

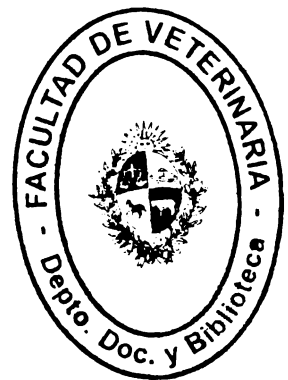
UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

EVALUACIÓN DE LA FUNCIONALIDAD ADRENAL EN CANINOS MEDIANTE
LA PRUEBA DE ESTIMULACIÓN CON ACTH, FAS Y COLESTEROL

Por

María Jimena Carbajal Acosta ↓
Paula de Souza Ramírez ↓
Carolina Latorres Cardozo ↓



TESIS DE GRADO presentada como uno
de los requisitos para obtener el título de
Doctor en Ciencias Veterinarias
Orientaciones: Medicina Veterinaria,
Producción Animal

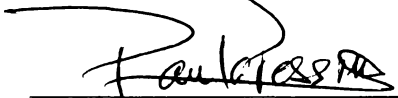
MODALIDAD: Ensayo Experimental

MONTEVIDEO
URUGUAY
2011


TE
218
C.2

TESIS aprobada por:

Presidente de Mesa:


Dra. Paula Pessina

Segundo Miembro (Tutor):


Dr. Luis Delucchi

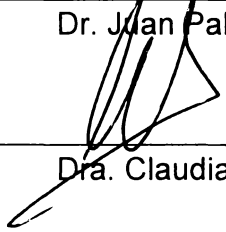
Tercer Miembro:

Dr. Danilo Fila

Tercer Miembro:

Dr. Juan Pablo Damián

Cotutor:


Dra. Claudia Della Cella

Fecha:

20/12/2010

Fecha:

11/11/2011

Autores:

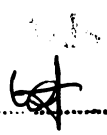
Br. María Jimena Carbajal

Br. Paula de Souza

Br. Carolina Latorres

II

FACULTAD

Aprobado por 10 (diez) 

29260

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Dr. Luis Delucchi y a la Dra. Claudia Della Cella por habernos brindado la oportunidad de participar en esta investigación científica.

A las Dras. Paula Pessina y Ana Meikle que generosamente colaboraron con nosotras en el presente trabajo.

A la Lic. Rosina Vilaró por haber brindado su orientación profesional a la hora de documentar las referencias bibliográficas de este trabajo.

A los propietarios de los perros que participaron en este estudio.

A todas las personas que nos dieron su apoyo y confianza a lo largo de nuestra formación universitaria.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN	II
AGRADECIMIENTOS	III
TABLA DE CONTENIDO	IV
LISTA DE CUADRO Y FIGURAS	VI
1. RESUMEN	1
2. SUMMARY	2
3. INTRODUCCIÓN	3
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
4.1. Anatomía de las glándulas adrenales	5
4.2. Biosíntesis y control de la secreción de los esteroides adrenales	6
4.3. Efectos de los glucocorticoides	7
4.4. Etiopatogenia	8
4.5. Incidencia	10
4.6. Signos clínicos	10
4.7. Diagnóstico	11
4.7.1. Clínica	11
4.7.2. Rutina de laboratorio	11
4.7.2.1. Hemograma	11
4.7.2.2. Bioquímica sérica	11
4.7.2.3. Análisis de orina	12
4.7.3. Laboratorio endócrino	13
4.7.3.1. Concentración plasmática del cortisol basal	13
4.7.3.2. Relación cortisol:creatinina en orina	13
4.7.3.3. Test de respuesta a la ACTH	14
4.7.3.4. Test de supresión con Dexametasona a dosis baja	16
4.7.3.5. Test de supresión con Dexametasona a dosis altas	17
4.7.3.6. Concentración plasmática de ACTH endógena	18
4.7.3.7. Medición de 17-hidroxiprogesterona	18
4.7.4. Diagnóstico por imagen	19
4.7.5. Técnicas de imagen avanzada	19
4.7.5.1. Tomografía computarizada	20
4.7.5.2. Resonancia magnética	20
4.8. Tratamiento	20
4.8.1. Hiperadrenocorticismos dependientes de la pituitaria	20
4.8.2. Hiperadrenocorticismos adreno-dependientes	21



5. OBJETIVOS	22
5.1. Objetivo general	22
5.2. Objetivos particulares	22
6. MATERIALES Y MÉTODOS	23
6.1. Diseño experimental	23
6.2. Determinación hormonal	24
6.3. Determinación de FAS y colesterol	24
6.4. Análisis estadístico	25
7. RESULTADOS	26
8. DISCUSIÓN	28
9. CONCLUSIONES	30
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

- Figura 1. Anatomía normal de las glándulas adrenales en el perro. 5
- Figura 2. Histología de las glándulas adrenales. 6
- Figura 3. Eje pituitaria-adrenal en caninos con un tumor adrenocortical funcional (TAF, izquierda) y con hiperadrenocorticismos dependiente de la pituitaria (HDP, derecha). 9
- Figura 4. Concentraciones de cortisol plasmático, antes y una hora después de la administración de ACTH sintético en perros normales, perros con hiperadrenocorticismos espontáneos y perros con hiperadrenocorticismos iatrogénicos. 15
- Figura 5. Concentraciones de cortisol plasmático, antes y 4 y 8 horas después de la administración de dexametasona en perros normales, perros con hiperadrenocorticismos espontáneos. 17
- Cuadro 1. Signos clínicos de los animales con diagnóstico presuntivo de síndrome de Cushing. 24
- Cuadro 2. Valores de colesterol y de cortisol luego de la administración de ACTH y de suero fisiológico en el grupo de animales control. 26
- Cuadro 3. Valores de FAS, colesterol y cortisol luego de la administración de ACTH en animales con diagnóstico presuntivo de síndrome de Cushing. 27

1. RESUMEN

El síndrome de Cushing es una patología asociada a la excesiva producción de glucocorticoides, producto de una disfunción del eje hipotálamo-hipófisis-adrenocortical o por la administración exógena de los mismos. Es una de las endocrinopatías más comunes en perros. La importancia de nuestro estudio es aportar a nuevas generaciones información sobre esta temática no abordada hasta el momento en facultad. El objetivo del ensayo fue evaluar la funcionalidad adrenal en caninos con diagnóstico clínico presuntivo de síndrome de Cushing, mediante la prueba de estimulación con ACTH. Como método diagnóstico complementario se determinaron la fosfatasa alcalina sérica (FAS) y la concentración de colesterol. Para el estudio se realizó un relevamiento entre los años 2006 y 2009 a nivel de la consulta en el Centro Hospital Veterinario sobre la incidencia de esta patología. Se seleccionaron 11 perros con diagnóstico presuntivo de síndrome de Cushing. A dichos animales se les realizó el test de estimulación con ACTH, se les determinó colesterol y FAS. Dos de los casos fueron positivos a la estimulación con ACTH, uno de ellos presentó colesterolemia elevada y el otro un aumento en los niveles de FAS. En base de nuestros resultados concluimos que si bien, el número de animales evaluados fue reducido, para llegar a un diagnóstico definitivo de síndrome de Cushing, la prueba de estimulación con ACTH aislada no es suficiente, es necesario realizar estudios complementarios como análisis clínicos de rutina (hemograma, lipidograma, orina), imagenología (radiografía, ecografía, resonancia magnética y tomografía computada) y por sobre todo otras pruebas endocrinas con mayor especificidad y sensibilidad (relación cortisol:creatinina en orina, determinación de ACTH endógena entre otras). Siempre que la clínica nos indique la presencia de síndrome de Cushing aunque los resultados de las pruebas diagnósticas sean negativos, no debemos descartar la enfermedad.

2. SUMMARY

Cushing's syndrome is a condition associated with excessive production of glucocorticoids, resulting from a dysfunction of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical or exogenous administration of the same. One of the most common endocrinopathies in dogs. The importance of our study is to provide information to the new generations on this subject not addressed so far in this faculty. The aim of this study was to evaluate the adrenal function in dogs with presumptive clinical diagnosis of Cushing's syndrome by ACTH stimulation test. Serum alkaline phosphatase (FAS) and the concentration of cholesterol, were determined as a complementary diagnostic method. A survey, about the incidence of this disease, between the years 2006 and 2009 was conducted at the consultation level in the Veterinary Hospital Center for this study. 11 dogs with presumptive diagnosis of Cushing's syndrome were selected. The ACTH stimulation test was performed, and cholesterol and FAS were determined. Two cases were positive for ACTH stimulation, one of them presented high cholesterol and the other an increase in the levels of FAS. Based on our results we conclude that although the number of animals tested was small, to reach a definitive diagnosis of Cushing syndrome, the ACTH stimulation test alone is not sufficient, additional studies are needed as routine clinical analysis (blood count, lipid profile, urine), imaging (radiography, ultrasound, magnetic resonance imaging and computed tomography) and above all other endocrine tests with higher specificity and sensitivity (ratio of cortisol: creatinine in urine, determination of endogenous ACTH among others). Whenever the clinic indicate us the presence of the Cushing's syndrome but the results of diagnostic tests are negative, we should not rule out the disease.

3. INTRODUCCIÓN

En 1932 el Dr. Harvey Cushing descubrió la presencia de pequeños adenomas hipofisarios con signos de hiperfunción corticosuprarrenal. Años más tarde se descubrió que estos tumores producían Hormona adrenocorticotropica en exceso con la consiguiente hiperplasia de la corteza suprarrenal bilateral (Reusch, 2006).

Luego del descubrimiento del Radioinmunoanálisis (RIA), el avance de la endocrinología animal ha sido vertiginoso. El desarrollo del diagnóstico de las patologías endocrinas en animales a producido la aparición de laboratorios específicos en todo el mundo. En los últimos cuarenta años con la introducción del radioinmunoanálisis y técnicas relacionadas, la evaluación de la función endocrina ha presentado un avance extraordinario. Estos métodos han permitido medios altamente específicos y sensitivos para medir hormonas en suero, plasma, leche y otros líquidos corporales (Matamoros y col., 2002).

El diagnóstico específico de las endocrinopatías se realiza por medio de determinación basal de algunas hormonas y/o luego de un test de supresión o estimulación. Por lo tanto un laboratorio que brinde los servicios de diagnóstico en pequeños animales debe contar con las metodologías adecuadas para diagnosticar las patologías endocrinas más comunes como: síndrome de Cushing, hipotiroidismo y diabetes mellitus (Reusch, 2006; Feldman y Nelson, 2007).

El síndrome de Cushing es un trastorno multisistémico caracterizado por la excesiva producción de glucocorticoides producto de una disfunción del eje hipotálamo-hipófisis-adrenocortical o por administración exógena de los mismos (Cayzer, 1993). Es una de las endocrinopatías de mayor presentación en caninos y rara en felinos.

