



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

ESTUDO DA PREVALÊNCIA DE HIPOTIROIDISMO EM 87 CÃES DA RAÇA
PORTUGUESA RAFEIRO DO ALENTEJO

JOANA SOFIA SILVA TABANEZ

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:

PRESIDENTE:

Doutor José Henrique Duarte Correia

ORIENTADOR:

Doutora Maria Teresa Da Costa

Mendes Vítor Villa De Brito

VOGAIS:

Doutor António De Freitas Duarte

Doutora Maria Teresa Da Costa

Mendes Vítor Villa De Brito

Dr. Gonçalo Eduardo Vítor Vicente

CO-ORIENTADOR:

Dr. Gonçalo Eduardo Vítor Vicente

2012
LISBOA



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

ESTUDO DA PREVALÊNCIA DE HIPOTIROIDISMO EM 87 CÃES DA RAÇA
PORTUGUESA RAFEIRO DO ALENTEJO

JOANA SOFIA SILVA TABANEZ

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:

PRESIDENTE:

Doutor José Henrique Duarte Correia

VOGAIS:

Doutor António De Freitas Duarte

Doutora Maria Teresa Da Costa

Mendes Vítor Villa De Brito

Dr. Gonçalo Eduardo Vítor Vicente

ORIENTADOR:

Doutora Maria Teresa Da Costa

Mendes Vítor Villa De Brito

CO-ORIENTADOR:

Dr. Gonçalo Eduardo Vítor Vicente

2012

LISBOA

*Ao Pedro,
Por tudo.*

*Às minhas meninas,
À Phoenix que renasceu das cinzas,
À Bolacha que a aqueceu na noite fria.*

Agradecimentos

Este espaço é dedicado a todos aqueles que me ajudaram e apoiaram:

Agradeço, em primeiro lugar, à Prof. Dra. Teresa Villa de Brito, pela idealização e desenvolvimento deste tema, pelo seu apoio e confiança nas minhas capacidades de gestão deste projeto e na escrita desta tese, bem como, por todos os conhecimentos e amizade que partilhou comigo.

Ao Dr. Gonçalo Vicente, por me ter aceite como estagiária e por todo o apoio que me deu a mim e aos meus animais desde o 1º ano de faculdade. Agradeço, ainda, pela amizade que sempre me dirigiu e por me incentivar, através do seu exemplo, a ambicionar ser uma médica veterinária à sua semelhança.

Ao Prof. Dr. Luís Tavares, por ter apoiado financeiramente, ao abrigo do CIISA, o projeto em que esta tese se baseia. Ao INNO, mais precisamente, à Dra. Paula Brilhante, por toda a colaboração e disponibilidade neste projeto. Ao Dr. Rob van Herwijnen, do EVL, pela ajuda que deu na interpretação dos resultados.

Este estudo, também, não teria sido possível sem a contribuição e participação dos criadores e proprietários dos cães da raça Rafeiro do Alentejo.

É, ainda, com imensa gratidão que gostaria de agradecer aos que viajaram comigo quilómetros e que me ajudaram a colher as amostras – ao Pedro, à Daniela, à Alexandra e à Inês - , e às que ficaram em alerta no Hospital escolar e que contribuíram, aí, para a obtenção de mais animais – à Marta e Carolina.

Ao Dr. Telmo Nunes, pela ajuda excecional, muito para lá das suas obrigações, por todas as ideias e conhecimentos que partilhou, e, fundamentalmente, por toda a confiança que atribuiu ao meu estudo e às minhas capacidades.

À Prof. Dra. Ana Duarte, por toda a simpatia e disponibilidade, bem como, por toda a ajuda.

