

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

**AVALIAÇÃO DE FATORES DE RISCO PARA HIPERCORTISOLISMO CANINO:
ESTUDO CASO-CONTROLE**

Taís Bock Nogueira
Residente em Medicina Veterinária

PORTO ALEGRE

2020/2

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

Avaliação de fatores de risco para hipercortisolismo canino: estudo caso-controle

Autor: Taís Bock Nogueira

**Trabalho de Conclusão de Residência
apresentado à Universidade Federal
do Rio Grande do Sul como requisito
para a obtenção do título de
Especialização em Clínica Médica de
Pequenos Animais.**

**Orientador: Prof. Dr. Alan Gomes
Pöpl**

PORTO ALEGRE

2020/2

CIP - Catalogação na Publicação

Nogueira, Taís Bock
Avaliação de fatores de risco para
hipercortisolismo canino: estudo caso-controle / Taís
Bock Nogueira. -- 2021.
28 f.
Orientador: Álan Gomes Pöppl.

Trabalho de conclusão de curso (Especialização) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade
de Veterinária, Residência em clínica médica de
pequenos animais, Porto Alegre, BR-RS, 2021.

1. Hipercortisolismo. 2. Disruptores endócrinos. 3.
Estresse. 4. Fatores de risco. I. Pöppl, Álan Gomes,
orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

A residência em Medicina Veterinária significou para mim um período de crescimento tanto no âmbito profissional quanto no âmbito pessoal. Agradeço pela oportunidade de participar do programa de residência nesta universidade, que teve importância fundamental para a minha formação profissional. Agradeço a todos que colaboraram para tornar estes dois anos tão ricos em aprendizados.

Agradeço em especial à minha amiga Daniela da Silva Maria, que esteve comigo desde o início da graduação e que compartilhou comigo também o período de residência. Grandes amigos têm o poder de tornarem os desafios mais leves e as conquistas mais completas e cheias de significado.

Agradeço ao professor Dr. Alan Gomes Pöppel que me acompanhou durante a graduação e a residência, por toda a orientação prestada e pelo incentivo à continuidade deste estudo. Agradeço pela oportunidade de desenvolvimento profissional através do suporte de um professor que é exemplo de que a dedicação e o estudo trazem frutos duradouros e fazem a diferença na nossa vida e na dos pacientes e tutores.

Agradeço aos mestres Francisco Sávio de Moura Martins e Guilherme Luiz Carvalho de Carvalho por todos os ensinamentos durante o meu período de estágio no Serviço de Endocrinologia Veterinária, por terem sido parte fundamental da minha formação profissional e por estarem presentes na etapa final da realização deste processo.

Agradeço à minha família, em especial aos meus pais, por todos os esforços dispendidos no âmbito de me guiar através da retidão de caráter e por me proporcionarem suporte para que eu pudesse ir atrás dos meus sonhos. Agradeço ao meu namorado Luiz Eduardo Barcellos Rodrigues por me apoiar nos meus sonhos, por me ajudar a construí-los e por me confortar nos períodos mais desafiadores.

Agradeço aos pacientes e tutores que tive a oportunidade de conhecer durante estes dois anos. Agradeço a todos que fizeram parte desta jornada e que me inspiram a ser o meu melhor todos os dias.

RESUMO

Há poucas evidências de que existam fatores de risco para o desenvolvimento da Síndrome de Cushing (hipercortisolismo – HC), bem como da existência de potenciais fatores de proteção contra o desenvolvimento da doença. O córtex das glândulas adrenais pode sofrer hipertrofia e hiperplasia após exposição crônica a agentes estressores, assim como já foram documentados aumentos na concentração sérica de cortisol nestas situações, evidenciando que estressores ambientais influenciam o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Entretanto, há poucos estudos que busquem esclarecer se a exposição crônica a estes estressores pode representar algum risco para o desenvolvimento do HC em cães. O objetivo deste estudo foi avaliar se cães com diagnóstico de HC (casos) foram mais expostos a situações estressantes durante a vida em comparação a cães hípidos (controles), bem como avaliar se havia alguma diferença entre os dois grupos em relação ao temperamento, comportamento social e na exposição a plástico e a alimentos enlatados. Para tanto, foi aplicado um questionário a tutores de cães com diagnóstico de HC e a tutores de cães hípidos pareados por idade, sexo e raça (1:2). Foi considerado como critério de exclusão a ausência de confirmação do HC através de testes hormonais nos casos, bem como exposição crônica ou recente a tratamentos com glicocorticoides para os controles. O questionário foi aplicado novamente após três semanas em 25% dos animais de cada grupo, a fim de fazer uma validação interna e avaliar o nível de compreensão do questionário e a repetibilidade das respostas. Ao todo, participaram do estudo 270 cães, sendo 90 casos e 180 controles. Cães com HC foram mais expostos à castração (OR 2,32, IC 95% 1,21 – 4,47), ao uso de comedouros e bebedouros plásticos (OR 2,39, IC 95% 1,03 – 5,49) e a viverem em locais fechados, incluindo apartamentos e casas sem acesso à quintal (OR 2,20, IC 95% 1,31 – 3,68). Além disso, os cães com HC eram mais expostos ao fator isolamento em relação a outros animais tendo mais chances de serem os únicos animais da casa (OR 1,99, IC 95% 1,15 – 3,45). Entretanto, não foi observada correlação significativa entre exposição a alimentos enlatados ou a brinquedos plásticos, presença de fobias ou ansiedade de separação, temperamento medroso ou agressivo e uma maior prevalência de cães com HC. Os resultados obtidos nesta análise exploratória serão submetidos a análise de regressão multivariada para avaliação aprofundada dos fatores de risco identificados.

Palavras-chave: hipercortisolismo; síndrome de Cushing; estresse; estilo de vida; plástico; isolamento social; bisfenol A.