El síndrome de Cushing puede responder a diversas etiologías:

1) ACTH dependiente "Enfermedad de Cushing": el síndrome de Cushing dependiente de la pituitaria (HDP), es la causa más corriente de hiperadrenocorticismos espontáneos, representando cerca del 80 al 85% de los casos en caninos.

2) ACTH independiente: se trata de hipercortisolismos primarios. Representan el restante 15 a 20% de los casos de hiperadrenocorticismos espontáneos en caninos. El 95% de los casos son causados por tumores adrenocorticales (TAF), 4,5% por hiperplasia macronodular o micronodular adrenal y un pequeño número de casos se deben a la presencia de receptores aberrantes en la glándula adrenal.

3) Síndrome de Cushing iatrogénico, debido a la administración excesiva de glucocorticoides para controlar condiciones alérgicas o inmunomediadas.

Ante la sospecha de síndrome de Cushing se requieren además de la presencia de los signos clínicos característicos de la enfermedad realizar pruebas diagnósticas (hematología, perfil bioquímico, análisis de orina,

radiografías, ecografías, tomografía computarizada y resonancia magnética) para intentar diagnosticar o descartar el síndrome de Cushing (Bush, 1999).

Para llegar al diagnóstico definitivo de esta patología se requieren pruebas específicas mediante determinación hormonal. La determinación de los niveles basales de cortisol no son de ayuda diagnóstica, ya que son muy variables y se afectan por el estrés del muestreo. Por tal motivo el diagnóstico específico de síndrome de Cushing se basa en la determinación de cortisol luego de la estimulación con ACTH o la respuesta supresora de los niveles de cortisol luego de la administración de dexametasona (Behrend y Kemppainen, 2001). Esta última, se realiza a bajas dosis (0,01 mg/kg) para diagnosticar hiperadrenocorticismos, o a altas dosis (0,1 mg/kg) para diferenciar el origen del mismo ya sea tumores adrenocorticales o hipofisarios. Sin embargo, el diagnóstico es mucho más amplio y estas son solamente algunas de las pruebas dinámicas que ayudan a diagnosticar. La más utilizada es la relación cortisol:creatinina, la bioquímica sanguínea y el diagnóstico imagenológico (Resonancia Magnética y Tomografía Axial Computada) (Pessina, P., 2009. Comunicación personal).

La importancia de nuestro estudio es aportar a nuevas generaciones información sobre esta temática no abordada hasta el momento en facultad. En Uruguay, las patologías endocrinas hasta el 2009 carecían de un servicio diagnóstico específico, con valores propios de referencia. En la mayoría de los casos se remitían las muestras a laboratorios de análisis clínicos para humanos, lo cual hace que las determinaciones sean de escaso o nulo valor diagnóstico por la falta de información a cerca de los rangos que se consideran normales en pequeños animales.

El presente ensayo tuvo como objetivos evaluar la funcionalidad adrenal en caninos con diagnóstico presuntivo de síndrome de Cushing, mediante la prueba de estimulación con ACTH y conocer el valor que el test tiene para detectar la enfermedad. Se estudiará la correlación existente entre la sintomatología clínica y la positividad del test.

Como método complementario en el diagnóstico se determinó la FAS y el colesterol. Por otro lado queremos evaluar si existe asociación y concordancia entre esta prueba y los valores de FAS y colesterol.

4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1. Anatomía de las glándulas adrenales

Las glándulas adrenales son pares y se encuentran en el techo del abdomen, cerca de la unión toracolumbar, craneomedial a los riñones y son retroperitoneales. Son blanco amarillentas, asimétricas, irregulares y aplanadas dorsoventralmente y miden 2 a 3 cm de largo por 1 cm de ancho en las razas de tamaño mediano. Se hallan conectadas a los grandes vasos del abdomen, aorta a la izquierda y vena cava caudal a la derecha; moldeándose a ellos (Dyce y col., 2002).

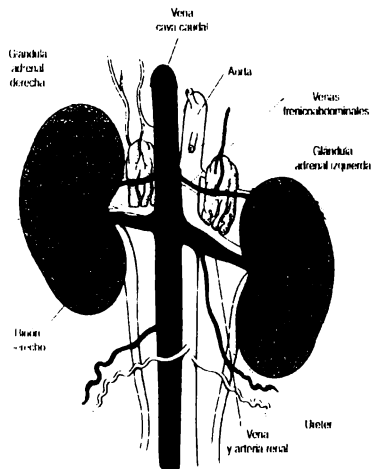


Figura 1. Anatomía normal de las glándulas adrenales en el perro. Tomado de Fossum, 2009.

Histológicamente las adrenales muestran una corteza de color amarillo oro pálido y una médula marrón oscura. La corteza se encuentra cubierta por una cápsula fibrosa y se divide en tres zonas. La zona externa se denomina glomerular (25%) y secreta mineralocorticoides. Las subyacentes son la fascicular (60%) y la reticular (15%), ambas secretan glucocorticoides y hormonas sexuales. La médula constituye del 10 – 20% del volumen de la glándula adrenal, está compuesta por células (cromafines) que producen adrenalina y noradrenalina (Chastain, 1990; Dyce y col., 2002).

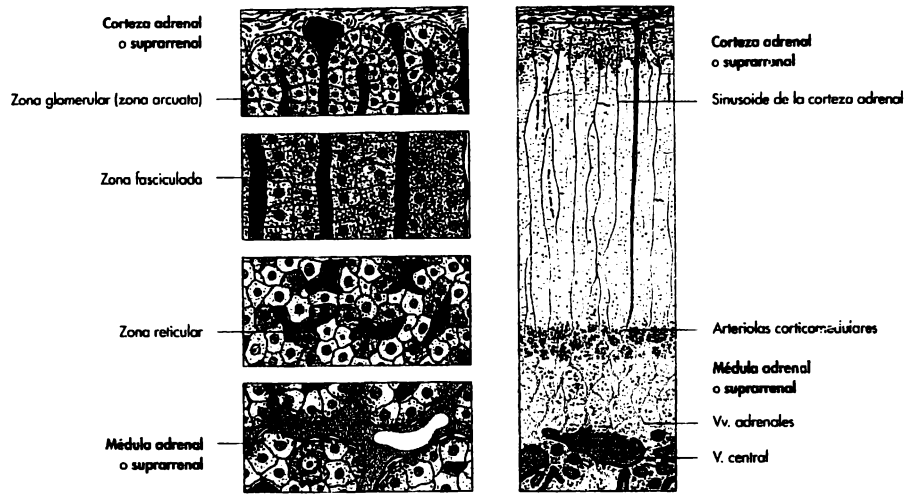


Figura 2. Histología de las glándulas adrenales. Tomado de König y Liebich, 2005.

Estas glándulas están irrigadas por las ramas de vasos adyacentes, la aorta, arterias renales, frenicoabdominal, lumbares y mesentérica craneal. La inervación es difusa y proviene de ramas de los plexos celíaco y mesentérico.

4.2. Biosíntesis y control de la secreción de los esteroides adrenales

La biosíntesis de todas las hormonas adrenocorticales se realiza a partir del colesterol por medio de reacciones enzimáticas. La conversión del colesterol a pregnenolona, inmediato precursor de todas las hormonas esteroideas, se ve facilitada por la ACTH. Sin esta se produce menos de un 10% de la síntesis normal de corticosteroides adrenales. De pregnenolona por acción de la enzima 17 α -hidroxilasa pasa a 17-hidroxipregnenolona, la cual se transforma en 17-hidroxiprogesterona por medio de la 3 β -deshidrogenasa, luego a 11-desoxicortisol por acción de la 21 β -hidroxilasa y finalmente a cortisol por acción de la 11 β -hidroxilasa. La producción de corticosteroides adrenales (principalmente cortisol) inhibe la liberación de ACTH (Chastain, 1990). Los adrenocorticosteroides se catabolizan en riñón, hígado y órganos blanco siendo el hígado quién metaboliza la mayor parte de estos. Los corticosteroides adrenales son excretados por orina después de la conjugación a glucurónidos o esterificados a sulfatos (Chastain, 1990).

Los neurotransmisores del sistema nervioso central regulan la liberación de hormonas hipofisótropas, tales como hormona liberadora de corticotropina (CRH) y arginina vasopresina (AVP). La secreción de CRH es estimulada por serotonina y acetilcolina e inhibida por noradrenalina y GABA (ácido gama aminobutírico), y la de AVP es estimulada por dopamina y acetilcolina e inhibida por serotonina y GABA. Tanto CRH como AVP se consideran las principales neurohormonas estimulantes de la secreción de ACTH. La CRH y la AVP se liberan en el sistema porta-hipotálamo-hipofisario y se trasladan hasta las células corticotropas de la adenohipófisis, donde estimulan la liberación de

ACTH. A su vez, la ACTH estimula en la corteza adrenal la síntesis y secreción de varias hormonas, como glucocorticoides y hormonas sexuales en la zona fascicular y reticular y mineralocorticoides en la zona glomerular. La síntesis y liberación de glucocorticoides están reguladas casi exclusivamente por la ACTH. El cortisol es el principal glucocorticoide endógeno, el cual produce un feedback negativo sobre la liberación de ACTH (Reusch, 2006; Feldman y Nelson, 2007).

Existen diferentes mecanismos que afectan el control neuroendócrino:

- La liberación pulsátil y circadiana de ACTH influida por el hipotálamo.
- El estrés desencadena un incremento en la secreción de CRH y AVP, lo que produce la secreción de ACTH y cortisol a los pocos minutos (Feldman y Nelson, 2007).
- El cortisol y glucocorticoides sintéticos ejercen una retroalimentación negativa a nivel del hipotálamo e hipófisis sobre la secreción de ACTH. Existe una retroalimentación rápida sensible a los cambios en la cortisolemia, cuya inhibición afecta a la secreción estimulada, pero no la basal; y una lenta sensible a la concentración de cortisol absoluta, que afecta la liberación de ACTH basal y estimulada (Reusch, 2006; Feldman y Nelson, 2007).
- La liberación de interleucina (IL1, IL6), factor de necrosis tumoral (TNF) y otras citocinas asociadas al eje hipotálamo-hipófisis-adrenal afectan el control neuroendócrino (Reusch, 2006). La liberación de citocinas (al igual que el dolor, la lesión tisular, la hipotensión, la hipoglucemia, la hipoxia y otras señales del organismo) son percibidas y transmitidas al sistema nervioso central y al hipotálamo los cuales integran dichas señales aumentando o disminuyendo la liberación de CRH (Martínez Franco y col., 2004)

4.3. Efectos de los glucocorticoides

El cortisol ejerce su acción principalmente sobre el metabolismo de los carbohidratos, proteínas y lípidos.

