

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

HUGO HENRIQUE VICTORINO VICTÓRIO

**ELETROCARDIOGRAFIA HOLTER EM CÃES SUBMETIDOS AO TESTE DE
ESTIMULAÇÃO COM HORMÔNIO ADRENOCORTICOTRÓFICO**

UBERLÂNDIA

2022

HUGO HENRIQUE VICTORINO VICTÓRIO

**ELETCARDIOGRAFIA HOLTER EM CÃES SUBMETIDOS AO TESTE DE
ESTIMULAÇÃO COM HORMÔNIO ADRENOCORTICOTRÓFICO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Faculdade de Medicina Veterinária da
Universidade Federal de Uberlândia, como
requisito para obtenção do título de Médico
Veterinário
Orientador(a): Profª Drª Sofia Borin-Crivellenti

UBERLÂNDIA
2022

HUGO HENRIQUE VICTORINO VICTÓRIO

**ELETROCARDIOGRAFIA HOLTER EM CÃES SUBMETIDOS AO TESTE DE
ESTIMULAÇÃO COM HORMÔNIO ADRENOCORTICOTRÓFICO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Faculdade de Medicina Veterinária da
Universidade Federal de Uberlândia, como
requisito para obtenção do título de Médico
Veterinário
Orientador(a): Prof^a Dr^a Sofia Borin-Crivellenti

Uberlândia, ____ de _____ de 2022

Prof^a Dr^a Sofia Borin-Crivellenti

Prof Dr Matheus Matioli Mantovani

Prof^a Dr^a Jacqueline Ribeiro de Castro

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus pela vida que me foi dada, pela trajetória que me possibilitou trilhar e pelo privilégio de poder sonhar.

Agradeço aos meus pais, Hélio e Tânia, por desde pequeno sonharem esse sonho comigo e proporcionarem a realização dele. Apesar da distância e da saudade vocês sempre estiveram presentes em minha jornada, com todo apoio e carinho que poderiam dar. Essa conquista não é só minha como também é de vocês.

Agradeço aos meus irmãos, Nayara e Hélio Netto, por todo apoio durante não só esses anos como em toda a vida. Levo vocês, meus irmãos mais velhos, como exemplos que sempre estarão presentes apesar de qualquer circunstância.

Agradeço às minhas anjas da guarda, Rosa e Maria, por todas as bênçãos e proteção que me dão aí de cima. Sei que de onde vocês estiverem estão celebrando esse momento tão aguardado por nós. Agradeço todo o amor que recebi de vocês em vida, e que receberei na eternidade.

Agradeço a todos meus familiares, em especial aos meus avôs, Hélio e Antônio, aos meus tios e tias, Ricardo, Paulo, Karina e Mônica, e aos meus primos Nathan e Ricardinho, por sempre apoiarem meus pais nos momentos em que eu não pude estar presente.

Agradeço aos amigos que construí durante essa jornada. Em especial aos meus amados monkeyanos Karina, João Marcos, Bia e Daniel, meus parceiros de turma Beatriz Helena, Lobo, Mavi, Acerbi, Léo e Rogério, e à minha dupla pra vida Leandro. Sem vocês os dias não teriam sido leves e gostosos como foram.

Agradeço a minha amada orientadora e “mamãe científica” Sofia, por ter me acolhido, me ensinado, por ser não só um grande exemplo a ser seguido na medicina veterinária, mas também por afirmar meu amor à clínica médica de pequenos animais.

Agradeço ao Serviço de Endocrinologia do HV-UFU, em especial às doutorandas Hévila e Paula, por contribuírem fortemente na formação do profissional que me tornarei. Agradeço aos meus companheiros de pesquisa que contribuíram fortemente para a realização deste trabalho, Prof. Matheus, Prof. Luis Felipe, Yasmin e Rodrigo.

Por fim, agradeço aos animais por serem a razão de tudo isso. Meu carinho e dedicação a vocês será eterno!

RESUMO

Diante dos glicocorticoides estimularem indiretamente a liberação de catecolaminas pelas adrenais, hipotetizou-se que possa haver, durante a realização do teste de estimulação com hormônio adrenocorticotrófico sintético (TEACTH), algum grau de descarga adrenérgica. Assim, por meio de ensaio clínico prospectivo, os dados de Holteres de 8 horas obtidos de seis cães (3 machos e 3 fêmeas, $11,1 \pm 7,4$ kg e $9,7 \pm 2,2$ anos), suspeitos e/ou portadores de hipercortisolismo pituitário-dependente (PDH), sem endocrinopatias preexistentes foram avaliados. Destaca-se que cada animal constituiu controle de si mesmo ao passar tanto pelo convencional TEACTH, quanto por uma simulação do referido teste utilizando solução salina (placebo). Variabilidade da FC [SDNN (ms), SDANN (ms), rMSSD (ms), NN50 (bpm) e pNN50 (%)] bem como FC mínima, máxima e média (bpm) obtidas duas horas após colocação do Holter (T0) e uma (T1), duas (T2) e três horas (T3) após a aplicação do ACTH ou placebo, além de ritmo cardíaco e ectopias foram comparados entre si. Nenhuma diferença nos valores e índices de variabilidade da FC foi identificada durante o TEACTH e o placebo, indicando que o ACTH sintético não foi capaz de aumentar o tônus simpático no coração. Apesar disso, um dos cães (16,6%) apresentou 117 ectopias ventriculares em T1 e 183 no T2 após o TEACTH, bem como ritmo idioventricular acelerado (RIVA) (>2 minutos) imediatamente após a aplicação do ACTH intravenoso. Os resultados aqui obtidos, embora apontem que o ACTH sintético aparente não ser capaz de causar alteração significativa do tônus simpático no coração, alertam para a possibilidade de indução ao surgimento de RIVA.