ABSTRACT

There is little evidence that there are risk factors for the development of Cushing's Syndrome (hypercortisolism - HC) or protective factors against the development of the disease. The adrenal gland cortex may undergo hypertrophy and hyperplasia after chronic exposure to stressors, as well as increases in the serum cortisol concentration in these situations have been documented, showing that environmental stressors influence the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. However, there are few studies that seek to clarify whether chronic exposure to such stressors may pose any risk for the development of HC in dogs. The aim of this study was to assess whether dogs diagnosed with HC (cases) were more exposed to stressful situations during their life compared to healthy dogs (control group), as well as to assess whether there was any difference between the two groups regarding temperament, exposure to plastic and canned food. To this end, a questionnaire was applied to owners of dogs diagnosed with HC and to owners of healthy dogs matched for age, sex and breed (1:2). Exclusion criterion for the case group was the absence of confirmation of HC through hormonal tests in the cases. Exclusion criteria for the control group were animals with chronic or recent exposure to glucocorticoid treatments. The questionnaire was applied again after three weeks in 25% of the animals in each group, in order to make an internal validation and evaluate the level of understanding of the questionnaire and the repeatability of the answers. In all, 270 dogs participated in the study, 90 cases and 180 controls. Dogs with HC were more exposed to castration (OR 2.32, 95% CI 1.21 - 4.47), to the use of plastic feeders and drinkers (OR 2.39, 95% CI 1.03 – 5.49) and living in closed places, including apartments and houses without access to the backyard (OR 2.20, 95% CI 1.31 - 3.68). In addition, dogs with HC were more likely to be the only animal in the house (OR 1.99, 95% CI 1.15 - 3.45). However, no significant correlation was observed between exposure to canned food or plastic toys, presence of phobias or separation anxiety, fearful or aggressive temperament and a higher prevalence of dogs with hyperadrenocorticism. The results obtained in this exploratory analysis will be submitted to multivariate regression analysis for in-depth assessment of the identified risk factors.

Keywords: hyperadrenocorticism; Cushing's syndrome; stress; lifestyle; plastic; social isolation; bisphenol A.

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Resultados de <i>odds ratio</i> com respectivos limites inferiores e limites superiores de IC 95% da exposição às diferentes variáveis em estudo | 14 |
| Tabela 2. Resultados da análise estatística de <i>odds ratio</i> de variáveis analisadas separadamente | 15 |

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ACTH - hormônio adrenocorticotrófico

BPA – bisfenol A

CRH - hormônio liberador de corticotropina

HC – hipercortisolismo

IC – intervalo de confiança

LH – hormônio luteinizante

m² - metros quadrados

OR – *Odds Ratio*

POMC – proopiomelanocortina

SRD – sem raça definida

UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

SUMÁRIO

| | |
|------------------------------------|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 8 |
| 2 MATERIAIS E MÉTODOS | 10 |
| 3 RESULTADOS | 13 |
| 4 DISCUSSÃO | 17 |
| 5 CONCLUSÕES | 22 |
| REFERÊNCIAS | 23 |
| ANEXO 1 | 27 |

1 INTRODUÇÃO

O hipercortisolismo (HC) ou síndrome de Cushing é uma das doenças endócrinas mais comumente diagnosticadas em cães, correspondendo a 37% do total de caninos atendidos no Serviço de Endocrinologia e Metabologia do Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS entre os anos de 2004 e 2014 (PÖPPL et al., 2016). Apesar de a doença estar sendo amplamente estudada e haver muito mais conhecimento sobre a sua etiopatogenia, não se sabe ao certo se há fatores que possam predispor ao seu desenvolvimento e se há alguma forma de prevenção da doença.

O HC é resultado de um desbalanço do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal que cursa com pulsos de hipersecreção de cortisol endógeno, geralmente em decorrência de adenomas ou carcinomas em região de hipófise ou de glândula adrenal. (ORTH, 1988; HANSON, 2006; NELSON e COUTO, 2015). A hipersecreção de cortisol leva à disfunção de diversos tecidos, resultando em manifestações clínicas multissistêmicas. Os sinais clínicos mais comumente observados em cães com hipercortisolismo são poliúria, polidipsia, polifagia, distensão abdominal, fraqueza muscular e alopecia endócrina bilateral. Geralmente os cães acometidos não apresentam todas as alterações clínicas de forma concomitante, provavelmente devido ao maior entendimento da doença, que possibilita que o diagnóstico e o tratamento sejam realizados de forma mais precoce (BEHREND *et al*, 2013).

Quando um animal hígido é exposto ao estresse, o hipotálamo produz e secreta o hormônio liberador de corticotropina (CRH) no núcleo paraventricular, que uma vez liberado na eminência mediana da hipófise é captado e transportado até a adenohipófise pelo sistema portal venoso hipofisário. Ao agir sobre os corticotrofos, o CRH ativa a produção de proopiomelanocortina (POMC), precursora da formação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). O ACTH é secretado para corrente sanguínea e estimula a produção e liberação do cortisol pelo córtex adrenal, o qual faz feedback negativo na hipófise e no hipotálamo, modulando a sua própria produção. Em cães com HC, a neoplasia hipofisária torna a hipófise não responsiva ao *feedback* negativo do cortisol, mantendo elevada a produção de ACTH e fazendo com que as adrenais se tornem hiperplásicas bilateralmente. Estes casos são classificados como HC ACTH-dependentes e correspondem a cerca de 85% dos casos. Já nos cães em que o hipercortisolismo tem origem em neoplasias adrenais funcionais, a produção exacerbada de cortisol pelo tumor faz *feedback* negativo sobre a hipófise, levando a uma

redução na produção de ACTH, o que leva à atrofia da glândula adrenal contralateral ao tumor. A adrenal neoplásica, entretanto, segue produzindo cortisol de forma autônoma. Estes casos são classificados como ACTH-independentes e correspondem a cerca de 15% dos casos (MARCO, 2015; NELSON e COUTO, 2015). Outros subtipos menos comuns de HC ACTH-dependentes e ACTH-independentes são descritos, como o HC dependente de alimento e o HC devido à secreção ectópica de ACTH (GALAC *et al*, 2005; GALAC *et al*, 2008; LEE *et al*, 2020).

Situações de estresse podem corresponder tanto a situações adversas externas, como sentimentos de medo, ansiedade, fome e confinamento, assim como disfunções orgânicas sistêmicas, como a ocorrência de neoplasias e de outras doenças. Fisiologicamente, o organismo dos mamíferos está adaptado a aumentar a secreção de cortisol frente a situações que gerem alerta, modificando o metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas a fim de priorizar o funcionamento de órgãos vitais e manter a glicemia em concentrações séricas adequadas por mais tempo. Já foi documentado que as adrenais podem tornar-se hipertróficas e hiperplásicas frente a situações de estresse crônicas, como resposta à maior secreção de ACTH (ULRICH-LAI *et al*, 2006). Ainda não foi documentado, entretanto, se as alterações fisiológicas causadas pela exposição crônica ao estresse podem ter correlação com uma maior predisposição ao desenvolvimento do HC.

