be enhanced, obscured, moved, removed, or introduced. Adjustments of brightness, contrast, or color balance are acceptable if and as long as they do not obscure or eliminate any information present in the original. Nonlinear adjustments (e.g. changes to gamma settings) must be disclosed in the figure legend

Electronic artwork**General points**

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.

- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the printed version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website: <https://www.elsevier.com/artworkinstructions> You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format. Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors.
- Supply files that are too low in resolution.
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. Please indicate your preference for color: in print or on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <https://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Please note: Because of technical complications which can arise by converting color figures to 'gray scale' (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

Text graphics

Present incidental graphics not suitable for mention as figures, plates or schemes at the end of the article and number them "Graphic 1", etc. Their precise position in the text can then be indicated. See further information under Electronic artwork. If you are working with LaTeX and have such features embedded in the text, these can be left, but such embedding should not be done specifically for publishing purposes. Further, high-resolution graphics files must be provided separately.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation

Style Language styles, such as Mendeley. Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. More information on how to remove field codes from different reference management software.

Reference Sample

[1] Oguro M, Imahiro S, Saito S, Nakashizuka T. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions, Mendeley Data, v1; 2015. <http://dx.doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Data visualization

Include interactive data visualizations in your publication and let your readers interact and engage more closely with your research. Follow the instructions here to find out about available data visualization options and how to include them with your article.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your

software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the research data page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the database linking page.

For supported data repositories a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to Mendeley Data. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the Mendeley Data for journals page.

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the Data Statement page.

Important style notes

Please use the following words, phrases, abbreviations, and stylistic conventions:

- Do not use the term 'significant' redundantly throughout the text. Cite a P value (recommended for Abstract and for Results) associated with each statistical inference.
- Terms with a specific statistical meaning (i.e. significant, tended and correlated), should only be used in a strict statistical context.
- Numbers less than 10 are written as a word, unless followed by an abbreviation for unit of measure, e.g. five embryos, 5 min
- Abbreviate units of measure when they follow a quantity: days, d; hours, h; weeks, wk; years, yr; minutes, min; For example, 4 d, 5 h, 6 yr.
- When using a time-descriptive noun as a name (e.g., hour of the experiment or day of the experiment), spell out the noun.

Use the following expressions:

- Estrus is a noun; estrous is an adjective.
- 120 to 125, not 120-125
- treatment by period, not treatment X period
- gravity: 100 X g (in lieu of speed for centrifugation)

Abbreviations

The following abbreviations represent DAE-terms that do not require definition by the author. All units of measure associated with numerical values must be abbreviated according to DAE form as indicated below. All others should be defined in the abstract (if used) and again the

first time the term appears in the text. Thereafter, use the abbreviation. Never use an abbreviation to start a sentence (e.g., mRNA should be Messenger ribonucleic acid); otherwise, rephrase the sentence so that it doesn't begin with the word in question.

Units of time

s - second(s)

min - minute(s)

h - hour(s)

d - day(s)

wk - week(s)

mo - month(s)

yr - year(s)

Units of volume

μ L - microliter

mL - milliliter

L - liter

dL - deciliter

Other physical units

Bq - becquerel

$^{\circ}$ C - degree Celsius

Cal - calorie

Ci - curie

cM - centimorgan (spell out morgan if used without a prefix)

Da - dalton

Eq - equivalent

g - gram

ha - hectare

Hz - hertz

IU - international unit

J - joule

lx - lux

m - meter

M - molar (concentration; preferred over mol/L)

mol - mole

N - normal (concentration)

Pa - pascal

t - metric ton (1,000 kg)

V - volt

W - watt

Statistical symbols and abbreviations

P- as in $P < 0.05$

ANOVA - analysis of variance

CV - coefficient of variation

df - degree(s) of freedom

F - F-distribution (variance ratio)

LSD - least significant difference

n - sample size (used parenthetically or in footnotes)

P - probability

r - simple correlation coefficient

r² - simple coefficient of determination

R - multiple correlation coefficient

R² - multiple coefficient of determination

s² - variance (sample)

SD - standard deviation (sample)