Palavras-chave: Caninos, catecolaminas, eletrocardiograma, hipercortisolismo, variabilidade da frequência cardíaca.

ABSTRACT

Given that glucocorticoids indirectly stimulate the release of catecholamines by the adrenals, it was hypothesized that there may be, during the stimulation test with synthetic adrenocorticotrophic hormone (STACTH), some degree of adrenergic discharge. Thus, through a prospective clinical trial, the 8-hour Holter data obtained from six dogs (3 males and 3 females, 11.1 ± 7.4 kg and 9.7 ± 2.2 years), suspected and/or patients with pituitary-dependent hypercortisolism (PDH), without preexisting endocrinopathies were evaluated. It is noteworthy that each animal constituted control of itself by undergoing both the conventional STACTH and a simulation of the referred test using saline solution (placebo). HR variability [SDNN (ms), SDANN (ms), rMSSD (ms), NN50 (bpm) and pNN50 (%)] as well as minimum, maximum and average HR (bpm) obtained two hours after Holter placement (T0) and one (T1), two (T2) and three hours (T3) after the application of ACTH or placebo, in addition to heart rate and ectopia were compared. No differences in HR values and variability indices were identified during STACTH and placebo, indicating that synthetic ACTH was not able to increase sympathetic tone in the heart. Despite this, one of the dogs (16.6%) had 117 ventricular ectopias on T1 and 183 on T2 after STACTH, as well as an accelerated idioventricular rhythm (AIVR) (>2 minutes) immediately after the application of intravenous ACTH. The results obtained here, although pointing out that synthetic ACTH appears not to be able to cause a significant change in sympathetic tone in the heart, alert to the possibility of inducing the appearance of AIVR.

Keywords: Canine, catecholamines, electrocardiogram, hypercortisolism, heart rate variability.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	8
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	9
<i>Desenho experimental.....</i>	9
<i>Crítérios de inclusão e exclusão</i>	10
<i>Delineamento experimental</i>	10
<i>Realização e Interpretação do TEACTH.....</i>	11
<i>Realização e interpretação do Holter</i>	12
3. RESULTADOS	13
4. DISCUSSÃO.....	16
5. CONCLUSÃO.....	18
6. REFERÊNCIAS.....	18
ANEXO 1 – PARECER CEUA	21

1. INTRODUÇÃO

A integração do metabolismo nos mamíferos é realizada pelo sistema neuroendócrino (GONZALÉZ & SILVA, 2003). No cão, as glândulas adrenais são um par de órgãos endócrinos, localizadas ao longo dos polos craniais medianos dos rins, anatomicamente divididas em região cortical e medular. A primeira é subdividida em zona glomerulosa, responsável pela produção de mineralocorticoides, como a aldosterona; em zona fasciculada, que produz glicocorticoides, principalmente o cortisol e a zona reticular, que sintetiza andrógenos e em menor grau, glicocorticoides, estrógenos e progesterona (HERRTAGE, 2009; ROMÃO et al., 2011; BEHREND, 2015). A região medular compreende de 10 a 20 % do volume total da glândula e é responsável pela secreção de catecolaminas, como adrenalina e noradrenalina em resposta ao estímulo simpático (ROMÃO et al., 2011).

O hipercortisolismo (HC) é uma endocrinopatia que acomete cães de meia idade e idosos, aparentemente sem predileção sexual e racial, entretanto, as cadelas são mais suscetíveis ao desenvolvimento de tumores adrenais que os machos e algumas raças são mais acometidas, como Poodles, Terriers, Beagles, Dachshunds e Pastores Alemães (GRECO, 2007; HERRTAGE, 2009).

O HC pode ser espontâneo ou iatrogênico. Uma das formas espontâneas é o hipercortisolismo pituitário-dependente (HPD), que ocorre em 80% dos casos e no qual um tumor hipofisário, geralmente um adenoma e mais raramente um carcinoma, estimula uma secreção exacerbada de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), resultando em hiperplasia bilateral das adrenais e excesso de secreção de cortisol. Os 20% restantes são causados por tumores adrenais uni ou bilaterais, caracterizando o hipercortisolismo adrenal-dependente (HAD). A forma iatrogênica é resultante da administração excessiva de glicocorticoides exógenos, o que também provoca um estado de hipercortisolismo, mas acompanhado de concomitante atrofia de ambas glândulas (PETERSON, 2007; HERRTAGE, 2009; ESVE, 2021).

O diagnóstico diferencial para o HC é imprescindível devido à semelhança do seu quadro clínico com o de outras afecções. Alguns sintomas, como poliúria e polidipsia juntamente com polifagia, podem mimetizar, inclusive, outras endocrinopatias como o *diabetes mellitus* e o *diabetes insipidus*. Portanto, quando eliminada a hipótese de outras doenças, o HC deve ser confirmado pela investigação funcional das glândulas adrenais, assim como o eixo hipotalâmico-hipofisário (JOUBERT, 2002).