Los efectos de estos son:

- En el hígado aumenta la gluconeogénesis.
- Disminuye el transporte de glucosa y por lo tanto baja la utilización en tejidos.
- Aumenta la glucosa en sangre que conduce a un aumento de la glicemia secundario.
- Aumenta el catabolismo proteico, produciendo en el músculo esquelético debilidad y atrofia muscular; y en la piel atrofia cutánea, alopecia y pobre cicatrización.
- En el hueso provoca osteopenia debido al aumento de la excreción de calcio y la inhibición de la activación de la vitamina D.
- En el tejido adiposo aumenta la lipólisis y produce redistribución de la grasa.
- En el riñón aumenta el índice de filtración glomerular causando interferencia con la emisión o acción de la hormona antidiurética sobre

los túbulos renales, produciendo aumento de la diuresis. También se incrementa la excreción de calcio y potasio por la orina.

- En la sangre produce eritrocitosis, neutrofilia, linfopenia y eosinopenia.
- En el sistema inmunitario provoca disminución de la respuesta inflamatoria e inmunitaria.
- En hipotálamo e hipófisis hay supresión de CRH y ACTH.

4.4. Etiopatogenia

El síndrome de Cushing responde a diversas etiologías:

- A. ACTH dependiente de la pituitaria
- B. ACTH independiente:
 - Tumores adrenocorticales (TAF)
 - Hiperplasia adrenal
 - Receptores aberrantes en la glándula adrenal
- C. Iatrogénico

A. ACTH dependiente "Enfermedad de Cushing": el síndrome de Cushing dependiente de la pituitaria (HDP), es la causa más corriente de hiperadrenocorticismos espontáneos, representando cerca del 80 al 85% de los casos en caninos, siendo la mayoría de origen tumoral (Corticotropinoma: tumor de células del área corticotropa de la hipófisis) y un pequeño porcentaje se asocia a hiperplasia de células corticotrópicas.

Los tumores pituitarios son adenomas de las células corticotrópicas y menos frecuentes los adenocarcinomas. Los adenomas se clasifican en microadenomas menores a 10 mm de diámetro y macroadenomas mayor a 10 mm, estos últimos representan el 10 a 15 %. No solo presentan capacidad de secretar hormona adrenocorticotrópica (ACTH), sino que también liberan cantidades excesivas de precursores de ACTH. La concentración de precursores de ACTH es mayor en aquellos tumores hipofisarios de gran tamaño, en comparación con los de tumores pequeños.

En alrededor del 70% de los perros con HDP el tumor se origina en la pars distalis, mientras que 30% surgen a partir de las células A o B de la pars intermedia.

Los HDP se caracterizan por una sobreproducción de ACTH, la que induce hiperplasia adrenocortical bilateral e hipercortisolismo. En esta, falta el mecanismo inhibitorio normal de la secreción de ACTH por los niveles fisiológicos de glucocorticoides. Debido a esto la hipersecreción de ACTH persiste a pesar de la aumentada secreción de cortisol. La secreción episódica de ACTH y cortisol redundan en concentraciones plasmáticas fluctuantes que en ocasiones pueden estar dentro del rango normal (Márquez y col., 2000; Nelson, 2005; Reusch, 2006).

B. ACTH independiente: se trata de hipercortisolismos primarios. La glándula adrenal genera cortisol sin regulación del eje hipotálamo-hipófisis. Representan el restante 15 a 20 % de los casos de hiperadrenocorticismos espontáneos en caninos.

- Los tumores adrenocorticales (TAF), representan el 95% de los casos ACTH independientes. Se distinguen dos tipos de tumores, adenomas (40%) y

carcinomas (55%). Los adenomas son pequeños, bien circunscriptos, no dan metástasis y no son invasivos localmente; y los carcinomas de mayor tamaño que pueden invadir estructuras locales (riñón, vasos sanguíneos, hígado, vena cava, aorta y retroperitoneo) o hacer metástasis por vía hematógena hacia hígado y pulmones, son hemorrágicos y necróticos.

Estos tumores son autónomos, funcionales y en la mayoría de los casos unilaterales y solitarios, aunque en el 10% son bilaterales. Suelen estar afectadas en igual frecuencia la glándula derecha e izquierda. Secretan cortisol independientemente de la regulación hipofisaria, quien a su vez inhibe a la hormona liberadora de corticotropina (CRH) en el hipotálamo y a la ACTH en la hipófisis, causando la atrofia cortical de la adrenal no afectada y la atrofia de todas las células normales en la glándula afectada. Esta atrofia crea asimetría en el tamaño de la glándula adrenal (Nelson, 2005; Reusch, 2006; Feldman y Nelson, 2007).

- Hiperplasia macronodular o micronodular adrenal. Formación de nódulos (uni o bilateral) en la adrenal (se los suele confundir con adenomas), provocados por una reacción exagerada al estímulo normal de la ACTH. Estos nódulos responden a la ACTH produciendo más cortisol, representan el 4,5%.

- Receptores aberrantes en la glándula adrenal. Son receptores a otras hormonas o péptidos, como LH o el VIP (péptido intestinal vasoactivo), que se expresan en la glándula induciendo la síntesis de cortisol. En estos casos la hiperplasia es bilateral.

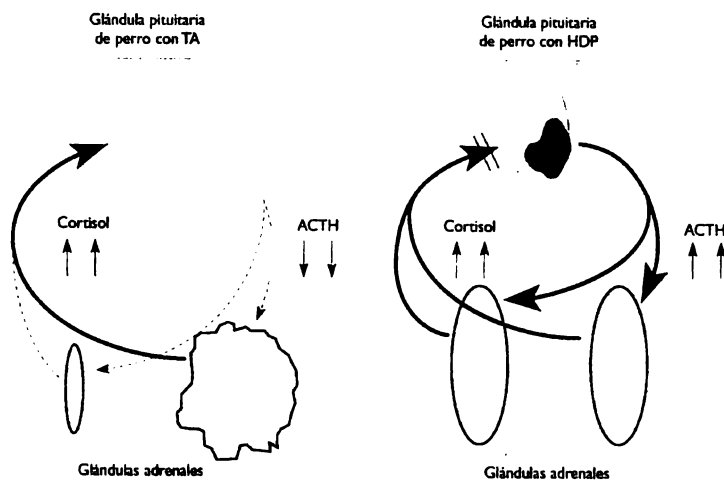


Figura 3. Eje pituitaria-adrenal en caninos con un tumor adrenocortical funcional (TAF, izquierda) y con hiperadrenocorticismos dependiente de la pituitaria (HDP, derecha). Tomado de Nelson, 2005.

C. El síndrome de Cushing iatrogénico, se debe a la excesiva administración de glucocorticoides o por períodos prolongados, para controlar condiciones alérgicas o inmunomediadas; también como resultado de la administración de medicaciones oculares, óticas o cutáneas que contengan glucocorticoides, en especial en perros pequeños (menos de 10 kg) tratados en forma crónica. Dado que el eje hipotálamo-hipófisis-adrenocortical es normal, la administración excesiva y prolongada de glucocorticoides suprime a la CRH

hipotalámica y concentraciones plasmáticas de ACTH circulantes, causando la atrofia adrenocortical bilateral (Nelson, 2005).

4.5. Incidencia

El síndrome de Cushing se presenta con mayor frecuencia en perros de 6 años de edad o más (promedio de 9 a 11 años) y las razas más predispuestas son Caniche, Pastor alemán, Dachshund, Labrador retriever, Boxer, Beagle y varias razas Terrier. Al parecer no hay una predisposición sexual pero los TAF parecen ser más frecuentes en hembras que en machos (Nelson, 2005). Entre un 45 a 50% de los perros con un TAF pesan más de 20 Kg (Reusch, 2006; Mooney, 2007). El 55 a 60% de los perros con HDP son hembras y ocurre con mayor regularidad en perros pequeños, el 75% de los cuales pesa menos de 20 Kg (Nelson, 2005; Feldman y Nelson, 2007; Ramsey y Ristic, 2007).

En perros con síndrome de Cushing ACTH dependiente, provocado por la presencia del adenoma productor de ACTH o corticotropinoma, se vio que esta enfermedad es más frecuente en la hembra (60 a 74% de los casos) y de evolución diferente en el tiempo respecto al macho (Gallelli y col., 2009). También hubo diferencias entre sexos respecto a la edad de presentación y la proyección tumoral (adenomas extra o intraselares), en la hembra aumenta progresivamente con la edad (mayor frecuencia entre los 7 y 10 años) y en el macho se dan picos a los 6, 8 y 10 años. En cuanto a la proyección del adenoma la concentración de ACTH es significativamente mayor en tumores extraselares (ES) que en los intraselares (IS); los ES predominan en hembras, mientras que en el macho los que predominan son los ubicados dentro de la silla turca (Gallelli y col., 2009).

4.6. Signos clínicos

Los signos clínicos en caninos con síndrome de Cushing se pueden atribuir en gran medida al exceso crónico de glucocorticoides y en menor medida a la sobreproducción de andrógenos suprarrenales. En unos pocos casos los síntomas se deben al crecimiento tumoral, a la invasión local del tumor o a metástasis (Reusch, 2006).

Los signos clínicos son la secuela de los efectos neoglucogénicos, inmunosupresores, antiinflamatorios, catabólicos proteicos y lipolíticos que ejercen los glucocorticoides sobre casi todos los sistemas del organismo. No se puede diferenciar un HDP de un TAF por el tipo o duración de los síntomas. Los mismos pueden variar desde leves a graves dependiendo de la duración de la enfermedad y el grado de exceso de cortisol (Reusch, 2006; Ramsey y Ristic, 2007).

Los síntomas son poliuria, polidipsia, polifagia, obesidad del tronco o aumento del tamaño de abdomen (causado por hepatomegalia, atrofia muscular o acumulación de grasa intraabdominal), pelo fino, incapacidad para que vuelva a crecer el pelo rasurado, alopecia (puede o no ser bilateral simétrica, generalmente sin afectar cabeza y extremidades), piel delgada, piodermia, jadeo, debilidad muscular, atrofia muscular, letargia y claudicación. Entre los menos frecuentes se encuentran intolerancia al calor, seborrea, comedones, hiperpigmentación, calcificaciones ectópicas (calcinosis cutánea, de anillos traqueales, paredes bronquiales y riñones y, rara vez, arterias y venas), contusiones, atrofia testicular, anestro, hipertrofia de clítoris y parálisis facial.

En casos raros los perros afectados desarrollan una marcha envarada característica, casi siempre limitada a las extremidades pélvicas denominada miotonía (Chastain, 1990; Reusch, 2006; Feldman y Nelson, 2007).

Es importante destacar que el número y la gravedad de los signos varían significativamente. Los perros pueden presentar un único signo o casi todos los signos enumerados (Reusch, 2006)

El curso de la enfermedad generalmente es insidioso y lentamente progresivo, y en algunas ocasiones los signos son intermitentes, con períodos de remisión y de recaída en los perros con trastornos leves (Reusch, 2006).