Além do estresse, o contato com algumas substâncias que podem estar presentes em materiais plásticos, como brinquedos, comedouros e bebedouros, bem como no revestimento interno das latas de alimentos comerciais, também é capaz de alterar o funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Essas substâncias podem agir como disruptores endócrinos e interferir no funcionamento de diferentes hormônios. O bisfenol A é uma das substâncias que pode estar presente no plástico e nos alimentos enlatados e é capaz de interferir no mecanismo de inativação de cortisol e corticosterona a cortisona. (BASAK, DAS e DUTTARROY, 2020). Logo, é importante avaliar se a interferência ocasionada pelo contato com possíveis disruptores endócrinos pode ser um fator de risco para o desenvolvimento do HC.

O objetivo deste estudo foi avaliar se cães com diagnóstico de HC foram mais expostos a situações estressantes e ao contato com plástico e alimentos enlatados durante a vida em comparação a cães hígdidos, bem como avaliar se havia alguma diferença entre os dois grupos em relação ao temperamento e comportamento social. Buscou-se elucidar, dessa forma, se a exposição crônica ao estresse configura um potencial fator de risco e se o enriquecimento ambiental poderia atuar como fator protetivo para o desenvolvimento da doença.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização deste estudo foi elaborado um questionário (ANEXO 1) contendo 22 perguntas de múltipla escolha sobre temperamento, interação social, enriquecimento ambiental, exposição a possíveis estressores ambientais, bem como contato com plástico e com alimentos enlatados. Foram selecionados 90 cães com diagnóstico de HC, confirmados através de teste de supressão por baixa dose de dexametasona e/ou por teste de estimulação com hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). Cada cão com HC foi pareado com outros dois cães hígidos da mesma raça, gênero e idade. Foram excluídos do estudo cães com suspeita de HC que não tivessem resultado de teste hormonal confirmatório da doença, bem como cães hígidos que estivessem fazendo uso crônico ou recente de glicocorticoides exógenos. Os tutores dos cães responderam ao questionário através da plataforma online Google Forms, sendo que 25% dos tutores de cada grupo responderam ao questionário uma segunda vez após três semanas da primeira resposta, a fim de avaliar a consistência interna e repetibilidade do questionário.

Todas as questões de múltipla escolha foram convertidas em variáveis dicotômicas – exposto ou não exposto – de acordo com a frequência com que o hábito ou comportamento era relatado pelo tutor. Para a análise estatística foi determinado *odds ratio* (OR), com respectivos intervalos de confiança de 95 por cento (IC 95%) para cada fator em estudo. Valores de *odds ratio* entre 0 e 1 foram considerados fatores de proteção para HAC, enquanto valores maiores que 1 foram considerados fatores de risco para a doença. Foram considerados significativos os OR cujos IC 95% não cruzaram o valor trivial 1. Os valores de OR e respectivos IC 95% foram calculados no programa *Excel*.

Na primeira seção do questionário os tutores forneceram dados gerais sobre cada cão, incluindo nome, idade, sexo, raça, estado reprodutivo e tipo de habitação. Cães que moravam em apartamento ou em casa sem quintal foram considerados expostos à variável “ausência de pátio” e cães que moravam em casa com quintal ou em sítio foram considerados não expostos.

A segunda seção se referia ao cotidiano do cão. A frequência dos passeios, idas ao *petshop*, hotéis e creches, hábito de brincar com os familiares e consumo de dieta comercial enlatada foram avaliados nesta questão como “nunca ou raramente”, “algumas vezes por ano”, “algumas vezes por mês”, “algumas vezes por semana” ou “diariamente”. Hábitos diários ou

semanais foram considerados exposição às variáveis “passeios”, “*petshop*”, “hotéis”, “creche”, “brinquedos plásticos”, “brincadeira com familiar” e “alimento enlatado”. Hábitos mensais, anuais ou que não faziam parte do cotidiano do cão foram considerados como não exposição. Animais com doença crônica ou que sofreram mudanças bruscas em seu cotidiano, como morte de familiar ou de animal contactante, mudança de residência ou nascimento de filhos foram considerados expostos à variável “mudança na rotina”. Com relação ao ambiente em que os animais passavam a maior parte do tempo, animais confinados a um cômodo da casa ou apartamento e animais que viviam acorrentados foram considerados expostos à variável “confinamento”, enquanto animais que viviam soltos no pátio, com ou sem acesso à rua, ou que tinham acesso livre a todos ou quase todos os cômodos da residência foram considerados não expostos. Com relação ao contato com potes plásticos, cães que tinham comedouro e/ou bebedouro de composição plástica foram considerados expostos à variável “contato com plástico”, enquanto cães que tinham comedouro e bebedouro feitos de outros materiais eram considerados não expostos.

Algumas variáveis foram categorizadas e analisadas separadamente. O tamanho total de espaço disponível foi dividido em “menos de 30m²”, “entre 30 e 100m²” e em “mais de 100m²”. O convívio com outros animais foi dividido em: 1) ser o único animal na casa; 2) conviver com cães e/ou com cães e gatos; 3) conviver unicamente com gatos. O número de familiares que conviviam com o cão foi dividido em: 1) uma única pessoa convivendo diariamente com o cão; 2) de duas a quatro pessoas convivendo diariamente com o cão ou 3) mais de cinco pessoas convivendo diariamente com o cão. A convivência com crianças também foi categorizada e analisada separadamente, sendo dividida em: 1) sem contato diário com crianças; 2) contato diário com criança menor de cinco anos de idade ou 3) contato diário com criança maior de cinco anos de idade.

A terceira seção do questionário referia-se ao temperamento e nível de socialização do cão, sendo considerados expostos à variável “temperamento” os cães descritos pelos tutores como medrosos, tímidos e/ou ansiosos, carentes, agressivos e/ou dominantes e tristes. Foram considerados não expostos os cães descritos como ativos e/ou brincalhões, independentes e quietos, calmos e/ou sedentários. Quanto a presença de fobias, os cães que não possuíam quaisquer tipos de fobias foram considerados não expostos e os cães que apresentavam medo de chuva ou trovões, medo de sons ou barulhos específicos, medo de pessoas ou medo de outros animais foram considerados expostos à variável “fobias”.