Dentre as opções de testes hormonais diagnósticos, o teste de estimulação com ACTH (TEACTH) é um dos mais utilizados por ser simples, rápido e confiável, com sensibilidade de aproximadamente 80%. Além disso, configura-se como a melhor opção para distinguir o HC iatrogênico do HC espontâneo, este ainda é o teste de eleição para o ajustes de doses tanto de fármacos adrenocorticolíticos (mitotano), quanto adrenocorticostáticos (trilostano) durante a monitoração do tratamento (LEAL, 2008; PETERSON, 2007; BEHREND, et al., 2013). O TEACTH baseia-se na capacidade de resposta das adrenais, a qual está relacionada com o tamanho e atividade das mesmas. O ACTH em alta dose estimulará a secreção de cortisol endógeno pelas adrenais. Assim, nos casos de hipertrofia destas glândulas, a resposta ao teste é superior a fisiológica (PETERSON, 2007).

As interações entre os glicocorticoides e as catecolaminas são conhecidas, embora não completamente elucidadas e pouco exploradas. Um estudo *in vitro* realizado por Critchley e colaboradores (1976), demonstrou que os glicocorticoides são capazes de aumentar a liberação de catecolaminas das glândulas adrenais. Já mais recentemente, Sieber-Ruckstuhl e colaboradores (2017), observaram que, cães com hipercortisolismo apresentaram elevadas quantidades de catecolaminas e metanefrinas urinárias, mesmo aqueles tratados com trilostano uma vez ao dia.

Partindo do pressuposto que as catecolaminas podem alterar a atividade elétrica do coração e hipotetizar que alterações de frequência e/ou ritmo cardíaco possam ocorrer em pacientes submetidos a administração do ACTH sintético, este estudo objetivou avaliar as variáveis eletrocardiográficas de caninos portadores ou suspeitas de hipercortisolismo durante a realização do teste de estimulação com hormônio adrenocorticotrófico.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Esse estudo foi submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) e iniciou após a aprovação pelo referido comitê (anexo 1). Ademais, os tutores foram convidados a participar do projeto e somente após assinatura do termo de esclarecimento e consentimento livre, os animais foram incluídos no experimento.

Desenho experimental

Ensaio clínico do tipo cross over para estudo da relação estímulo-efeito.

Crêterios de inclusão e exclusão

Foram utilizados caninos submetidos ao teste de estimula o com hormônio adrenocorticotrófico (TEACTH) por serem suspeitos ou portadores de HC, oriundos da casuística do Serviço de Atendimento Especializado em Endocrinologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Foram excluídos do experimento cães que estivessem recebendo qualquer modalidade de medicamentos de a o simpatomim tica ou simpatol tica, ou que de maneira indireta possam interferir na a o ou libera o das catecolaminas pelas glândulas adrenais, ou ainda qualquer modalidade de tratamento com glicocorticoides. Ademais, não foram incluídos animais que possuíam outras endocrinopatias ou doença cardíaca em estágio B2 de acordo com o Consenso do Colégio Americano de Medicina Interna Veterinária (ATKINS et al., 2009) como comorbidades.

Delineamento experimental

O grupo de animais com HC ou suspeitos de hipercortisolismo pituitária-dependente (HPD) ou adrenal-dependente (HAD), selecionados clínico-laboratorialmente para a doença, seguindo os padrões estabelecidos no último consenso (BEHREND et al., 2012), de diagnóstico de HC pelo ACVIM foram alocados em um ambiente isolado, controlado, acompanhado ou não de seu tutor(a), ficando a critério do(a) mesmo(a) a presença durante os procedimentos realizados. Foram submetidos ao protocolo padrão para realiza o do TEACTH adotado pelo Serviço de Endocrinologia do HV-UFU, também descrito no consenso de diagnóstico de HC (BEHREND et al., 2013).

O experimento foi dividido em dois momentos distintos. No primeiro momento os animais foram submetidos ao TEACTH convencional e, após aproximadamente 7 dias, no segundo momento, foram submetidos a mesma sequência de procedimentos do TEACTH, porém administrando-se soluço salina 0,9% (placebo) no mesmo volume pré-estabelecido para o teste hormonal.

Os momentos seguiram a rotina de recep o dos animais no início da manhã e aferi o da pressão arterial sistólica (PAS) pelo método Doppler vascular, seguida de cateteriza o da veia cefálica (necessária ao TEACTH). Ato contínuo a cateteriza o venosa, era realizada tricotomia torácica, fixa o dos eletrodos e completa coloca o do Holter. Em seguida, o animal permanecia em repouso durante três horas para adapta o ao ambiente e então passavam a ter suas variáveis cardiológicas registradas para posterior análise. Após esse período, os procedimentos padrões para realiza o do TEACTH foram iniciados a partir da coleta de

sangue venoso para mensuração do cortisol basal (CB), a qual foi seguida da administração de ACTH sintético (ACTHEL[®] 25 UI, GP Pharm) na dose de 0,04 a 0,08 mL/kg IV (FURTADO et al., 2017) e mais duas coletas de sangue para mensuração do cortisol 30 minutos (C30) e 60 minutos (C60) após a aplicação do ACTH. No segundo momento, cerca de 7 dias após o primeiro, todos os procedimentos foram repetidos exceto as coletas de sangue e a aplicação do hormônio, a qual foi substituída pela administração da substância placebo. Além disso, após a retirada do Holter no fim do dia foi realizada ecocardiografia dos animais. Em ambos os momentos o Holter seguiu por mais 4 horas após a aplicação da substância avaliada (figura 1).