4.7. Diagnóstico

4.7.1. Clínica

Tanto la anamnesis como el examen físico son de suma importancia y tiene gran peso en el diagnóstico de Síndrome de Cushing. Pese a esto se requieren además pruebas diagnósticas complementarias, como hematología, perfil bioquímico, análisis de orina, radiografías de tórax y abdomen, y ecografías de abdomen para descartar otras enfermedades con signos clínicos similares, tales como Insuficiencia renal crónica, Diabetes, enfermedades hepáticas, Hipotiroidismo y los efectos secundarios de fármacos anticonvulsivos.

4.7.2. Rutina de laboratorio

4.7.2.1. Hemograma

Las posibles alteraciones en el hemograma son: leucocitosis con neutrofilia, linfopenia, eosinopenia, monocitosis leve, eritrocitos normales o ligera policitemia y plaquetas aumentadas.

La neutrofilia no implica una mayor resistencia a infecciones de los perros afectados, ya que la función celular se encuentra alterada.

El leucograma de estrés (Leucocitosis moderada, Neutrofilia madura, Linfopenia, Eosinopenia, Monocitosis) es inespecífico y se observa en diversas patologías (Reusch, 2006).

4.7.2.2. Bioquímica sérica

Según Nelson (2005) el incremento de la FAS y de la concentración de colesterol son los indicadores más confiables de síndrome de Cushing; la FAS y colesterolemia incrementan en aproximadamente el 95% y 75% de los perros con hiperadrenocorticismos, respectivamente.

La FAS está constituida por un grupo de isoenzimas producidas por las células de varios órganos: hígado, hueso, intestino, riñón y placenta, que catalizan la hidrólisis de los ésteres de fosfato. La principal fuente de FAS es el hígado; el incremento en la actividad plasmática se debe a las isoenzimas que derivan del hígado y del hueso esta última contribuye con mínimas cantidades en la circulación. Estas tienen una vida media aproximada de tres días. Las FAS intestinal, placentaria y renal no son detectables en el suero porque sus vidas medias por lo usual es de minutos. En el perro hay dos isoenzimas que derivan del hígado, una de ellas que se encuentra en la membrana canalicular biliar de

los hepatocitos es inducida específicamente por esteroides (Feldman y Nelson, 2007).

Es una prueba de laboratorio inespecífica que se mide como parte rutinaria del perfil bioquímico ante la sospecha de síndrome de Cushing (Bush, 1999; Meyer y Harvey, 2000).

La FAS está aumentada en la mayoría de los perros con hipercortisolemia endógena o la administración exógena de glucocorticoides. En más del 90% de los casos esta aumentada 5 – 40 veces mayor que el límite superior del rango de referencia. Aproximadamente el 85% de los perros con hiperadrenocorticismos tienen actividades de FAS que superan las 150 UI/L; los valores mayores a 1000 UI/L son comunes (Feldman y Nelson, 2007). Sin embargo, una concentración de FAS normal no excluye el diagnóstico de la enfermedad. Los valores de FAS son predictivos pero no específicos del síndrome de Cushing ya que la isoenzima inducida por glucocorticoides puede aumentar en hepatopatías, diabetes mellitus y en perros tratados con anticonvulsivantes y con glucocorticoides (Herrtage, 2007).

Las concentraciones de triglicéridos y colesterol, normalmente están aumentadas debido a la estimulación de la lipólisis por parte de los glucocorticoides.

El colesterol es el precursor de todas las hormonas esteroideas, como hormonas sexuales y glucocorticoides. Las lipoproteínas ricas en colesterol son: las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y las lipoproteínas de alta densidad (HDL). Las LDL actúan como fuente de colesterol para las células periféricas (por ejemplo, de la glándula adrenal) y HDL transportan el colesterol desde las células periféricas hasta el hígado (Bush, 1999).

El 90% de los perros con síndrome de Cushing tienen aumentos de la concentración plasmática de colesterol, aunque no es un hallazgo específico ya que también aumenta en hipotiroidismo, diabetes mellitus, trastorno colestásico del hígado y nefropatías con pérdida de proteínas. Aproximadamente el 10% de los perros hiperadrenales tienen colesterolemias menores de 250 mg/dl; el 15% tiene 250 – 300 mg/dl y el 75% presenta concentraciones mayores a 300 mg/dl. Este trastorno se asocia con frecuencia con lipemia y se presenta al menos con la misma frecuencia que la hipercolesterolemia (Bush, 1999; Feldman y Nelson, 2007).

Por otro lado la alaninoaminotransferasa (ALT) sufre un leve aumento (inferior a 400 UI/L), que se atribuye a una pérdida hepatocelular asociada a tumefacción celular o una necrosis leve (Reusch, 2006).

Los valores de urea y creatinina se encuentran normalmente disminuidos, debido a la poliuria que produce un incremento en la filtración glomerular y por disminución de la formación de urea debida a la hepatopatía (Peterson y col., 1981; Chastain y Ganjam, 1986; Chastain, 1990).

4.7.2.3. Análisis de orina

La densidad en la orina es menor a 1015 y a veces hipostenúrica, debido a que no se retiene agua. Para determinar la densidad específica se recomienda que el dueño obtenga una muestra de orina en casa, ya que en un entorno estresante como lo es el hospital veterinario, con frecuencia se reduce la ingestión de agua, concentrando la orina hasta densidades de 1025 – 1035 (Reusch, 2006).

En un 45% de los casos se presenta proteinuria por infecciones urinarias o lesiones glomerulares causadas por la inmunosupresión producida por los glucocorticoides (Nelson, 2005).

En los perros con hiperglicemia sintomática se observa glucosuria (Reusch, 2006).

4.7.3. Laboratorio endócrino

Un diagnóstico definitivo requiere de pruebas endócrinas que evalúan la funcionalidad de la corteza adrenal.

4.7.3.1. Concentración plasmática del Cortisol basal

La concentración de la cortisolemia basal, carece prácticamente de valor diagnóstico en el intento de confirmar la presencia de síndrome de Cushing en caninos. La concentración de cortisol es fluctuante en el día y se ve afectada por el estrés del muestreo. La cortisolemia basal promedio en los perros enfermos está significativamente por encima de la media de los ejemplares normales, pero los resultados por lo usual todavía se encuentran dentro de los rangos de referencia (0,5 – 6 µg/dl) (Feldman y Nelson, 2007).

Estudio realizado para determinar la concentración sérica de cortisol basal mediante radioinmunoanálisis, demostró que la concentración de la hormona es menor en animales entre 1 y 6 semanas de edad y que no hay diferencias significativas entre machos y hembras. También observaron que la concentración de cortisol sérica era mayor en animales de razas pequeñas (Reimers y col, 1990).

4.7.3.2. Relación cortisol:creatinina en orina

La evaluación de la relación de cortisol:creatinina ha demostrado ser un test fácil y valioso para el síndrome de Cushing.

Midiendo el cortisol en la orina en una muestra por la mañana (lo ideal es recolectar la orina de 24 horas), la concentración reflejará la emisión del mismo por un período de varias horas, ajustando de ese modo, las fluctuaciones de cortisol en el plasma. La cantidad de cortisol en orina es proporcional a la concentración plasmática durante el período que la orina se ha formado.

La relación entre la concentración de cortisol y creatinina en orina proporciona una corrección de cualquier diferencia en la orina.

La orina se recoge en la mañana para hacer las estimaciones de cortisol y creatinina. Recoger muestras de orina durante 2 mañanas consecutivas (propietario y en ambiente casero). Las muestras se combinan y se utiliza como muestra única para el análisis.

La relación cortisol:creatinina en orina se determina dividiendo la concentración de cortisol en la orina (µmol/l) entre la concentración de creatinina en orina (µmol/l).

La relación cortisol:creatinina en orina está aumentado por encima de lo normal en perros con síndrome de Cushing. Sin embargo, esta relación también aumenta en algunos perros con enfermedad no adrenal, estresados por manejo u hospitalización. Por esta razón, mientras este test fácil parece altamente sensible detectando síndrome de Cushing en perros, no es específico ya que

puede aumentar en perros con enfermedad no adrenal (debilidad muscular, disminución de la funcionalidad renal) (Rijnberk y col, 1988; Dunn, 1997). Este método no diferencia de manera fiable entre el síndrome de Cushing independiente del dependiente de la pituitaria, a menos que la relación exceda 100×10^{-6} , cuando es probable que el perro sufra un síndrome de Cushing ACTH dependiente. La relación cortisol:creatinina de referencia en perros normales es menor a 10×10^{-6} (Reusch, 2006; Herrtage, 2007). Mediante la determinación de la relación cortisol:creatinina en orina, la probabilidad de que un perro con resultado negativo al test no esté enfermo es superior que con la prueba de dexametasona a dosis baja (Rijnberk y col, 1988).

4.7.3.3. Test de respuesta a la ACTH

La prueba de estimulación con ACTH consiste en la administración ACTH sintética y mide la respuesta de las glándulas adrenales a una estimulación máxima con ACTH. Su principal función es diagnosticar o descartar una insuficiencia de la corteza adrenal. Tiene una sensibilidad del 60% al 85% y una especificidad del 85% al 90% (Reusch, 2006).

Es una técnica relativamente confiable, sencilla y segura para la evaluación diagnóstica de perros sospechosos de síndrome de Cushing y si se efectúa antes de iniciar el tratamiento rinde información útil para las comparaciones postratamiento. Este test permite distinguir hiperadrenocorticismos espontáneos de iatrogénicos, pero no diferencia entre HDP y TAF (Dunn, 1997; Mooney, 2007).

Los perros con HDP tienen hiperplasia adrenocortical secundaria a la estimulación excesiva crónica por la ACTH. Estas adrenales hiperplásicas tienen la capacidad de sintetizar y secretar cantidades excesivas de cortisol. Los perros con TAF (adenomas y carcinomas) poseen una similar capacidad anormal para secretar y sintetizar cortisol en exceso. En consecuencia, los perros con HDP o TAF pueden responder exageradamente a la estimulación con ACTH (Feldman y Nelson, 2007). Aproximadamente el 80% de los perros con HDP responden exageradamente a prueba de estimulación con ACTH, mientras que solo el 60% con TAF tienen estos resultados (Mooney, 2007).

Cerca del 20% de los perros hiperadrenales tienen resultados normales. Si hay sospecha de síndrome de Cushing, el diagnóstico no debería excluirse en función de resultados normales en la estimulación con ACTH (Feldman y Nelson, 2007).

La prueba de estimulación con ACTH en algunas ocasiones puede dar resultados falsos positivos. Las adrenales en perros bajo estrés prolongado como en caso de enfermedad renal crónica, diabetes mellitus, enfermedad hepática, sepsis o neoplasias, pueden responder excesivamente a la prueba (Cayzer y Jones, 1993; Kaplan y col, 1995; Ramsey y Ristic, 2007).

Se han descrito varios protocolos que utilizan gel acuoso de ACTH o un polipéptido sintético. Se colecta muestra de sangre (suero o plasma heparinizado) para medir niveles de cortisol. Las muestras se obtienen antes y 1 hora después de la inyección de 2,2 UI/Kg de gel de ACTH. Con los preparados sintéticos la mayoría de los protocolos recomiendan extraer la sangre antes y 1 hora después de la administración intramuscular o intravenosa de 250 µg por animal de ACTH sintética. Sin embargo, también se

puede lograr una estimulación máxima de las glándulas adrenales con una dosis de 5 µg sintético por Kg de peso corporal (Reusch, 2006).