No que se refere ao grau de relação do cão com a família, cães considerados pelos tutores como cães de guarda ou de trabalho ou como animais de estimação foram considerados não expostos e cães considerados pelos tutores como membros da família, como filhos ou como parte dos tutores foram considerados expostos à variável “membro da família”. Com relação ao tempo diário de atenção destinado aos cães pela família, foram considerados não expostos os cães que tinham 1 hora diária ou menos de convívio com os tutores, e expostos à variável “convívio com o tutor” os cães que conviviam com o tutor duas horas diárias ou mais, ou que estavam constantemente em contato com os tutores. O último fator estudado foram os sinais de ansiedade de separação, sendo considerados expostos à variável “ansiedade por separação” os cães que mostravam comportamentos de ansiedade na saída do dono algumas vezes por semana ou diariamente e considerados não expostos os cães que apresentavam o comportamento menos de uma vez por mês. A última pergunta era referente ao nível de entendimento do questionário, sendo que o tutor podia optar entre ter considerado o questionário “confuso”, “pouco claro”, “claro” ou “muito claro”.

3 RESULTADOS

Ao todo, tutores de 270 cães responderam ao questionário, sendo 90 pertencentes ao grupo HC e 180 ao grupo controle. A média de idade do grupo HC e do grupo controle foi de $12,5 \pm 2,5$ anos, não havendo diferença entre os grupos, uma vez que o pareamento levou em consideração a idade. Da mesma forma, não houve diferenças entre os dois grupos em relação ao gênero, sendo 70% dos cães fêmeas e 30% dos cães machos em ambos os grupos. Também não houve diferenças entre os grupos em relação às raças. A população do estudo foi composta por 18,9% Yorkshire Terrier, 17,8% Poodle, 14,4% SRD, 10% Dachshund, 8,9% Maltês, 7,8% Shih Tzu, 6,6% Lhasa Apso, 3,3% Cocker Spaniel, 2,2% Boxer, 2,2% Fox Paulistinha, 2,2% Beagle, 2,2% Schnauzer, 1,1% Bichon Frisé, 1,1% Pinscher, 1,1% Buldogue Campeiro. Quanto à clareza do questionário, 5,5% dos tutores do grupo HC consideraram o questionário confuso ou pouco claro, enquanto 94,5% dos tutores consideraram o questionário claro ou muito claro. No grupo controle, 1,7% dos tutores consideraram o questionário confuso ou pouco claro, enquanto 98,3% consideraram o questionário claro ou muito claro.

Após a transformação de cada questão de múltipla escolha em variáveis dicotômicas, os OR e respectivos IC 95% obtidos da análise univariada estão apresentados nas **Tabelas 1 e 2**.

Tabela 1. Resultados de OR com respectivos limites inferiores e limites superiores de IC 95% da exposição às diferentes variáveis em estudo.

| Variáveis em estudo | Casos (%) | Controles (%) | OR | IC 95% (L_{inf} – L_{sup}) |
|----------------------------|------------------|----------------------|-----------|---|
| Passeios | 54 (60) | 89 (49,4) | 1,53 | 0,91 – 2,56 |
| Brinquedos plásticos | 44 (48,8) | 72 (40) | 1,43 | 0,86 – 2,38 |
| Hábito de brincar | 70 (77,8) | 137 (76,1) | 1,09 | 0,60 – 2,00 |
| <i>Petshop</i> | 33 (36,6) | 56 (31,1) | 1,28 | 0,75 – 2,18 |
| Creche | 0 (0) | 1 (0,5) | 0 | 0 |
| Hotéis | 11 (12,2) | 11 (6,1) | 2,13 | 0,88 – 5,14 |
| Alimentos enlatados | 17 (18,9) | 28 (15,5) | 1,26 | 0,65 – 2,45 |
| Doenças crônicas | 38 (42,2) | 79 (43,9) | 0,93 | 0,56 – 1,55 |
| Mudanças no cotidiano | 33 (36,6) | 67 (37,2) | 0,97 | 0,57 – 1,64 |
| Temperamento | 64 (71,1) | 117 (65) | 1,32 | 0,76 – 2,29 |
| Fobias | 57 (63,3) | 115 (63,8) | 0,95 | 0,59 – 1,51 |
| Relação com a família | 83 (92,2) | 157 (87,2) | 1,73 | 0,71 – 4,21 |
| Tempo de atenção diária | 77 (85,5) | 167 (92,7) | 0,46 | 0,20 – 1,04 |
| Ansiedade de separação | 30 (33,3) | 59 (32,7) | 1,02 | 0,59 – 1,75 |
| Apartamento | 52 (57,7) | 69 (38,3) | 2,20* | 1,31 – 3,68 |
| Castração | 76 (84,4) | 126 (70) | 2,32* | 1,21 – 4,47 |
| Confinamento | 7 (10) | 10 (15) | 1,43 | 0,52 – 3,90 |
| Potes plásticos | 62 (88,6) | 107 (76,4) | 2,39* | 1,03 – 5,49 |

Fonte: a própria Autora. * = associação significativa.

Tabela 2. Resultados da análise estatística de odds ratio de variáveis analisadas separadamente.

| Variáveis em estudo | Casos (%) | Controles (%) | OR | IC 95% (L _{inf} – L _{sup}) |
|-----------------------------------|-----------|---------------|-------|---|
| Número contactantes | | | | |
| Único animal | 34 (37,7) | 42 (23,3) | 1,99* | 1,15 – 3,45 |
| Cães ou cães e gatos | 52 (57,7) | 124 (68,9) | 0,61 | 0,36 – 1,04 |
| Apenas gatos | 2 (2,2) | 7 (3,9) | 0,26 | 0,05 – 1,33 |
| Área disponível (m ²) | | | | |
| Menor que 30 | 2 (2,2) | 27 (15) | 0,12* | 0,02 – 0,55 |
| Entre 30 e 100 | 54 (60) | 98 (54,4) | 1,25 | 0,75 – 2,79 |
| Maior que 100 | 34 (37,7) | 55 (30,5) | 1,37 | 0,81 – 2,34 |
| Convívio com crianças | | | | |
| Sem contato | 66 (73,3) | 130 (72,2) | 1,05 | 0,59 – 1,86 |
| Criança menor de 5 anos | 9 (10) | 15 (8,3) | 1,22 | 0,51 – 2,91 |
| Criança maior de 5 anos | 16 (17,7) | 39 (21,6) | 0,78 | 0,40 – 1,49 |
| Número de pessoas na família | | | | |
| Uma | 11 (12,2) | 12 (6,6) | 1,94 | 0,82 – 4,61 |
| De duas a quatro | 70 (77,7) | 146 (81,1) | 0,81 | 0,43 – 1,51 |
| Cinco ou mais | 9 (10) | 22 (12,2) | 0,79 | 0,35 – 1,81 |

Fonte: a própria Autora. * = associação significativa.