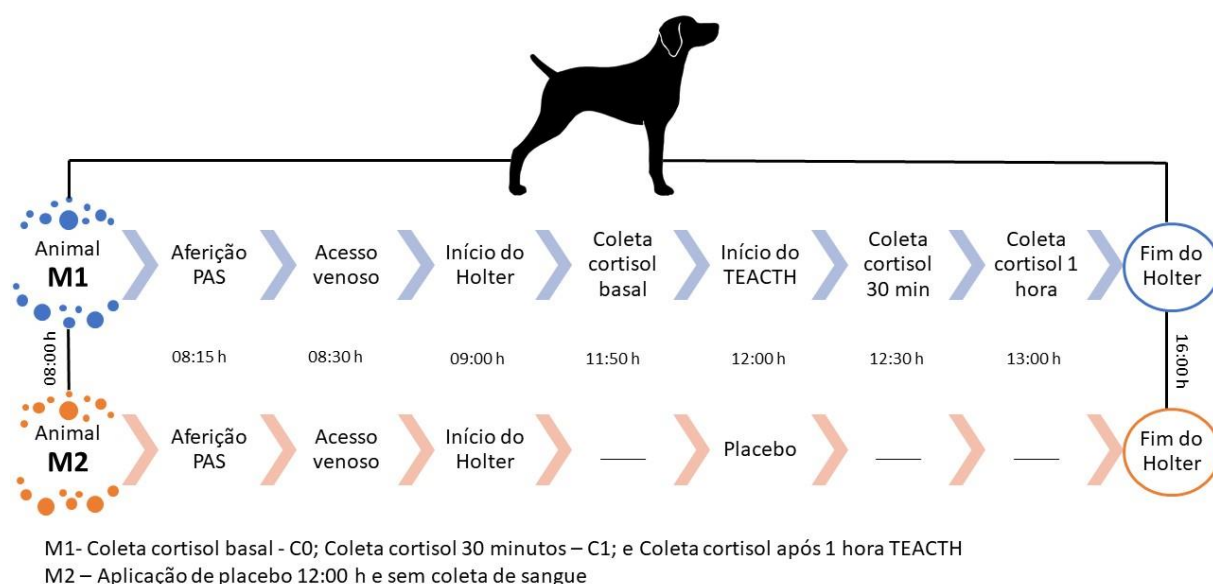


Figura 1. Esquematização dos procedimentos realizados ao longo do dia. Primeiro momento, realização do TEACTH (M1) e segundo momento (M2) aplicação do placebo.

Vale pontuar que forma confeccionados “diários do Holter” para cada animal, no qual foram anotados horários de início do sono e do despertar, bem como de todas as atividades que estavam sendo realizadas durante o exame.

Realização e Interpretação do TEACTH

As amostras séricas foram encaminhadas a laboratório externo de referência em análises hormonais sob refrigeração, para determinação dos cortisol séricos pelo método de radioimunoensaio (padrão-ouro). O TEACTH é considerado positivo para HC espontâneo quando após 60 minutos a concentração de cortisol for superior a 22 µg/dL em um paciente não estressado e sem doenças graves concomitantes (HERRTAGE, 2009; PÖPPL, 2009).

Realização e interpretação do Holter

A monitoração eletrocardiográfica ambulatorial, também chamada de eletrocardiografia dinâmica ou simplesmente Holter foi realizada seguindo as recomendações de Moise e colaboradores (2020). Os animais foram tricotomizados na região torácica bilateralmente entre o quarto e o sétimo espaço intercostal e em toda a região. Posteriormente, foi feita limpeza da área com éter, seguida de álcool 70%. Três eletrodos foram fixados no lado esquerdo e dois no lado direito. Esses eletrodos foram fixados com auxílio de esparadrapo e sempre seguindo o mesmo código de cores de ventral para dorsal, no lado esquerdo: branco, marrom e preto, e no lado direito: verde e vermelho (figuras 2A e 2B). Primeiramente se fixava o eletrodo de cor branca imediatamente acima do choque precordial, sendo os demais (marrom e preto) fixados dorsalmente ao mesmo com uma distância proporcional ao tamanho da costela do animal. No hemitórax direito primeiramente foi fixado o eletrodo de cor verde paralelamente ao de cor branca, sendo o vermelho fixado dorsalmente ao mesmo também com a distância proporcional ao tamanho da costela do animal. Os fios dos eletrodos então foram conectados ao aparelho e, com auxílio de esparadrapo e ataduras, foram fixados ao dorso do animal (figura 2C).



Figura 2. Procedimento de colocação do Holter. **A.** Vista lateral direita: eletrodo verde fixado paralelamente ao branco, vermelho fixado dorsalmente a este, sendo a distância utilizada entre um e outro proporcional ao tamanho da costela do animal. **B.** Vista lateral esquerda: eletrodo branco fixado acima do choque precordial, eletrodo fixado dorsalmente ao branco e o preto dorsalmente ao marrom, sendo a distância utilizada entre um e outro proporcional ao tamanho da costela do animal. **C.** Paciente com todos os eletrodos fixados e conectados ao aparelho, utilizadas ataduras e esparadrapo para fixar o mesmo ao dorso do animal.

Foi utilizado o aparelho Nomad Micromed[®] e software específico para análise dos traçados. Os animais permaneceram sob monitoração durante oito horas. Um diário do Holter com todas as atividades realizadas pelo mesmo foi coletado para auxiliar na análise do laudo no momento posterior.

Dentre os parâmetros originados pelo Holter, foram considerados: SDNN (ms), SDANN (ms), rMSSD (ms), NN50 (bpm) e pNN50 (%). Além disso, a FC mínima, máxima e média (bpm) obtidas duas horas após colocação do Holter (T0) e uma (T1), duas (T2) e três horas (T3) após a aplicação do ACTH ou placebo, além de ritmo cardíaco e ectopias foram comparados entre si.