El cortisol se determina por medio de radioinmunoanálisis (RIA), método por el cual una hormona marcada compite con la no marcada por los sitios de unión al anticuerpo.

La concentración de cortisol basal se encuentra en el rango de 0,5 a 6 µg/dl, y el valor normal post-estimulación es de 6 a 17 µg/dl. Los valores post-ACTH entre 17 y 22 µg/dl se consideran limítrofes, y los de 22 µg/dl o más altos son compatibles con diagnóstico de la enfermedad (Feldman y Nelson, 2007).

Otros autores consideran hiperrespuesta a los valores de cortisol superiores a 17 µg/dl (Castillo, V., comunicación personal).

Los perros con síndrome de Cushing iatrogénico tienen una respuesta aplanada o nula a la administración con ACTH (Kintzer y col., 2002).

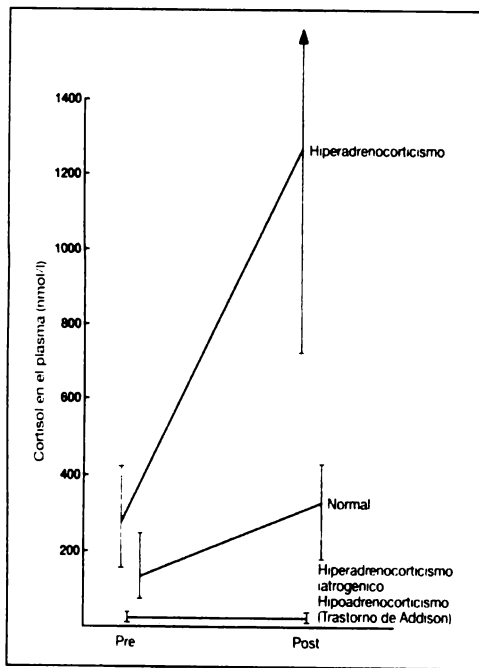


Figura 15.24
Test de respuesta a la ACTH. Interpretación de las concentraciones de cortisol en el plasma determinadas an-

Figura 4. Concentraciones de cortisol plasmático, antes y una hora después de la administración de ACTH sintético en perros normales, perros con hiperadrenocorticismio espontáneo y perros con hiperadrenocorticismio iatrogénico. Tomado de Herrtage, 2007.

4.7.3.4. Test de supresión con dexametasona a dosis baja

La dexametasona es un glucocorticoide sintético que no presenta reacciones cruzadas con las pruebas de cortisol, y por lo tanto se puede utilizar para evaluar el eje hipófisis-glándula adrenal. Se basa en la inhibición que los glucocorticoides ejercen, a través de la retroalimentación negativa, sobre la hipófisis para disminuir la secreción de ACTH, como consecuencia ocurre disminución del cortisol plasmático. Lo que medimos es el cortisol sérico por medio de RIA.

En los perros, la concentración de cortisol desciende 2 a 3 horas después de la administración de dexametasona y permanece baja durante 24 a 48 horas ($< 1,4 \mu\text{g/dl}$) (Reusch, 2006).

En los perros con hiperfunción corticoadrenal, el eje hipófisis-glándula adrenal es anormalmente resistente a los efectos inhibidores de la dexametasona, o ésta se metaboliza más rápido de lo normal. En vez de la depuración normal de 24 a 48 horas, aproximadamente el 75% de los perros con síndrome de Cushing depuran la dexametasona del plasma en menos de 8 horas (por lo regular en 3 a 6 horas). De éste modo, la depuración esta acelerada en el síndrome de Cushing canino (Feldman y Nelson, 2007).

En la prueba de inhibición con dosis bajas de dexametasona se extraen muestras de sangre antes y 4 y 8 horas después de la administración intravenosa de dexametasona en dosis de $0,01 \text{ mg/kg}$. En los perros sanos, la concentración de cortisol es inferior a $1,4 \mu\text{g/dl}$ a las 4 y 8 horas de la administración de dexametasona. Para detectar la hiperfunción corticoadrenal se utiliza la concentración de cortisol 8 horas después de la administración de dexametasona; una concentración superior a $1,4 \mu\text{g/dl}$ es indicativa de hiperfunción corticoadrenal (Reusch, 2006).

La sensibilidad de la prueba 8 horas después de la administración de dexametasona es más alta (85 – 95%) que su especificidad (70 – 75%) (Reusch, 2006).

Como prueba diferencial también se usa la concentración de cortisol a las 4 y 8 horas de la administración de dexametasona. En los perros con TAF, la secreción de ACTH hipofisaria se inhibe como resultado de la secreción autónoma del cortisol en el tumor. La administración de dexametasona no ejerce efecto alguno sobre la hipófisis, por lo que continúa la secreción de cortisol. Los tumores hipofisarios presentan distinta sensibilidad al proceso de retroalimentación inhibidora y el resultado son diferentes patrones de respuesta a la dexametasona (Reusch, 2006).

Esta prueba se puede usar para identificar a perros con HDP según 3 criterios: una concentración de cortisol a las 4 horas inferior a $1,4 \mu\text{g/dl}$, una concentración de cortisol a las 4 horas inferior al 50% de la concentración basal del cortisol y una concentración de cortisol a las 8 horas inferior al 50% de la concentración basal del cortisol, pero igual o superior a $1,4 \mu\text{g/dl}$. Cuando se cumple 1 o más de estos criterios es probable que el perro presente HDP.

En conclusión, si hay supresión temporal a las 4 horas pero “escapa” a las 8 horas nos hace sospechar un HDP.

Aproximadamente el 25% con HDP tienen concentraciones de cortisol a las 4 horas inferiores a $1,4 \mu\text{g/dl}$, el 60% una concentración de cortisol a las 4 horas inferior al 50% de la concentración basal de cortisol y el 25% una concentración de cortisol a las 8 horas inferior al 50% de la concentración basal de cortisol. En conjunto, aproximadamente el 60% de los perros con HDP cumplen al

menos uno de los tres criterios. En aproximadamente el 40% de los perros con HDP y en casi todos los perros con TAF hay resistencia a la dexametasona (no se cumple ningún criterio) (Reusch, 2006).

La prueba de dexametasona es más fiable que el test de estimulación con ACTH sin embargo no diagnostica los casos iatrogénicos, no diferencia de manera fiable el síndrome de Cushing pituitario dependiente del adreno-dependiente y tarda más tiempo en completarse (8 horas).

Esta prueba también puede dar resultados falsos positivos en animales estresados debido a hospitalización, mal nutrición o enfermedades crónicas (Chastain y col, 1986).

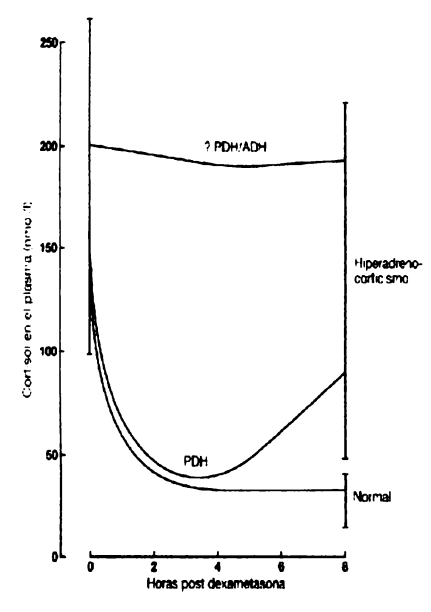


Figura 5. Concentraciones de cortisol plasmático, antes y 4 y 8 horas después de la administración de dexametasona en perros normales, perros con hiperadrenocorticismos espontáneos. Tomado de Herrtage, 2007.

4.7.3.5. Test de supresión con dexametasona a dosis alta

Las dosis altas de dexametasona deberían inhibir la secreción de ACTH pituitaria (por feedback negativo) y con ello suprimir las concentraciones de cortisol.

La prueba de inhibición con dosis altas de dexametasona se aplica para diferenciar HDP y TAF. En los perros con TAF (autónomos), incluso la dosis más elevada de dexametasona no lograba inhibir las concentraciones plasmáticas de cortisol. Por el contrario, la administración de una dosis elevada de dexametasona podía inhibir la secreción de ACTH en la mayoría de los perros con HDP (20-30% de casos no se suprime).

El protocolo de la prueba es el mismo que el de la prueba de inhibición de dexametasona a dosis bajas a excepción de la dosis de dexametasona, que es de 0,1 mg/kg. La inhibición se define como una concentración de cortisol inferior al 50% del valor basal o inferior a 1,4 µg/dl a las 4 y 8 horas de

inyección de dexametasona. La inhibición de la concentración de cortisol se produce en aproximadamente el 75% de los perros con HDP, mientras que casi nunca se aprecia en los perros con TAF.

Por tanto, si se inhibe la concentración del cortisol es muy probable que el perro presente HDP; si no se produce inhibición de los valores de cortisol (esto ocurre aproximadamente en el 40% de los casos), el perro puede tener HDP o un TAF.

4.7.3.6. Concentración plasmática de ACTH endógena

La determinación de la concentración de ACTH es una prueba fiable para diferenciar un HDP de un TAF.

Los TAF y síndrome de Cushing iatrogénico deberían suprimir la secreción de ACTH (concentraciones altas de cortisol inhiben por retroalimentación negativa la liberación de ACTH; $< 1,1$ pmol/l), y el HDP es el resultado de la hipersecreción de ACTH; $> 6,2$ pmol/l (correlación entre la concentración de ACTH en plasma y el tamaño de la masa pituitaria). En caninos el análisis de ACTH no se realiza de rutina para el diagnóstico de síndrome de Cushing, porque un gran número de los resultados caen dentro del rango de referencia (3-10 pmol/l). Sin embargo, este parámetro es un medio valioso para diferenciar entre pacientes con TAF y HDP, una vez que se ha confirmado la existencia de síndrome de Cushing (Feldman y Nelson, 2007).

La secreción de ACTH hipofisaria ocurre en forma episódica (es liberada en salvas). Los niveles plasmáticos, por lo tanto, fluctúan de momento a momento. La sangre obtenida para medir la ACTH debe ser manipulada con rapidez, porque la hormona desaparece con celeridad de la sangre entera reciente. Para evitar los valores erróneos (falsos negativos), las muestras de sangre no deben dejarse en reposo a temperatura ambiente ni siquiera por períodos breves (Feldman y Nelson, 2007).

La sangre se debe recoger en un tubo frío de plástico que contenga ácido etilendiamino tetracético (EDTA) y se debe centrifugar inmediatamente a 4°C. Posteriormente, se transfiere el plasma a tubos plásticos, y se debe congelar entre -20°C y -70°C (durante no más de un mes) o se mantiene refrigerada la muestra con paquetes de gel congelado en un recipiente aislante para el envío inmediato al laboratorio. La cantidad mínima de muestra es de 1 ml y si la muestra está hemolizada no se puede realizar la prueba (Reusch, 2006).