Foi observada correlação estatisticamente significativa entre HC e maior exposição à castração, maior contato com potes plásticos, ausência de contato com pátio e ausência de contato com outros animais. Cães com HC foram mais expostos ao longo da vida à castração (OR=2,32; IC95%=1,21 – 4,47), ao uso de comedouros e bebedouros plásticos (OR=2,39; IC95%=1,03 – 5,49) e a viverem em locais fechados, incluindo apartamentos e casas sem acesso à quintal (OR=2,20; IC95%=1,31–3,68). Além disso, os cães com HC foram mais expostos ao fator isolamento em relação a outros animais, estando mais expostos ao longo da vida a serem os únicos animais da casa (OR=1,99; IC95%=1,15 – 3,45). Cães com HC foram menos expostos ao confinamento em ambientes de tamanhos menores ou iguais a 30m² (OR=0,12; IC95%=0,02-0,55) em comparação aos cães hígidos. Entretanto, não foi observada correlação estatisticamente significativa entre exposição a alimentos enlatados ou a brinquedos plásticos,

presença de fobias ou ansiedade de separação, temperamento mais medroso ou agressivo e uma maior prevalência de cães com HC.

4 DISCUSSÃO

Atualmente a síndrome de Cushing é a endocrinopatia mais frequentemente diagnosticada na medicina veterinária, o que se deve em parte ao maior conhecimento sobre a doença, permitindo a realização de diagnósticos mais precoces. Por se tratar de uma doença de frequência crescente, fazem-se necessários mais estudos para elucidar se há envolvimento de fatores ambientais no desenvolvimento da doença e, portanto, se o aumento de diagnósticos pode estar relacionado também a uma maior exposição dos cães a fatores de risco para a doença.

Sabe-se que o estresse interfere no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal de forma a causar aumento da concentração sérica de cortisol e hiperplasia das glândulas adrenais (ULRICH-LAI *et al*, 2006). Entretanto, não está claro se a hiperfunção causada pelo estresse é capaz de facilitar a formação de neoplasias secretoras, levando a um risco maior de desenvolvimento da síndrome de Cushing.

Estudos em humanos mostram que a exposição ao estresse de forma precoce, quando em fases críticas para o desenvolvimento do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, pode interferir na maturação funcional do eixo, afetando sua função basal e sua função induzida por estresse na vida adulta e tornando a susceptibilidade ao estresse daquele indivíduo alterada por toda a vida. Tal alteração pode predispor a ocorrência de psicopatias na vida adulta, dependendo dos fatores ambientais a que esta pessoa estiver exposta (BODEGOM; HOMBERG e HENCKENS, 2017). Em cães, estudos mostram que a exposição precoce aos fatores ambientais interfere no comportamento e no enfrentamento ao estresse na vida adulta, porém há carência de estudos mostrando se a exposição precoce ao estresse em cães é capaz de interferir na maturação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (FOYER *et al*, 2013).

No presente estudo, observou-se que os cães com diagnóstico de hipercortisolismo foram significativamente mais expostos a comedouros e bebedouros plásticos ao longo da vida do que os cães hígidos. Há estudos evidenciando que o bisfenol A (BPA), uma das substâncias presentes no plástico e no revestimento interno de alimentos enlatados, pode inibir a atividade da enzima 11 β -hidroxiesteróide desidrogenase 2, levando a uma menor inativação de cortisol e corticosterona a cortisona. Consequentemente, maiores concentrações de cortisol e corticosterona podem ser evidenciadas (BASAK; DAS e DUTTAROY, 2020). A exposição ao BPA já foi relacionada também a um maior desenvolvimento e progressão do câncer em humanos, incluindo câncer de mama, próstata, ovário e de carcinoma endometrial. O BPA é

capaz de causar alterações na proliferação, apoptose e migração celular, além de ter envolvimento em vias de sinalização oncogênica (GAO *et al*, 2015).

Outras substâncias podem agir como disruptores endócrinos sobre o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. O tributilestanho (TBT), utilizado na agricultura como pesticida, também exerce ação inibitória sobre a atividade da enzima 11 β -hidroxiesteróide desidrogenase 2, elevando as concentrações de cortisol. Além disso, o TBT pode causar alterações na diferenciação de adipócitos e uma maior deposição de lipídios em adipócitos e hepatócitos. Por esses efeitos, a possibilidade de o TBT ter um papel no desenvolvimento da obesidade e da síndrome metabólica vem sendo objeto de estudo em humanos (GRÜN e BLUMBERG, 2006; WADA *et al*, 2007).

O presente trabalho evidencia a necessidade de mais pesquisas acerca da influência do plástico e das diferentes substâncias com efeitos de disrupção endócrina sobre o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. A evidência apresentada neste trabalho de que os cães com HC estavam mais expostos ao plástico ao longo da vida do que os cães hígdos traz o questionamento se a diminuição do contato com o plástico poderia ter efeito protetivo contra o desenvolvimento da doença em cães.

No presente estudo, observou-se que os cães com HC estavam mais expostos à castração do que cães hígdos, o que já havia sido relatado em trabalhos anteriores (BELANGER *et al*, 2017; CAROTENUTO *et al*, 2019). Em um estudo piloto realizado pelo nosso grupo com 20 cães com HC e 40 controles pareados por raça, gênero e idade, a castração também foi documentada como fator de risco (NOGUEIRA e PÖPPL, 2018). O fato de ter sido encontrada correlação entre a castração e o HC utilizando uma amostra pequena de animais parece evidenciar que a castração é realmente um fator de risco importante para o desenvolvimento da doença.