Análise Estatística

Frequências cardíacas (FC) mínima, média e máxima, bem como SDNN (ms), SDANN (ms), rMSSD (ms), NN50 (bpm) e pNN50 (%) foram analisadas duas horas após a chegada do animal (T0) e uma hora (T1), duas horas (T2) e três horas (T3) após a aplicação da substância testada (ACTH) ou placebo (solução salina 0,9%). A análise estatística foi realizada com auxílio do programa computacional Graph Prism, for Windows, versão 6[®], com significância de 5%. Diante do limitado número de observações deste estudo, a significância estatística foi aferida por meio de testes não-paramétricos. Teste de Wilcoxon pareado foi utilizado para verificar o efeito do tratamento (ACTH vs. placebo) enquanto ANOVA pareado, seguido pelo post-hoc teste de Friedman foram escolhidos para testar a influência do tempo (T0 vs. T1 vs. T2 vs. T3) nas variáveis eletrocardiográficas analisadas. Todas as variáveis numéricas são apresentadas por meio de mediana, seguida de valor mínimo e máximo (exceto idade e peso dos animais que integraram o estudo, que são apresentadas como média e desvio padrão).

3. RESULTADOS

O grupo de animais que passaram pelo TEACTH compôs-se de seis cães (3 machos e três fêmeas), com idade média de $9,7 \pm 2,2$ anos e $11,1 \pm 7,4$ kg. Quanto ao padrão racial, o grupo foi composto por Lhasa Apso (n=1; 16,66%), Yorkshire Terrier (n=1; 16,66%), Shih Tzu (n=2; 33,33%) e por dois cães mestiços (33,33%).

Dos seis animais, dois (33,3%) possuíam diagnóstico confirmado de HPD e realizaram o teste com o objetivo de monitoração terapêutica, enquanto quatro (66,7%) realizaram o TEACTH devido à suspeita clínica de HC. Destes últimos, apenas um (25%) apresentou resultados compatíveis com hipercortisolismo.

Nenhuma diferença significativa foi observada entre as frequências cardíacas (FC) mínima, média e máxima obtidas durante a realização do teste de estimulação com ACTH e o teste com a substância placebo (Tabela 1). Entretanto, observou-se que quando comparados os tempos de avaliação das frequências nos traçados eletrocardiográficos ao longo dos testes, tanto a FC mínima ($p = 0,0145$) quanto a FC média ($p = 0,0373$) dos cães do grupo placebo mostrou-se significativamente reduzidas no momento anterior a retirada (T3) quando comparados ao momento da colocação do Holter (T0) (Tabela 2).

Tabela 1. Frequências cardíacas (FC) mínima, média e máxima de cães submetidos aos testes de estimulação com hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e placebo.

	TEMPO	FREQUÊNCIAS CARDÍACAS (pbm)		<i>p</i>
		Teste com ACTH	Teste com PLACEBO	
MÍNIMA	T0	63,5 (61,0 – 90,0)	75,0 (50,0 – 79,0)	0,9063
	T1	70,5 (49,0 – 91,0)	62,0 (50,0 – 76,0)	0,0938
	T2	60,5 (49,0 – 88,0)	62,0 (49,0 – 79,0)	0,6875
	T3	60,0 (45,0 – 83,0)	58,5 (49,0 – 66,0)	0,4375
MÉDIA	T0	96,5 (93,0 – 149,0)	117,0 (86,0 – 145,0)	0,5313
	T1	118,5 (84,0 – 141,0)	106,0 (76,0 – 118,0)	0,1563
	T2	111,5 (85,0 – 136,0)	107,0 (78,0 – 116,0)	0,1563
	T3	98,0 (86,0 – 131,0)	91,5 (73,0 – 108,0)	0,1563
MÁXIMA	T0	215,5 (171,0 – 254,0)	204,5 (163,0 – 246,0)	0,3125
	T1	225,5 (181,0 – 240,0)	216,0 (182,0 – 231,0)	0,2813
	T2	225,0 (146,0 – 240,0)	192,0 (172,0 – 228,0)	0,1875
	T3	189,0 (172,0 – 203,0)	197,0 (160,0 – 226,0)	0,8125

Legenda: T0, duas horas após colocação do Holter; (T1) uma, (T2) duas e (T3) três horas após a aplicação do ACTH ou da solução salina (placebo). Variáveis não se diferenciaram estatisticamente pelo teste de Wilcoxon pareado.

Tabela 2. Frequências cardíacas (FC) mínima, média e máxima de cães submetidos aos testes de estimulação com hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e placebo.