En los perros cuyos resultados son no diagnósticos, se debe remitir otra muestra o realizar otra prueba de diferenciación.

4.7.3.7. Medición de 17-hidroxiprogesterona

Por fallo en la síntesis de cortisol en algunos individuos existen casos de síndrome de Cushing que dan una respuesta normal de cortisol a la prueba de ACTH. En estos casos, se mide la 17-hidroxiprogesterona (precursor del cortisol) que aumenta luego de la administración de ACTH. Los animales que responden con niveles de cortisol normal y aumento de la 17-hidroxiprogesterona presentan síndrome de Cushing atípico.

Este último se debe a un fallo en el proceso de producción de esteroides, dando como resultado el aumento de alguno de los precursores de cortisol, 17-hidroxiprogesterona (Feldman y Nelson, 2007).

Estudios indican que este método es útil en perros que tienen signos que indican hiperadrenocorticismo, pero en los cuales usando los test tradicionales no se obtienen los resultados esperados, aunque esto es inusual (Herrtage, 2007).

4.7.4. Diagnóstico por imagen

Es indispensable para la certeza diagnóstica, ubicación y tamaño del tumor, compromiso con estructuras vecinas, decisión y riesgo quirúrgico.

En las radiografías torácicas se observa mineralización del árbol traqueo-bronquial y del parénquima pulmonar, osteoporosis, metástasis pulmonar de carcinoma adrenocortical, tromboembolismo pulmonar, campos pulmonares hipovasculares, infiltrados alveolares, arteria pulmonar derecha agrandada, cardiomegalia derecha y efusión pleural.

Los hallazgos radiológicos abdominales son hepatomegalia, distensión de la vejiga urinaria, cálculos vesicales, masa adrenal, osteoporosis vertebral y mineralización de las glándulas adrenales y de otros tejidos blandos tales como pelvis renal, hígado, mucosa gástrica y aorta abdominal (Huntley y col., 1982; Pennick, 1988; Cayzer y Jones, 1993; Ford y col., 1993; Dunn, 1997; Berry y col., 2000; Schwarz y col., 2000; Nelson, 2005).

La ultrasonografía abdominal es una técnica de baja sensibilidad, permite la evaluación del tamaño y forma de las glándulas adrenales. En animales obesos la glándula adrenal derecha puede no visualizarse. Deben observarse ambas estructuras para dar jerarquía diagnóstica. La detección de ambas adrenales de tamaño normal o grande, que mantienen generalmente la forma normal, se considera evidencia firme a favor de hiperplasia adrenocortical secundaria a enfermedad dependiente de la pituitaria. La observación de una masa adrenal solitaria y de forma normal, que puede estar comprimiendo o invadiendo estructuras adyacentes (como vena cava, hígado o riñón), con la adrenal opuesta pequeña, delgada o no visualizada, es sugestiva de un TAF. Si hay sospecha de TAF, la ecografía es un excelente método selectivo para detectar metástasis hepáticas o en otros órganos, invasión caval o de otras estructuras, o compresión de tejidos adyacentes (Dunn, 1997; Neiger, 2005; Feldman y Nelson, 2007). El tamaño visual de la glándula no significa normalidad funcional. La presencia de un tumor adrenal no descarta el de hipófisis.

La ecografía no puede diferenciar un tumor adrenocortical funcional de un tumor no funcional, adenoma de carcinoma, un feocromocitoma, una lesión metastásica o un granuloma. Por esta razón los signos clínicos y los resultados del test endócrino son importantes para una completa interpretación del hallazgo de la imagen (Behrend y Kemppainen 2001; Herrtage, 2007).

La ultrasonografía abdominal es utilizada para evaluar el abdomen por anomalías esperadas (hepatomegalia) e inesperadas (cálculos urinarios y masas) en un perro con sospecha de síndrome de Cushing.

4.7.5. Técnicas de imagen avanzada

La tomografía computarizada y la resonancia magnética son las técnicas de imagen de elección para el diagnóstico del síndrome de Cushing. Son métodos útiles y fiables para evaluar el tamaño y localización de un tumor hipofisario, pero actualmente en nuestro país no está disponible su uso en animales. Sin embargo, ninguna de estas técnicas puede reemplazar las pruebas de función



endócrina ya que alrededor de la mitad de los tumores hipofisarios no son visibles. Además estas técnicas no diferencian entre un tumor funcional y uno no funcional (Hernández, 2006; Reusch, 2006).

La tomografía computarizada es menos sensible que la resonancia magnética y tiene la ventaja que permite examinar ambas glándulas simultáneamente.

4.7.5.1. Tomografía computarizada

La tomografía computarizada es el método más sensible para evaluar la estructura de la glándula adrenal y para diferenciar correctamente entre un aumento de tamaño uni o bilateral de la misma (Bailey, 1986; Emms y col, 1986; Voorthout y col., 1988; Voorhout y col., 1990).

Esta técnica detecta tumores adrenales, hipoplasia de la glándula adrenal contralateral, hiperplasia adrenal, tumores pituitarios grandes y tumores mayores a 20 mm. Identifica invasión de vena cava caudal, adhesiones entre vena cava caudal y glándula adrenal y mineralizaciones no detectadas por medio de radiografías (Bailey, 1986; Emms y col., 1986).

Una de las limitaciones de este método es que no distingue el TAF de la hiperplasia nodular unilateral (Behrend y Kempainen, 2001).

4.7.5.2. Resonancia Magnética

La resonancia magnética capta tumores mayores a 3 mm. Permite evaluar el tamaño de la masa pituitaria en casos con diagnóstico de HDP. El 50% de los perros con HPD tienen una masa pituitaria detectable por resonancia magnética (Behrend y Kempainen, 2001).

La ausencia de una imagen patológica a la resonancia magnética en la hipofisis no descarta la enfermedad (en aquellos casos que tenga ACTH endógena elevada), debido a que el tumor puede no ser detectado.

4.8. Tratamiento

4.8.1. Hiperadrenocorticismo dependiente de la pituitaria

Para la terapia médica se utiliza trilostano, mitotano, hidrocortidido de selegilina, ketoconazol y cyprohetadina (Herrtage, 2007).

El trilostano (2 – 12 mg/Kg) modifica la esteroidogénesis adrenal, es un esteroide inhibidor reversible competitivo del sistema enzimático 3-beta hidroxisteroide deshidrogena que bloquea la síntesis de glucocorticoides, mineralocorticoides y hormonas sexuales (Herrtage, 2007).

El mitotano (50 mg/kg/día) es un insecticida, tiene efecto adrenocorticolítico de la zona fascicular y reticular, y tiende a preservar la zona glomerular (Herrtage, 2007).

El hidrocortidido de selegilina (1 mg/kg/día) es un inhibidor de la monoamina oxidasa, inhibe la secreción de ACTH aumentando el tono dopaminérgico hasta el eje hipotalámico-pituitario (Herrtage, 2007).

El Ketoconazol (5 mg/kg 2 veces día; 10mg/kg 2 veces día) es un antifúngico imidazol que suprime la esteroidogénesis (Herrtage, 2007).

La cyprohetadina tiene propiedades antiserotonérgicas, antihistamínicas y anticolinérgicas (Herrtage, 2007).

Estudios recientes proponen al ácido retinóico como una alternativa terapéutica efectiva en el síndrome de Cushing de origen pituitario al uso de ketoconazol y otras drogas de acción antiesteroideogénica.

La radioterapia esta indicada en animales con signos neurológicos asociados a tumores pituitarios. Se requiere tomografía computarizada o resonancia magnética para programar el protocolo de tratamiento. Generalmente la respuesta es drástica aunque en algunos casos la mejoría tarda varias semanas. La resolución de los signos neurológicos es paralela a la disminución del tamaño del tumor (Herrtage, 2007).

Las cirugías indicadas son la adrenalectomía bilateral e hipofisectomía (Herrtage, 2007).

4.8.2. Hiperadrenocorticismio adreno – dependiente

Se indica como tratamiento médico el mitotano o el trilostano (Herrtage, 2007).

La cirugía indicada es la adrenalectomía quirúrgica. Previo a la cirugía se deben realizar radiografías torácicas y ecografías abdominales para valorar la presencia de invasión vascular y extensión metastásica. Controlar el hiperadrenocorticismio con tratamiento medico antes de la cirugía. Se requiere la administración de glucocorticoides durante y después de la cirugía debido a que la adrenal contralateral esta atrofiada (Herrtage, 2007).

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

- Evaluar la función adrenal en caninos con diagnóstico presuntivo de síndrome de Cushing mediante la prueba de estimulación con ACTH, FAS y Colesterol, en Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay.

5.2. Objetivos particulares

- Conocer el valor diagnóstico que el test de estimulación con ACTH tiene en caninos con diagnóstico presuntivo de síndrome de Cushing.
- Evaluar si existe asociación y concordancia entre el resultado del test de estimulación con ACTH y las concentraciones plasmáticas de FAS y colesterol, así como con la sintomatología clínica.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se desarrolló en el Laboratorio de Técnicas Nucleares, Facultad de Veterinaria y los casos presuntivos fueron provistos por el Centro Hospital Veterinario, Departamento de Pequeños Animales de la Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, así como también por clínicas particulares.

6.1. Diseño experimental

Se utilizó como grupo control siete perros Cocker spaniel adultos sanos, tres machos y cuatro hembras de la Unidad de Nutrición Canina, Departamento de Nutrición Animal, Facultad de Veterinaria. El peso promedio de los animales fue $11,9 \pm 0,7$ kg. Los perros se alimentaron durante siete días a las 19 horas con su dieta habitual (Excellent, Purina) y agua ad libitum.

A cuatro animales del grupo control (dos machos y dos hembras) se les realizó la prueba de estimulación con ACTH (Ampollas de 250 μ g de tetracosactide Ph. Eur. en un ml de líquido. Alliance Pharmaceuticals Ltd, Avonbridge House, Chippenham, Wiltshire, SN15 2BB England), previo a esta se tomaron tres muestras de sangre (6, 7 y 8 a.m.) en las que se determinaron los niveles basales de cortisol. Inmediatamente se inyectó la ACTH a una dosis de 250 μ g por animal por vía intravenosa e igual dosis de suero fisiológico a los tres perros restantes, siendo esta la hora cero del estudio (8 a.m.); se tomó la segunda muestra a la hora. Las muestras de sangre se obtuvieron de las venas safena o cefálica con mariposas 21G y se centrifugaron a 3000 rpm durante 15 minutos. El suero obtenido se almacenó a -20° C hasta las determinaciones hormonales.

Para el estudio además se realizó un relevamiento entre los años 2006 y 2009 a nivel de la consulta en el Centro Hospital Veterinario sobre la incidencia de esta patología y así se seleccionaron 11 perros, en función del diagnóstico presuntivo de síndrome de Cushing que se les había realizado.