A castração leva à interrupção da produção de hormônios gonadais e à hipersecreção de hormônios gonadotróficos, já que não há mais o feedback negativo para interrupção da produção de gonadotrofinas - hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo estimulante (FSH). O LH desenvolve papel principalmente na reprodução, porém há receptores de LH em diversos tecidos, como nas glândulas tireóides e nas glândulas adrenais. A elevação da concentração de gonadotrofinas séricas estimula a produção hormonal pelas adrenais, que podem se tornar hiperplásicas e/ou neoplásicas devido à hiperestimulação crônica (KUTZLER, 2020). Em *ferrets*, já foi identificada correlação entre a castração e a maior ocorrência de

hipercortisolismo, assim como correlação entre a idade em que o animal era castrado e a idade de diagnóstico do distúrbio (SHOEMAKER *et al*, 2000).

Alguns estudos evidenciam a ocorrência do hipercortisolismo dependente de LH em *ferrets*, camundongos e em humanos, sendo possível documentar aumento das concentrações séricas de LH geralmente acompanhadas de concentrações séricas de cortisol e ACTH dentro dos valores de referência normais para cada espécie (CHRISTOPOULOS; BORDEAU e LACROIX, 2005; KERO *et al*, 2000; SHOEMAKER; KUIJTEN e GALAC, 2008). Foi documentado também que a colocação de um implante de um agonista de GnRH em um *ferret* com hipercortisolismo foi capaz de reverter os sinais clínicos de HC após três semanas da aplicação, bem como de normalizar as alterações na imagem ultrassonográfica das glândulas adrenais e as alterações de exames laboratoriais após três meses (SHOEMAKER; KUIJTEN e GALAC, 2008). Em estudo com camundongos adrenalectomizados nos quais foram implantadas sob a cápsula renal células adrenais modificadas geneticamente, com expressão de receptores de LH e de gonadotrofina coriônica humana, observou-se que a presença desses receptores aberrantes foi capaz de induzir hiperplasia celular e sintomatologia clínica de síndrome de Cushing (MAZZUCO *et al*, 2006). No entanto, o eventual papel da elevação crônica de LH pós-castração na patogenia do HC carece de comprovação. Apesar disso, a possibilidade da ocorrência desta etiologia em cães já vem sendo discutida (KUTZLER, 2020).

As regulações dos eixos hipotálamo-hipófise-adrenal e hipotálamo-hipófise-gonadal são interligadas, fazendo com que as alterações hormonais a nível adrenal ou a nível gonadal produzam efeitos concomitantes sobre os dois eixos regulatórios. Os glicocorticoides, a progesterona e os receptores de androgênios têm a capacidade de reconhecerem e funcionarem em um sítio de DNA comum. Os androgênios têm a capacidade de interagirem fisicamente com os receptores de glicocorticoides e, desta forma, um exerce influência sobre a transcrição do outro (CHEN *et al*, 1997; VIAU, 2002).

Apesar de estar relacionada à prevenção de muitas doenças como a piometra, as neoplasias de ovários, útero e de mama e da diabetes mellitus, além dos potenciais benefícios à saúde pública através de um maior controle populacional, a castração também está relacionada ao aumento da ocorrência de algumas doenças. Além de estar associada a uma maior ocorrência de HC, a castração já foi relacionada à ocorrência aumentada de algumas neoplasias, como o hemangiossarcoma, o linfoma, o mastocitoma e o osteossarcoma, bem como ao aumento de ocorrência de doenças autoimunes, de rompimento do ligamento cruzado anterior e de epilepsia

(SUNDBURG *et al*, 2016; BELLANGER *et al*, 2017). Os resultados encontrados neste estudo reforçam a necessidade de que a indicação da castração seja feita de forma ponderada, avaliando o contexto em que cada paciente está inserido e considerando tanto os potenciais benefícios quanto os potenciais riscos que o procedimento pode trazer a longo prazo.

Neste trabalho foi observado que cães com HC foram mais expostos ao longo da vida à ausência de pátio ou quintal quando comparados a cães hígidos. São necessários mais estudos para elucidar se este achado se deve a uma pontencial falta de enriquecimento ambiental como um fator desencadeador de estresse - levando a um maior risco de HC -, ou eventualmente a uma maior exposição a contaminantes ambientais com ação de disrupção endócrina, ou ainda a outros fatores não abordados neste estudo.

No presente estudo, cães com HC estavam mais expostos à privação de contato com outros animais do que os cães hígidos. Em estudo feito com cães de abrigo comparando comportamentos indicativos de estresse e concentrações de cortisol nos pêlos de cães alojados individualmente e após serem realojados em pares, observou-se redução de comportamentos relacionados ao estresse e redução de concentração de cortisol em cães após eles serem expostos ao contato com outro animal da mesma espécie (GRIGG *et al*, 2017). Outro estudo com cães em abrigo mostrou que cães alojados em grupo tinham menores taxas de vocalização, problemas comportamentais e comportamentos estereotipados. Além disso, cães alojados em grupos tiveram menores taxas de problemas durante a adaptação logo após a adoção. Cães alojados em grupo mostravam também maiores níveis de conexão com humanos (MERTENS e UNSHELM, 2015). São necessários mais estudos para avaliar se a convivência com outros animais pode ser um fator protetivo contra o desenvolvimento do HC em cães.

Neste estudo foi observado que os cães hígidos foram mais expostos ao longo da vida ao confinamento em ambientes pequenos, de dimensões menores ou iguais a 30m², em comparação aos cães com HC. São necessários mais estudos para compreender se o confinamento em locais pequenos pode ser um fator de proteção ao desenvolvimento da doença ou se a diferença estatística encontrada foi resultado de viés de tamanho amostral ou de vieses relacionados ao processo de coleta e/ou de análise dos dados. Estudos sobre a variação de níveis de exposição a disruptores endócrinos de acordo com o tamanho do ambiente também podem ser úteis para uma melhor compreensão dos dados encontrados.

Os resultados encontrados neste estudo sugerem que alguns fatores externos podem ter influência sobre o desenvolvimento do HC em cães e que, portanto, devem ser realizados novos

estudos para elucidar se o manejo ambiental pode ser um fator de proteção contra o seu desenvolvimento. O papel do estresse sobre o funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal é conhecido, mas ainda não há evidências suficientes de que o estresse poderia induzir a formação de neoplasias secretoras que cursem com o desenvolvimento de HC em cães. Este estudo sugere que alguns fatores potencialmente estressores e que o contato com o plástico podem ter algum papel na chance de ocorrência da doença. Contudo, a análise univariada realizada até o momento deixa margem para eventual detecção de associações espúrias. Desta forma, a continuidade do trabalho por meio da realização de uma análise de regressão logística multivariada é fundamental para esclarecer as significâncias identificadas até o momento (O'NEILL *et al*, 2020).