		FREQUÊNCIAS CARDÍACAS (pbm)				p
		T0	T1	T2	T3	
MÍNIMA	ACTH	63,5* (61 – 90)	70,5* (49 – 91)	60,5* (49 – 88)	62* (49 – 79)	0,0559
	Placebo	75 ^a * (50 – 79)	62 ^{ab} * (50-76)	62 ^{ab} * (49-79)	58,5 ^b * (49-66)	0,0145
MÉDIA	ACTH	96,5 (93 –149)	118,5 (84–141)	111,5 (85-136)	98 (86-131)	0,5031
	Placebo	117,0 ^a (86-145)	106 ^{ab} (76– 118)	107 ^{ab} (78-116)	91,5 ^b (73-108)	0,0373
MÁXIMA	ACTH	215,5* (171-254)	225,5* (181-240)	225 (146-240)	189 (172-203)	0,1935
	Placebo	204,5 (163– 246)	216* (182-231)	192 (172-228)	197 (160-226)	0,7055

Legenda: T0, duas horas após colocação do Holter; (T1) uma, (T2) duas e (T3) três horas após a aplicação do ACTH ou da solução salina (placebo). Variáveis seguidas de letras diferentes na mesma linha diferiram significativamente entre si ($p < 0,05$). Variáveis seguidas de “*” tiveram suas médias diferindo significativamente dos parâmetros de normalidade para FC mínima (41 bpm) e FC máxima (236 bpm) (MOÏSE et al., 2020), considerados para cães entre 10-20 kg. Variáveis se diferenciaram estatisticamente pelo teste de Friedman ($p = 0,0145$ e $p = 0,0373$).

Determinando-se um valor hipotético de comparação para FC mínima de 41 bpm e máxima de 236 bpm consideradas para cães entre 10-20 kg (MOÏSE et al, 2020), verificou-se que em todos os tempos de análises de ambos os grupos nenhum animal apresentou bradicardia ou taquicardia significativas, já que todas as FC mínimas foram superiores à 41 bpm ($p = 0,0145$) e as FC máximas não ultrapassaram 236 bpm ($p=0,0373$).

Um dos animais participantes (16,6%) apresentou 300 ectopias no momento do teste com ACTH. Dessas, 117 aconteceram em até uma hora após a aplicação do hormônio (sendo identificadas 10 isoladas e 3 pareadas) e 183 na hora seguinte (16 isoladas e 35 pareadas). Vale destacar que antes da aplicação do ACTH o animal apresentou apenas uma ectopia. Além disso, esse mesmo animal apresentou ritmo idioventricular acelerado (RIVA) com duração aproximada de 2 minuto exatamente 10 minutos após a aplicação intravascular do ACTH. Nenhuma ectopia ventricular ou alteração de ritmo foi observada nos testes em que a substância placebo foi administrada.

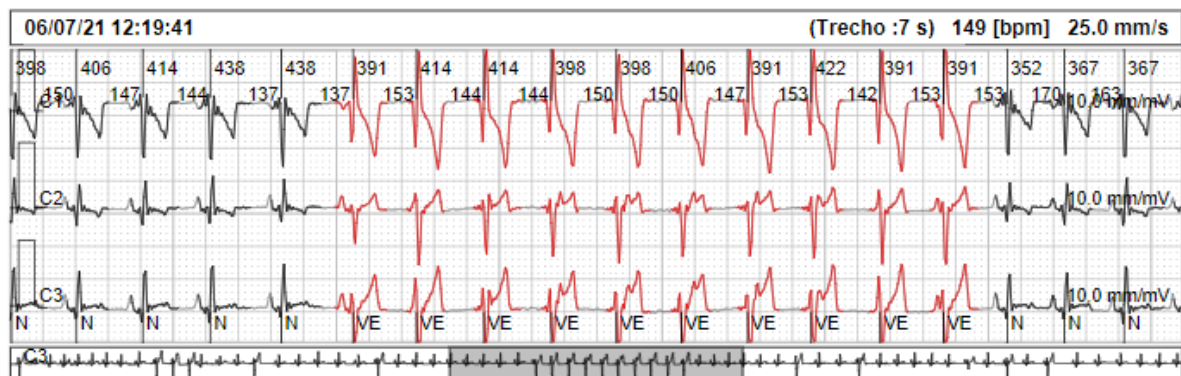


Figura 3. Ritmo Idioventricular Acelerado (RIVA) (em vermelho), com duração aproximada de 2 minutos e início cerca de 10 minutos após a aplicação do ACTH IV.

Os índices de VFC a (SDNN, SDANN Índice, SDNN Índice, rMSSD, NN50 e pNN50) não apresentaram variações nem nos momentos de avaliação, nem nos tratamentos testados.

Tabela 3. Análise de diferença significativa dos índices de variabilidade de FC nos tratamentos testados.

	ACTH	Placebo	<i>p</i>
SDNN (ms)	14569 (763 – 20205)	15014 (10451 – 24056)	0,8438
SDANN Índice (ms)	8764 (5461 – 13785)	8496 (7260 – 15859)	>0,9999
SDNN Índice (ms)	12551 (5275 – 15859)	11526 (6946 – 19964)	0,8438
rMSSD (ms)	15024(2585-19011)	13249 (6538-29176)	0,6875
NN50 (bpm)	17944 (2513 – 23106)	16911 (5280 – 21375)	0,8438
pNN50 (%)	4790 (425 – 5627)	3708 (1175 – 6813)	0,8438

Legenda: SDNN: desvio padrão da média de todos os intervalos RR normais. SDANN: desvio padrão da média de todos os intervalos RR normais obtidos a cada cinco minutos. SDNN Índice: média dos desvios padrão dos intervalos RR obtidos a cada cinco minutos. rMSSD: raiz quadrada da média do quadrado da diferença entre intervalos RR. NN50: intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50 milissegundos. pNN50: porcentagem dos intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50 milissegundos. (MALIK; CHAIRMAN, 1996). Variáveis não se diferenciaram estatisticamente pelo teste de Wilcoxon pareado.