Los animales seleccionados presentaban alguno de estos signos clínicos: poliuria, polidipsia, polifagia, aumento del tamaño del abdomen, pelo fino, alopecia, piel delgada, piodermia, jadeo, debilidad muscular, atrofia muscular, letargia, seborrea, hiperpigmentación y comedones. De los 11 perros, 9 eran hembras, 2 machos; la edad promedio 9 años y las razas Caniche, Cocker spaniel, Pincher, Barbilla, Dachshund y cruza.

Se determinó en estos 11 animales la concentración de FAS, colesterol y se les realizó la prueba de estimulación con ACTH utilizando el mismo protocolo que en el grupo control, con el propósito de confirmar la presencia de la enfermedad.

A todos los animales estudiados (grupo control y grupo con diagnóstico presuntivo de síndrome de Cushing) se les efectuó un ayuno de 8 horas de sólidos previo a la prueba.

Cuadro 1. Signos clínicos de los animales con diagnóstico presuntivo de síndrome de Cushing.

Nº animal	Raza	Sexo	Edad (años)	Signos Clínicos
1	Cruza	Hembra	14	Alopecia bilateral y simétrica, comedones, abdomen péndulo.
2	Caniche	Hembra	9	Antecedentes piodermias, comedones, piel apergaminada, polifagia.
3	Caniche	Macho	5	Alopecia bilateral y simétrica, comedones.
4	Caniche	Hembra	13	Alopecia bilateral y simétrica, comedones, piel apergaminada, abdomen péndulo.
5	Cruza	Hembra	13	Poliuria, polidipsia, polifagia.
6	Cruza	Hembra	13	Poliuria, polidipsia, polifagia, problemas hepáticos y renales.
7	Cocker	Macho	7	Seborrea y pitiriasis, ceguera, poliuria, polidipsia, polifagia,
8	Cruza	Hembra	9	Seborrea seca, abdomen distendido, poliuria, polidipsia.
9	Pincher	Hembra	5	Piel apergaminada, comedones.
10	Barbilla	Hembra	4	Alopecia bilateral y simétrica, piel fina, abdomen péndulo, poliuria, polidipsia.
11	Dachshund	Hembra	11	Comedones, abdomen péndulo, claudicación.

6.2. Determinación hormonal

La determinación de cortisol sérico se realizó por Radioinmunoanálisis (RIA) en la fase sólida utilizando un kit comercial (Diagnostic Products Corporation: DPC, Los Ángeles, EEUU). La sensibilidad aproximada fue de 0,48 µg/dL.

6.3. Determinación de FAS y colesterol

Las concentraciones de fosfatasa alcalina se determinaron por espectrofotometría mediante un kit comercial (ALKALINE PHOSPHATASE (ALP) – AMP, BioSystems S.A. Costa Brava 30, Barcelona (España). Sensibilidad: 0,362 ΔmA•L/U•min.

Los niveles de colesterol se determinaron por medio de espectrofotometría (Photometer, BTS-305, Biosystem), utilizando un Kit comercial, ByoSistemas S.A. Costa Brava 30, Barcelona (España). Los coeficientes de variación para los controles comerciales (Biochemistry control serum I y II, Biosystem) para este metabolito fueron menores a 10 y 12 % respectivamente. Sensibilidad analítica 1,75 mA•dL/mg.

6.4. Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron evaluados usando el programa Stata 11.0 y el Test de Wilcoxon de suma de rango para muestras independientes (también llamada Prueba U de Mann Whitney). Este test es una prueba no paramétrica. Se utiliza como alternativa a la prueba t de Student cuando no se puede suponer la normalidad de dichas muestras. Se consideró significativo cuando $P < 0.05$.

7. RESULTADOS

En los perros del grupo control los niveles basales de cortisol y los niveles de cortisol luego de realizada la prueba de estimulación con ACTH, se encontraron dentro del rango de referencia reportado en la bibliografía internacional (0,5 – 6 µg/dl y 6 – 17 µg/dl respectivamente).

De los 11 perros evaluados con diagnóstico presuntivo de síndrome de Cushing resultaron positivos al test de estimulación con ACTH dos animales: un Caniche de 13 años (Caso N° 4) que además presentó niveles de colesterol elevado y un Dachshund de 11 años (Caso N° 11) que además tuvo concentraciones de FAS elevada, ambas fueron hembras (Cuadro 3).

Otros dos caninos de raza Caniche, una hembra de 9 años (Caso N° 2) y un macho de 5 años (Caso N° 3), mostraron valores de ACTH en el límite superior pero dentro del rango de referencia (Cuadro 3).

Un canino presentó únicamente valores altos de FAS (Caso N° 6) y dos animales concentraciones de colesterol elevadas (Caso N° 2 y 5). El resto de los casos presentaron valores normales para las variables estudiadas (Caso N° 1, 7, 8, 9 y 10) (Cuadro 3).

Comparando los valores de ACTH entre los dos grupos (sanos y con diagnóstico presuntivo de síndrome de Cushing) utilizando el Test de Wilcoxon no se observaron diferencias significativas entre ambos ($P > 0,8961$). En cambio se observó una diferencia significativa en los valores de colesterol a favor del grupo animales con diagnóstico presuntivo de síndrome de Cushing ($P < 0,0040$).

Cuadro 2. Valores de colesterol y de cortisol luego de la administración de ACTH y de suero fisiológico en el grupo de animales control.

N° animal	Sexo	Tratados	Colesterol* (mg/dl)	ACTH** (µg/dl)	
				1 ^a	2 ^a
1	Macho	ACTH	85,14	0,7	11,22
2	Hembra	ACTH	89,01	0,96	12,36
3	Hembra	Suero	104,49	-	-
4	Macho	ACTH	85,14	1,94	6,96
5	Hembra	Suero	85,14	-	-
6	Macho	Suero	92,88	-	-
7	Hembra	ACTH	127,71	0,50	13,51

*Valores de referencia colesterol: 135 – 270 mg/dl (Kaneko, 1997).

** Valor de cortisol normal post-estimulación con ACTH: 6 – 17 µg/dl (Feldman y Nelson, 2007).

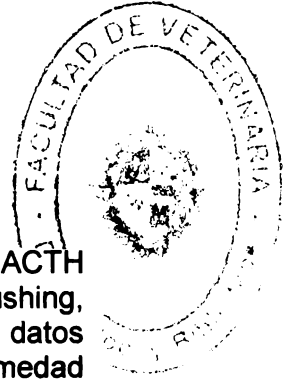
Cuadro 3. Valores de FAS, colesterol y cortisol luego de la administración de ACTH en animales con diagnóstico presuntivo de síndrome de Cushing.

Nº animal	Raza	Sexo	Edad (años)	FAS* (UI/L)	Colesterol** (mg/dl)	ACTH*** (µg/dl)	
						1ª	2ª
1	Cruza	Hembra	14	123,38	203,70	4,90	11,72
2	Caniche	Hembra	9	82,29	680,30	3,60	15,41
3	Caniche	Macho	5	71,33	137,70	2,96	15,60
4	Caniche	Hembra	13	138,09	255,75	7,16	18,47
5	Cruza	Hembra	13	141,40	348,55	3,60	13,35
6	Cruza	Hembra	13	1160,20	221,70	0,12	5,52
7	Cocker	Macho	7	68,57	128,90	1,15	5,82
8	Cruza	Hembra	9	27,46	195,10	3,70	11,60
9	Pincher	Hembra	5	67,70	250,00	4,50	5,32
10	Barbilla	Hembra	4	13,97	171,85	0,33	6,43
11	Dachshund	Hembra	11	681,12	174,00	7,90	23,20

* Valores de referencia FAS: 20 – 156 UI/L (Kaneko, 1997).

** Valores de referencia colesterol: 135 – 270 mg/dl (Kaneko, 1997).

*** Valores de cortisol post-estimulación con ACTH: normal 6 – 17 µg/dl, limítrofe 17 – 22 µg/dl y compatible con la enfermedad ≥ 22 µg/dl (Feldman y Nelson, 2007).



8. DISCUSIÓN

En el presente estudio, resultaron positivos al test de estimulación con ACTH dos hembras de las razas con mayor predisposición a síndrome de Cushing, Caniche y Dachshund, de 13 y 11 años, respectivamente. Estos datos coinciden con lo reportado por Reusch (2006) quien publicó que la enfermedad se presenta con mayor frecuencia en perros de 6 años de edad o más (promedio de 9 a 11 años). Reusch (2006) y Mooney (2007) sostienen que al parecer no hay una predisposición de género, pero los TAF parecen ser más frecuentes en hembras que en machos. Gallelli (2009) encontró que el HDP provocado por corticotropinoma es más frecuente en la hembra y de evolución diferente en el tiempo respecto al macho, esto se contrapone a lo reportado por Ramsey y Ristic (2007) quienes encontraron que el HDP no presenta predisposición sexual.

Los casos positivos al test de estimulación con ACTH presentaron, uno de ellos FAS aumentada y colesterol normal y el otro FAS normal y colesterol en el límite superior dentro del rango normal. Esto se contrapone con lo reportado por Nelson (2005), quien encontró que el incremento de la actividad de FAS y de la concentración de colesterol son los indicadores más confiables de SC; la FAS y colesterolemia incrementan en aproximadamente el 95% y 75% de los perros hiperadrenales, respectivamente. La medición de la FAS es bastante sensible pero no es específica del SC ya que la isoenzima inducida por glucocorticoides puede aumentar en hepatopatías, diabetes mellitus y en perros tratados con anticonvulsivantes y con glucocorticoides (Herrtage, 2007). La concentración plasmática del colesterol no es un hallazgo específico ya que también aumenta en hipotiroidismo, diabetes mellitus, trastorno colestásico del hígado y nefropatías con pérdida de proteínas (Feldman y Nelson, 2007).

Si bien nuestro "n" fue pequeño, solo el 18% de los casos (2 animales de 11 estudiados) resultaron positivos al test de estimulación con ACTH, esto puede atribuirse en parte a un incorrecto diagnóstico clínico de la enfermedad. Debemos recordar que hay otras enfermedades con síntomas clínicos similares que han de ser tenidas en cuenta. No debería descartarse el diagnóstico de SC basándose en esta respuesta normal a la ACTH, ya que cerca del 20% de los perros hiperadrenales tienen resultados normales (Feldman y Nelson, 2007). La prueba de estimulación con ACTH tiene una sensibilidad del 60 al 85% de los casos (Reusch, 2006).

Algunos perros con signos clásicos de hiperadrenocorticismismo y valores hematológicos y bioquímicos típicos tienen respuesta normal de cortisol a la prueba de estimulación con ACTH. En estos casos se mide la 17-hidroxiprogesterona que aumenta luego de la administración de ACTH. A estos casos se les ha llamado hiperadrenocorticismismo atípico. Estos animales pueden tener un fallo en el proceso de producción de esteroides dando como resultado el aumento de algunos de los precursores del cortisol, 17-hidroxiprogesterona (Herrtage, 2007).