5 CONCLUSÕES

Atualmente a frequência de diagnóstico do hipercortisolismo em cães é, em geral, maior do que das demais endocrinopatias. São necessários mais estudos para avaliar se o aumento da frequência de diagnósticos se deve ao maior conhecimento da doença pelos veterinários, ao desenvolvimento de métodos mais sensíveis e acurados de diagnóstico, a maior atenção dos tutores às alterações nos *pets* e busca mais precoce por atendimento veterinário, ou se o aumento da frequência de diagnósticos pode também ser explicado por uma maior exposição dos cães a determinados fatores ambientais, como o estresse e o contato com substâncias com potencial efeito de interrupção endócrina.

Os fatores cuja exposição sugeriu maior risco ao desenvolvimento de hipercortisolismo foram a castração, o isolamento de outros animais, a ausência de contato com pátio ou quintal e o contato com plástico. São necessários mais estudos para avaliar se a inexistência de correlação observada em relação às demais variáveis é significativa ou é influenciada por viés de tamanho amostral, ou outros vieses relacionados ao processo de coleta de dados.

As respostas fisiológicas ao estresse prejudicam o bem-estar e o desenvolvimento cognitivo dos cães, sendo importante que o médico veterinário oriente os tutores não só em relação à saúde física dos pacientes, mas também em relação seu ao desenvolvimento cognitivo. O investimento em enriquecimento ambiental e a diminuição de fatores potencialmente estressantes no cotidiano dos animais deve ser sempre priorizada. Dessa forma, além da garantia do bem-estar e de um adequado desenvolvimento cognitivo, estaremos potencialmente prevenindo a manifestação clínica de doenças.

REFERÊNCIAS

- BASAK, S.; DAS, M.K; DUTTARROY, A.K. Plastics derived endocrine-disrupting compounds and their effects on early development. **Birth Defects Research**, v. 112, p. 1308-1325, 2020. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/bdr2.1741>>. Acesso em: jan. 2021.
- BEHREND, E. N. *et al.* Diagnosis of Spontaneous Canine Hyperadrenocorticism: 2012 ACVIM Consensus Statement (Small Animal). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, p. 1292-1304, 2013. Disponível em <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jvim.12192>>. Acesso em: dez. 2020.
- BELANGER, J. M. *et al.* Correlation of neuter status and expression of heritable disorders. **Canine Genetics and Epidemiology**, v. 4, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5445488/>>. Acesso: jan. 2021.
- BODEGOM, M.; HOMBERG, J. R.; HENCKENS, M. J. A. G. Modulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis by Early Life Stress Exposure. **Frontier in cellular neuroscience**, v. 11, 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28469557/>>. Acesso em: fev. 2021.
- CAROTENUTO, G. *et al.* Cushing's syndrome – an epidemiological study based on a canine population of 21,281 dogs. **Open Veterinary Journal**, v. 9, p. 27-32, 2019. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6500859/>>. Acesso em: jan. 2021.
- CHEN, S. *et al.* Androgen and glucocorticoid receptor heterodimer formation: A possible mechanism for mutual inhibition of transcriptional activity. **Journal of Biological Chemistry**, v. 272, p. 14087-14092, 1997. Disponível em: <<http://www.jbc.org/content/272/22/14087.full>>. Acesso em: jan. 2021.
- CHRISTOPOULOS, S., BORDEAU, I., LACROIX, A. Clinical and subclinical ACTH-independent macronodular adrenal hyperplasia and aberrant hormone receptors. **Horm Res**, v. 105, p. 119-131, 2005. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16215323/>>. Acesso em: jan. 2021.
- FOYER, P. *et al.* Early experiences modulate stress coping in a population of German shepherd dogs. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 146, p. 79-87, 2013. Disponível em:

< <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168159113000956>>. Acesso em: fev. 2021.

GALAC, S. *et al.* Hyperadrenocorticism in a dog due to ectopic secretion of adrenocorticotrophic hormone. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 28, p. 338-348, 2005.

Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0739724004001468?via%3Dihub>>.

Acesso em: fev. 2021.

GALAC, S. *et al.* ACTH-independent hyperadrenocorticism due to food-dependent hypercortisolemia in a dog: a case report. **The Veterinary Journal**, v. 177, p. 141-143, 2008.

Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1090023307001517?via%3Dihub>>.

Acesso em: fev. 2021.

GAO, H. *et al.* Bisphenol A and Hormone-Associated Cancers: Current Progress and Perspectives. **Medicine Baltimore**, v. 94, p. e211, 2015. Disponível em: <

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4602822/>>. Acesso em: jan. 2021.

GRIGG, E. K. *et al.* Evaluating pair versus solitary housing in kennelled domestic dogs (*Canis familiaris*) using behaviour and hair cortisol: a pilot study. **Vet Record Open**, v.

4, 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5574456/>>.

Acesso em: jan. 2021.

GRÜN, F.; BLUMBERG, B. Environmental Obesogens: Organotins and Endocrine Disruption via Nuclear Receptor Signaling. **The Endocrine Society**, v. 147, p. 50-55, 2006.

Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16690801/>>. Acesso em: jan. 2021.

HANSON, J. M. *et al.* Plasma profiles of adrenocorticotrophic hormone, cortisol, α -melanocyte-stimulating hormone, and growth hormone in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism before and after hypophysectomy. **Journal of Endocrinology**, v. 190, p. 601-609, 2006. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17003261/>>. Acesso em: dez. 2020.

KERO, J. *et al.* Elevated luteinizing hormone induces expression of its receptor and promotes steroidogenesis in the adrenal cortex. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 105, p. 633-641, 2000. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC289173/>>.

Acesso em: jan. 2021.

KUTZLER, M. A. Possible Relationship between Long-Term Adverse Health Effects of Gonad-Removing Surgical Sterilization and Luteinizing Hormone in Dogs. **Animals**, v. 599, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32244716/>>. Acesso em: fev. 2021.