4. DISCUSSÃO

Neste trabalho que objetivou avaliar as variáveis eletrocardiográficas de caninos durante o TEACTH, a análise da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) se deu devido à necessidade de avaliação do tônus simpático durante o teste. Um aumento do tônus vagal (ação parassimpática mediada pela acetilcolina) determina um aumento da VFC, e um aumento do tônus simpático (mediado pela adrenalina e noradrenalina) aumenta a FC e diminui a VFC (MALIK; CHAIRMAN, 1996). Uma vez que não houve diferença na VFC dos cães nos dois

tratamentos, obteve-se até o momento que, aparentemente, o TEACTH não é capaz de diminuir a VFC através de secreção parácrina de adrenalina.

Os dados coletados de FC não apresentaram diferenças entre os tratamentos utilizados. As únicas alterações notadas foram nas FCs mínima e média dos cães do grupo placebo, as quais foram menores no momento próximo à retirada quando comparadas ao momento de colocação do Holter, também foram notadas FC máximas inferiores ao valor hipotético de comparação em ambos os grupos (MOÏSE et al., 2020). Tal ocorrência está possivelmente associada ao fato de que em T3 a maior parte dos animais estava dormindo ou relaxado, já que não foram mais manipulados nesse momento. A FC máxima dos cães do grupo placebo foi inferior ao valor hipotético de análise em T2, fato que pode estar relacionado à ausência de manipulação dos animais nesse momento, quando realizada a simulação do TEACTH com solução placebo. Além disso, em todos os tempos de análise os animais apresentaram médias de FC mínimas maiores que o valor hipotético de comparação (MOÏSE et al., 2020), o que provavelmente está associado ao estresse do ambiente hospitalar.

Embora VFC se caracteriza como método para avaliar o sistema nervoso autônomo (MALIK; CHAIRMAN, 1996), SDNN (ms), SDANN (ms), rMSSD (ms), NN50 (bpm) e pNN50 (%) são os parâmetros que as complementam. O primeiro, SDNN, indica o desvio padrão da média de todos os intervalos RR normais, em milissegundos, e expressa a variabilidade sucedida no período analisado. SDANN é o desvio padrão da média de todos os intervalos RR normais obtidos a cada cinco minutos, demonstra as variações que ocorreram na FC em ciclos maiores que cinco minutos. SDNN Índice é a média dos desvios padrão dos intervalos RR obtidos a cada cinco minutos, e indica as alterações na FC que ocorreram em ciclos menores que cinco minutos. O rMSSD é a raiz quadrada da média do quadrado da diferença entre intervalos RR. O pNN50 é a porcentagem dos intervalos RR adjacentes com diferença de duração maior que 50 milissegundos. Os dois últimos demonstram alterações curtas e rápidas no ciclo cardíaco que podem ser produzidas por ação parassimpática ou pela respiração (MALIK; CHAIRMAN, 1996). No presente experimento, nenhuma alteração foi identificada em nenhum parâmetro relacionado a VFC.

A indução de RIVA em um cão sem cardiopatia estrutural nos alerta que o ACTH pode contribuir para o surgimento dessa arritmia. Neste estudo não foi possível uma avaliação mais detalhada devido ao pequeno número de animais testados. Analisando individualmente este paciente em busca de explicações plausíveis para o aparecimento de RIVA e ectopias, o único dado pertinente identificado foi o uso contínuo de fenobarbital para tratamento de epilepsia há

cerca de 2 anos. Esse fármaco atua bloqueando canais de cálcio (Ca^{2+}) além de interferir em canais de K^{+} o que poderia justificar a ocorrência de batimentos cardíacos irregulares (AHIR; PRATTEN, 2014). Tal bloqueio dos canais de cálcio dos cardiomiócitos poderia diminuir os níveis de potencial de ação, causando automatismo anormal, que é principal mecanismo eletrofisiológico para a formação de RIVA (CASTELLANOS, 1969).

Sendo o TEACTH o único teste utilizado para monitorar a eficácia terapêutica na Síndrome de Cushing (LEAL, 2008; PETERSON, 2007; BEHREND, et al., 2013) seu uso na rotina clínica é muito frequente, o que justifica parte dos animais terem sido encaminhados para realização do teste com fim terapêutico, e não somente para diagnóstico de HC. Dentre os que realizaram o teste com fins diagnósticos, pode-se afirmar que o cão que testou positivo é portador de HC espontâneo. Vale salientar que, apesar de ser a melhor opção para diagnosticar HC iatrogênico, o TEACTH não é capaz de diferenciar a origem do HC espontâneo, pois avalia a reserva adrenocortical e não o eixo de produção de cortisol (PETERSON, 2007; BEHREND, 2013). Todavia, devido à clínica e aos resultados de exames laboratoriais e de imagem apresentados pelo paciente, o paciente foi classificado como portador de HPD.

5. CONCLUSÃO

Os resultados aqui obtidos, embora apontem que o ACTH sintético aparente não ser capaz de causar alteração significativa do tônus simpático no coração, alertam para a possibilidade de indução ao surgimento de RIVA e da necessidade de estudos mais aprofundados sobre o assunto.

6. REFERÊNCIAS

AHIR, B. K.; PRATTEN, M. K. Developmental cardiotoxicity effects of four commonly used antiepileptic drugs in embryonic chick heart micromass culture and embryonic stem cell culture systems. **Toxicology in Vitro**. v. 28, p. 948-960, 2014.

ATKINS, C.; BONAGURA, J.; ETTINGER, S.; *et al.* Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Canine Chronic Valvular Heart Disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, n. 6, p. 1142–1150, 2009. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19780929/>>. Acesso em: 11 Mar. 2022.