En nuestro trabajo en la mayoría de los casos no encontramos concordancia entre la sintomatología clínica y las pruebas realizadas.

En función de los resultados obtenidos consideramos que ante la sospecha clínica de SC es necesario realizar una serie de pruebas endócrinas, una

bioquímica sanguínea completa, diagnóstico por imagen para poder arribar a un diagnóstico definitivo de SC y determinar su origen (pituitario o adrenal) para poder conocer el pronóstico e instaurar el tratamiento adecuado.

Los protocolos diagnósticos a seguir para SC varían según los diferentes autores. Herrtage (2007) propone el test de respuesta a la ACTH como primer test diagnóstico, seguido del test de supresión con dexametasona a baja dosis si el primero da un resultado normal y los signos clínicos son sospechosos de SC. Otros investigadores prefieren utilizar como test de primera línea la relación cortisol:creatinina en orina y de ser necesario medir ACTH endógena acompañado de la tomografía computarizada y de la resonancia magnética (Castillo, V., comunicación personal).

Hubiera sido de gran utilidad realizar otras pruebas endocrinas (relación cortisol: creatinina en orina, supresión con dexametasona a dosis bajas) para diagnosticar aquellos casos no detectados mediante el test de estimulación con ACTH pero no contamos con la autorización de los propietarios para continuar este trabajo.

9. CONCLUSIONES

Concluimos que el test de estimulación con ACTH no es una prueba de primera línea para el diagnóstico de esta enfermedad. Si se utiliza se debería combinar con una bioquímica sanguínea completa, otras pruebas endocrinas como la relación cortisol:creatinina en orina, cuya sensibilidad es elevada (95%) e imagenología.

Debemos tener en cuenta que no debería excluirse un diagnóstico de SC basándose en valores normales del test de estimulación con ACTH, de FAS, colesterol si los signos clínicos son compatibles con la enfermedad. Siempre que la clínica nos señale la presencia de SC, aunque los resultados de las pruebas diagnósticas sean negativos, no debemos descartar la enfermedad y se debe seguir investigando.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bailey, M.Q. (1986) Use of x – ray – computed tomography as an aid in localization of adrenal masses in the dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 188:1046 – 1049.
2. Behrend, E.N., Kemppainen, R.J. (2001) Diagnosis of canine hyperadrenocorticism. *Veterinary Clinics of the North America: Small Animal Practice* 31:985 – 1041.
3. Berry, C.R., Hawkins, J.C., Hurley, K.J. (2000) Frequency of pulmonary mineralization and hypoxemia in 21 dogs with pituitary - dependent hyperadrenocorticism. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 14:151 – 156.
4. Bush, B.M. (1999) Bioquímica sanguínea. En: Bush, B.M. Interpretación de los análisis de laboratorio para clínicos de pequeños animales, Barcelona, Harcourt, p. 257 – 479.
5. Cayzer, J., Jones, B.R. (1993) Canine hyperadrenocorticism. *New Zeland Veterinary Journal* 41:53 – 68.
6. Chastain, C.B., Franklin, R.T., Ganjman, U.K., Madsen, R.W. (1986) Evaluation of the hypothalamic pituitary-adrenal axis in clinically stressed dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association* 22:435 – 442.
7. Chastain, C.B., Ganjman, U.K. (1986) *Clinical Endocrinology of Companion Animals*. Lea and Febiger. Philadelphia. 568 p.
8. Chastain, C.B., Ganjman, V.K. (1990) Las adrenales. En: Chastain, C.B., Ganjman, V.K. *Endocrinología Clínica de los Animales de Compañía*. Buenos Aires, Intervet, p. 303 – 399.

9. Dunn, K. (1997) Complications associated with the diagnosis and management of canine hyperadrenocorticism. *In Practice* 19:246 – 255.
10. Dyce, K.M., Sack, W.O., Wensing, C.J.G. (2002) Glándulas Endócrinas. En: Dyce K.M., Sack W.O., Wensing C.J.G. (ed.). *Anatomía Veterinaria*. 2a. ed. México, McGraw Hill Interamericana, p. 227 – 233.
11. Emms, S.G., Wortman, J.A., Johnston, D.E., et al (1986) Evaluation of canine hyperadrenocorticism using computed tomography. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 189:432 – 439.
12. Feldman, E.C., Nelson, R.W. (2007) Hiperadrenocorticism Canino (Síndrome de Cushing). En: Feldman, E.C., Nelson, R.W. *Endocrinología y Reproducción canina y felina*, 3º ed. Buenos Aires, Intermédica, p. 280 – 396.
13. Ford, S.L., Feldman, E.C., Nelson, R.W. (1993) Hyperadrenocorticism caused by bilateral adrenocortical neoplasia in dogs: Four cases (1983 – 1988). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 202:789 – 792.
14. Fossum, T.W., Hedlund, C.S., Johnson, A.L., Schulz K.S., Seim H.B., Willard M.D., Bahr A., Carroll G.L. (2009) Cirugía del sistema endocrino. En: Fossum, T.W., Hedlund, C.S., Johnson, A.L., Schulz K.S., Seim H.B., Willard M.D., Bahr A., Carroll G.L. *Cirugía en Pequeños Animales*, 3º ed. Barcelona, Elsevier Mosby, p. 573 – 616.
15. Gallelli, M.F., Cabrera Blatter, M.F., Castillo, V. (2010) 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* 88(1):33 – 40.

16. Hernández, C.A., Alzate, G. (2006) Pituitary tumor diagnosis using gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging in a dog with hyperadrenocorticism. A case report. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 19:437 – 441.
17. Herrtage, M. (2007) Hiperadrenocorticismo Canino. En: Money C.T., Peterson M.E., (ed.). *Manual de endocrinología en pequeños animales*, 3a ed., Barcelona, Industrias Gráficas Ferre Oldsina, p. 217 – 247.
18. Huntley, K., Frazer, J., Gibas, C., et al (1982) The radiological features of canine Cushing's syndrome: A review of forty – eight cases. *Journal of Small Animal Practice* 23:369 – 380.
19. Kaneko, J.J., Harvey, J. W., Bruss, M. L. (1997) *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5 ed. San Diego, Academic Press, p. 927.
20. Kaplan, A.J., Peterson, M.E., Kemppainen, R.J. (1995) Effects of disease on the results of diagnostic tests for use in detecting hyperadrenocorticism in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 207(4):445 – 451.
21. Kintzer, P.P., Peterson, M.E., Mullen, H.S. (2002) Enfermedades de la glándula suprarrenal. En: Birchard S.J., Sherding R.G. *Manual Clínico de Procedimientos en Pequeñas Especies*, Vol. 1, 2º ed. Madrid, McGraw Hill – Interamericana, p. 305 – 321.
22. König, H.E., Liebich, H.G. (2005) Glándulas endocrinas. En: *Anatomía de los Animales Domésticos. Órganos, sistema circulatorio y sistema nervioso*, Vol. 2, 2º ed, Madrid, Médica Panamericana, p. 277 – 286.

23. Márquez, A.G., Rodríguez, M., Castillo, V., Esarte, M., Pereira, M., Lalia, J., Vartabedian, A. (2000) Modificaciones hematológicas y bioquímicas del Síndrome de Cushing en perros, según su etiopatogenia. *Revista de Medicina Veterinaria* 81(5):364–366.
24. Martínez Franco, M., Domínguez Cherit, G., Rivero Sigarrosa, E. (2004). Función suprarrenal en pacientes críticamente enfermos. *Revista de la Asociación Mexicana de Medicina Crítica y Terapia Intensiva* 18(1):11–16.
25. Matamoros, R., Gómez, C., Andaur, M. (2002). Hormonas de utilidad diagnóstica en Medicina Veterinaria. *Archivos de Medicina Veterinaria* 34(2):167–182.
26. Meyer, D., Harvey, J. (2000) Evaluación de la función endócrina. En: Meyer, D., Harvey, J. *El laboratorio en Medicina Veterinaria, Interpretación y Diagnóstico*. 2a. ed. Buenos Aires, Interamericana, p. 217 – 239.
27. Mooney, C.T. (2007) Selecting the Most Appropriate Test for Hyperadrenocorticism. *The 32nd Annual World Small Animal Veterinary Association Congress*, Sydney, p. 19 – 23.
28. Neiger, R. (2005) Diagnosis and therapy of Hyperadrenocorticism in the dog. *Congresso Nazionale Multisala SCIVAC, 50^o, Rimini, Italia*. Disponible en: http://www.ivis.org/proceedings/scivac/2005/neiger3_en.pdf. Fecha de consulta 15 de marzo de 2010.
29. Nelson, R.W. (2005) Enfermedades de la Glándula Adrenal. En: Nelson, R.W., Couto, C.G. *Medicina Interna de Pequeños Animales*, Vol. 2, 3^o ed, Buenos Aires, Intermédica, p. 820 – 858.

30. Pennick, D.G., Feldman, E.C., Nyland, T.G. (1988) Radiographic features of canine hyperadrenocorticism caused by autonomously functioning adrenocortical tumors: 23 cases (1976 – 1978). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 192:1604 – 1608.
31. Peterson, M.E., Nesbitt, G.H., Schaerm (1981) Diagnosis and management of concurrence diabetes mellitus and hiperadrenocorticism in thirty dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 178:66 – 69.
32. Ramsey, I., Ristic, J. (2007) Diagnosis of canine hyperadrenocorticism. *In Practice* 29(8):446–454.
33. Reimers, T.J., Lawler, D.F., Sutaria, P.M., Correa, M.T., Erb, H.N. (1990) Effects of age, sex, and body size on serum concentrations of thyroid and adrenocortical hormones in dogs. *American Journal of Veterinary Research* 51(3):454 – 457.
34. Reusch C.E. (2007) Hiperfunción corticosuprarrenal. En: Ettinger, S.J., Feldman, E.C. (ed.). *Tratado de Medicina Interna Veterinaria. Enfermedades del perro y el gato. Volumen II. 6a ed., Madrid, Elsevier, p. 1592 – 1612.*
35. Schwarz, T., Store, C.K., Mellor, D., et al. (2000) Osteopenia and other radiographic signs in canine hyperadrenocorticism. *Journal of Small Animal Practice* 41: 491 – 495.
36. Statalorp. 2009. *Stata: Release 11. Statistical Software. Collage Station, TX: Statalorp LP.*
37. Voorhout, G., Stolp, R., Lubberink, A.A.M.E., et al (1988) Computed tomography in the diagnosis of canine hyperadrenocorticism not suppressible by dexamethasone. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 192:641 – 646.

38. Voorhout, G., Stolp, R., Rijnberk, A., et al (1990) Assessment of survey radiography and comparison with x – ray computed tomography for detection of hyperfunctioning adrenocortical tumors in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 196:1799 – 1803.