LEE, S. *et al.* Ectopic Cushing's syndrome associated with a pheochromocytoma in a dog: a case report. **BMC Veterinary Research**, v. 16, 35, 2020. Disponível em: <<https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-020-2244-7>>. Acesso em: fev. 2021.

MARCO, V. Hiperadrenocorticismo canino. In: JERICÓ, M. M.; NETO, J. P. A.; KOGIKA, M. M. **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. Rio de Janeiro: editoras Roca, Guanabara Koogan e Grupo Editorial Nacional, 2015, p. 3926-3956.

MAZZUCO, T. L. *et al.* Aberrant Expression of Human Luteinizing Hormone Receptor by Adrenocortical Cells Is Sufficient to Provoke Both Hyperplasia and Cushing's Syndrome Features. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 91, p. 196-203, 2006. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jcem/article/91/1/196/2843399>>. Acesso em: jan. 2021.

MERTENS, P.A, UNSHELM, J. Effects of Group and Individual Housing on the Behavior of Kennelled Dogs in Animal Shelters. **Journal of the International Society for Anthrozoology**, v. 9, p. 40-51, 2015. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.2752/089279396787001662>>. Acesso em: jan. 2021.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. p.824-828.

NOGUEIRA, T.B.; PÖPPL, A. G. Canine hyperadrenocorticism environmental risk factors: a case-control study. **American College of Veterinary Internal Medicine Forum**, 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/336250741_ACVIM_Forum_2018_EN_21_Canine_hyperadrenocorticism_environmental_risk_factors_A_case-control_study. Acesso em: fev. 2021.

O'NEILL, et al. Unravelling the health status of brachycephalic dogs in the UK using multivariable analysis. **Scientific Reports**, v.10, 17251, 2020. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-73088-y>. Acesso em: fev. 2021.

ORTH, D. N. *et al.* Plasma immunoreactive proopiomelanocortin peptides and cortisol in normal dogs and dogs with Cushing's Syndrome: diurnal rhythm and responses to various

stimuli. **The Endocrine Society**, v. 122, p. 1250-1262, 1988. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3015556/>>. Acesso em: dez. 2020.

POPPL, A. G. *et al.* Frequency of endocrinopathies and characteristics of affected dogs and cats in southern Brazil (2004-2014). **Acta Scientiae Veterinariae**, v.44, p. 1-9, 2016. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/actavet/44/PUB%201379.pdf>>. Acesso em: dez. 2020.

SCHOEMAKER, N. J. *et al.* Correlation between age at neutering and age at onset of hyperadrenocorticism in ferrets. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.216, p. 195-197, 2000. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10649752>>. Acesso em: jan. 2021.

SCHOEMAKER, N. J., KUIJTEN, A. M., GALAC, S. Luteinizing hormone-dependent Cushing's syndrome in a pet ferret (*Mustela putorius furo*). **Domestic Animal Endocrinology**, v. 34, p. 278-283, 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S073972400700104X?via%3Dihub>>. Acesso em: jan. 2021.

SUNDBURG, C. R. *et al.* Gonadectomy effects on the risk of immune disorders in the dog: a retrospective study. **BMC Veterinary Research**, v. 12, 2016. Disponível em: <<https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-016-0911-5>>. Acesso em: jan. 2021.

ULRICH-LAI, Y. M. *et al.* Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner. **American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism**, v. 291, p. 965-973, 2006. Disponível em: <<https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajpendo.00070.2006>>. Acesso em: dez. 2020.

VIAU, VICTOR. Functional Cross-Talk Between the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal and -Adrenal Axes. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 14, p. 506-513, 2002. Disponível em: <<http://www.foa.unesp.br/include/arquivos/foa/pos/files/s13.pdf>>. Acesso em: jan. 2021.

WADA, K. *et al.* Life style related diseases of digestive system: endocrine disruptors stimulate lipid accumulation in target cells related to metabolic syndrome. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 105, p. 133-137, 2007. Disponível em: <https://www.jstage.jst.go.jp/article/jphs/105/2/105_2_133/_article/-char/ja/>. Acesso em: jan. 2021.

ANEXO 1

Perguntas contidas no questionário sobre estilo de vida dos cães para avaliação de exposição a agentes estressores ambientais e a possíveis disruptores endócrinos

Cotidiano do cão

1. O cão tem acesso à rua/ faz passeios (pátio não é considerado como rua)?
2. Seu cão tem acesso a brinquedos de plástico ou borracha (brinquedos de pelúcia, corda ou outros materiais não são considerados nessa questão)?
3. Seu cão toma água em pote/ bebedouro de plástico?
4. Seu cão come em pote/ comedouro de plástico?
5. Seu cão tem o hábito de brincar com você ou outro familiar?
6. Seu cão convive com outros animais diariamente?
7. Seu cão frequenta *petshop* para banho e/ou tosa?
8. Seu cão frequenta creche para animais?
9. Seu cão frequenta hotéis/ hospedagem para animais?
10. Seu cão costuma receber alimentos comerciais enlatados (ração pastosa em lata. Ração pastosa em sachê não é considerada nesta questão)?
11. O cão passa a maior parte do tempo em que ambiente?
12. Qual o tamanho médio do ambiente em que o animal vive?
13. O animal possui alguma doença crônica? Qual?
14. Houve alguma mudança brusca no cotidiano do cão nos últimos meses (mudança de residência, mudança/ morte de pessoa ou animal que convivia com o cão, nascimento de um bebê, chegada de outro animal na casa, alterações de rotina...)? Se sim, qual?

Temperamento e socialização do cão

1. Qual(is) classificação(ões) melhor descreve(m) seu cão? Ativo e/ou brincalhão; Medroso, tímido e/ou ansioso; Carente, dependente de contato constante; Independente; Agressivo e/ou dominante; Quietos, calmo e/ou sedentário; Triste.
2. Seu cão apresenta sinais de medo/fobia?
3. Com quantas pessoas seu cão convive diariamente?
4. Seu cão convive diariamente com crianças?
5. Como é o nível da relação do cão com você e sua família?
6. Qual o tempo diário total destinado ao animal pelas pessoas da família (carinho, brincadeiras, ensinamento de truques, etc), aproximadamente?

7. Seu cão mostra sinais de ansiedade quando você sai de casa ou quando é deixado sozinho (fica agitado, late, chora...)?

8. Há alguma coisa que acontece no cotidiano do seu cão que você nota que deixa ele estressado, nervoso ou com medo? Qual?