SE - standard error

SED - standard error of the differences of means

SEM - standard error of the mean

Other acronyms/abbreviations

ACTH - adrenocorticotrophic hormone

ADG - average daily gain

ADP - adenosine diphosphate

AI - artificial insemination

ATP - adenosine triphosphate avg - average (use only in tables, not in the text)

BCS - body condition score

bp - base pair
BSA - bovine serum albumin
BW - body weight
cDNA - complementary deoxyribonucleic acid
C/EBP - CAAT-enhancer binding protein
cfu - colony-forming unit
CoA - coenzyme A
Co-EDTA - cobalt ethylenediaminetetraacetate
CP - crude protein (N x 6.25)
d - dextrodiam. diameter
DE - digestible energy
DNA - deoxyribonucleic acid
EBV - estimated breeding value
eCG - equine chorionic gonadotropin
EDTA - ethylenediaminetetraacetic acid
EIA - enzyme immunoassay
ELISA - enzyme-linked immunosorbent assay
Exp. - experiment (always followed by a numeral)
FFA - free fatty acid(s)
FSH - follicle-stimulating hormone
g - gravity
GE - gross energy
GLC - gas-liquid chromatography
GLM - general linear model
GnRH - gonadotropin-releasing hormone
GH - growth hormone
GHRH - growth hormone-releasing hormone
hCG - human chorionic gonadotropin
HEPES - N-(2-hydroxyethyl)piperazine-N'-2-ethanesulfonic acid
HPLC - high-performance (pressure) liquid chromatography
i.d. - inside diameter
Ig - immunoglobulin (when used to identify a specific immunoglobulin)
IGF - insulin-like growth factor
IGFBP - insulin-like growth factor-binding protein(s)

IL - interleukin
kb - kilobase(s)
LD50 - lethal dose 50%
LH - luteinizing hormone
LHRH - luteinizing hormone-releasing hormone
ME - metabolizable energy
Misc. - miscellaneous
NAD - nicotinamide adenine dinucleotide
NADH - reduced form of NAD
NDF - neutral detergent fiber
NDIN - neutral detergent insoluble nitrogen
NE - net energy
NEg - net energy for gain
NEl - net energy for lactation
NEm - net energy for maintenance
NEFA - nonesterified fatty acid
No. - number (use only in tables, not in the text)
NRC - National Research Council
o.d. - outside diameter
PAGE - polyacrylamide gel electrophoresis
PBS - phosphate-buffered saline
PCR - polymerase chain reaction
PG - prostaglandin
PMSG - pregnant mare's serum gonadotropin
PPAR - peroxisome proliferator-activated receptor
PUFA - polyunsaturated fatty acid(s)
QTL - quantitative trait locus (loci)
RFLP - restriction fragment length polymorphism
RIA - radioimmunoassay
RNA - ribonucleic acid
rpm - revolutions/minute (not to be used to indicate centrifugal force)
RQ - respiratory quotient
SDS - sodium dodecyl sulfate
SFA - saturated fatty acid

SNP - single nucleotide polymorphism
 ssp. - subspecies
 ST - somatotropin
 spp. - species
 TDN - total digestible nutrients
 TLC - thin layer chromatography
 Tris - tris(hydroxymethyl)aminomethane
 USDA - US Department of Agriculture
 UV - ultraviolet
 VFA - volatile fatty acid(s)
 vol - volume
 vol/vol - volume/volume (used only in parentheses)
 vs. - versus
 wt - weight (use only in tables, not in the text)
 wt/vol - weight/volume (used only in parentheses)
 wt/wt - weight/weight (used only in parentheses)

Submission checklist

The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address
- Phone numbers

All necessary files have been uploaded, and contain:

- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa

- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)
- Color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print, or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print
- If only color on the Web is required, black-and-white versions of the figures are also supplied for printing purposes

For any further information please visit our customer support site at <https://service.elsevier.com>.

Online proof correction

To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Video data

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation

content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 50 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages at <https://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized Share Link providing 50 days free access to the final published version of the article on ScienceDirect. The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's Author Services. Corresponding authors who have published their article gold open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

Visit the Elsevier Support Center to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also check the status of your submitted article or find out when your accepted article will be published.