BEHREND, E. Canine hyperadrenocorticism (Cushing's Syndrome). In: FELDMAN, Edward C.; NELSON, Richard W.; REUSCH, Claudia; SCOTT-MONCRIEFF, Joanna Catharine;

BEHREND, Ellen. **Canine and Feline Endocrinology**. 4.ed. St. Louis, Missouri: Saunders, 2015. cap. 10, p. 377-451.

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, November/ December 2013.

CASTELLANOS A, et al. Mecanismos das taquicardias ventriculares lentas no infarto agudo do miocárdio. **Dis Peito**. v. 56, p.470. 1969.

CRITCHLEY, J. A.; HENDERSON, C. G.; MOFFAT, L. E.; UNGAR, A.; WAITE J.; WEST, C. P. Proceedings: the release of catecholamines from perfused canine adrenal glands by corticogluocorticoids. **The Journal of Physiology**. v. 254, n. 3, p. 30-31. January 1976

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

FURTADO, P. V.; GUISSO, D. C. R.; ROTTA, P.; FUKUMORI, R.; SOILA, R.; OLIVEIRA, C. A. Avaliação do uso de corticotropina (Acthelea) no teste de estimulação com ACTH para o controle do hiperadrenocorticismo em cães. **Anais - 3º Congresso Internacional da Associação Brasileira de Endocrinologia Veterinária**. v.1, p.75, 2017.

GONZALÉZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária**. Porto Alegre: UFRGS, 2003.

GRECO, D. S. Hyperadrenocorticism associated with Sex Steroid Excess. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 22, n. 1, p. 12-17, February 2007.

HERRTAGE, M. E. Hiperadrenocorticismo Canino. In: MOONEY, Carmel T.; PETERSON, Mark E. (Coord.). **Manual de Endocrinologia Canina e Felina**. 3.ed. São Paulo: Roca, 2009. cap. 15, p. 181-206.

JOUBERT, E. **Biological changes induced by hypercorticism in dogs: Bibliographical summary**. Tese de doutorado, Escola Nacional de Veterinária de Toulouse, 2002.

LEAL, R. A. O. **Abordagem ao diagnóstico do hiperadrenocorticismo canino: a importância dos testes funcionais – estudo retrospectivo de 8 casos clínicos**. 2008. 181 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2008.

MALIK, M.; CHAIRMAN, M. D. Heart rate variability: Standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. **European Heart Journal**. v.17, p.354-381, 1996.

MOÏSE, N. S.; FIANDERS, W.; PARIAUT, R. Beat-to-Beat Patterning of Sinus Rhythm Reveals Non-linear Rhythm in the Dog Compared to the Human. **Front Physiol**. v.22 n.10 p.1548. Jan 2020. doi: 10.3389/fphys.2019.01548. PMID: 32038271; PMCID: PMC6990411.

SIEBER-RUCKSTUHL, N.; SALESOV, E.; QUANTE, S.; et al. Effects of Trilostane on urinary Catecholamines and their metabolites in dogs with Hypercortisolism. **BMC Veterinary Research**, v. 13, n. 1, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5583971/>>. Acesso em: 11 Mar. 2022.

PETERSON, M. E. Diagnosis of Hyperadrenocorticism in Dogs. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 22, n. 1, p. 2-11, March 2007.

PÖPPL, A. G. Adrenalectomia laparoscópica no tratamento cirúrgico do hiperadrenocorticismo em cães: um desafio para a medicina veterinária. **Medvep - Revista Científica de Medicina Veterinária**, Curitiba, v. 7, p. 37-43, 2009.

ROMÃO, F. G.; LEITÃO, L. M. M.; MACHADO, L. H. A.; LOURENÇO, M. L. G.; MAMPRIM, M. J.; HECKLER, M. C. T.; DOICHE, D. P. Hiperadrenocorticismo em cães – revisão. **Clínica Veterinária**, n. 91, p. 86-92, março/abril 2011.

ANEXO 1 – PARECER CEUA



Universidade Federal de Uberlândia
Comissão de Ética na Utilização de Animais



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “Acompanhamento Eletrocardiográfico de cães submetidos ao teste de estimulação com hormônio Adrenocorticotrófico.” protocolo nº **102/19**, sob a responsabilidade de **Sofia Crivellenti Borin** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS (CEUA) da UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, em reunião **10 de Julho de 2020**.

(We certify that the project entitled “Acompanhamento Eletrocardiográfico de cães submetidos ao teste de estimulação com hormônio Adrenocorticotrófico.”, protocol **102/19**, under the responsibility of **Sofia Crivellenti Borin** - involving the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata, for purposes of scientific research - is in accordance with the provisions of Law nº 11.794, of October 8th, 2008, of Decree nº 6.899 of July 15th, 2009, and the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and it was approved for ETHICS COMMISSION ON ANIMAL USE (CEUA) from FEDERAL UNIVERSITY OF UBERLÂNDIA, in meeting of **July 10th, 2020**).

Vigência do Projeto	Início: 01/08/2020 Término: 31/07/2021
Espécie / Linhagem / Grupos Taxonômicos	Cão Variável
Número de animais	25
Peso / Idade	> 1kg /> 12 meses
Sexo	Macho e Fêmea
Origem / Local	HV-UFU
Local onde serão mantidos os animais:	HV-UFU

Uberlândia, 17 de Julho de 2020.

Prof. Dr. Lúcio Vilela Carneiro Girão
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Coordenador da CEUA
Portaria Nº 1234, 01 DE OUTUBRO DE 2019