Às minhas colegas estagiárias, por toda a empatia e solidariedade que partilhámos ao longo do estágio. A todos os que me ajudaram a ultrapassar todas as dificuldades na área do internamento, com especial agradecimento à Dra. Joana Gomes, à Dra. Clara Lima, à Dra. Joana Almeida e aos enfermeiros e auxiliares que foram excecionais no seu apoio, Rita, Patrícia, Pedro, Sandra e Carla. A todos os outros médicos/funcionários com quem tive o prazer de partilhar os 6 meses de estágio: Dra. Leonor Iglésias (“Tia das Gatas”), Dr. Ricardo Ferreira, Dra. Mariana Pereira, Dra. Marisa Ferreira, Dr. António Almeida, Dr. Óscar Gamboa, Dra. Inês Marques, Dra. Ana Reisinho, Dra. Alexandra Basso, Dr. Rodolfo Leal, Dr. Ricardo Marques, por todos o conhecimentos e amizade que partilharam. Um agradecimento, muito especial, para a Dra. Ana Murta, que elevou a cirurgia muito para lá das minhas expectativas, por todo o encorajamento, confiança, partilha de conhecimentos,

amizade e por todo o tempo que perdeu a ensinar-me, muito para lá do seu horário de trabalho.

Ao meu namorado Pedro, por ser aquele que apoia incondicionalmente todas as minhas decisões, por todo o tempo que dedicou a ajudar-me em tudo o que foi preciso, pela partilha de ideias, mas, principalmente, por ser quem mais confia nas minhas capacidades. Obrigada por tudo o que me dás, por todas as convicções que partilhamos e por me fazeres acreditar que sou capaz de tudo.

A todos os que tenho o privilégio de chamar amigos, muito obrigada. À Ana, companheira de longa data, por toda a amizade e cumplicidade que partilhámos. À Marta, principalmente pelo ombro amigo ao longo destes meses difíceis. À Alexandra, a minha companheira de estágio, pela equipa de basket universitário que criámos e por todos os momentos ao longo do estágio. À Leonor, por tão bem me ter recebido na sua vida, por toda amizade e por todos os momentos hilariantes e de confidências que partilhámos. Gostaria ainda de agradecer, à Bolacha, à Carol, à Daniela, à Ana Afonso, ao Diogo, ao Pedro, ao Felipe, à Inês, ao Nuno, ao Small, ao Rafael e à Cláudia por terem partilhado comigo estes anos de faculdade e por todos os momentos de diversão e amizade.

À minha Mãe, Pai e Tia Cristina que representaram um papel essencial na minha formação e educação, sem vocês não seria o que sou hoje, obrigada por todo o amor que me dedicaram. Aos meus irmãos, por ordem cronológica, Madalena, João, Tomás, Maria e Martim, por invocarem o melhor que há em mim e por me fazerem sentir sempre na responsabilidade de não vos desapontar. A toda a minha família, aos meus avós, ao Luís, aos meus tios e primos, por toda a afeto e incentivo que me dão. À Laura e ao Paulo, por toda a simpatia e afeto que me dão e por me fazerem sentir sempre em casa.

Por fim, mas nunca por último, a todos os animais que passaram na minha vida, os quais foram e serão sempre, um incentivo tanto na minha vida pessoal como profissional, e tiveram um profundo impacto na minha pessoa.

Resumo

Estudo da Prevalência de Hipotiroidismo em 87 Cães da Raça Portuguesa

Rafeiro do Alentejo

O hipotiroidismo é uma doença endócrina bastante comum em cães. Esta caracteriza-se pela insuficiência das hormonas tiroxina e triiodotironina em circulação e é, normalmente, acompanhada por um aumento da concentração de tirotropina hipofisária. As duas principais causas de hipotiroidismo são a tiroidite linfocítica e a atrofia idiopática da tiroide. A tiroidite linfocítica é um processo autoimune que é influenciado por fatores genéticos e ambientais, que resulta na destruição da tiroide. Nos cães, a tiroidite pode manter-se subclínica durante 1 a 2 anos, em que a única alteração que se verifica é a presença de anticorpos antitiroglobulina. Uma vez que as hormonas tiroideias têm uma grande variedade de efeitos fisiológicos, esta doença origina sinais inespecíficos. As alterações mais comuns identificadas são do foro dermatológico e do foro metabólico. No entanto, podem surgir, outras alterações menos comuns. O diagnóstico de hipotiroidismo no cão é ainda complicado devido à ausência de um único teste que confirme o diagnóstico clínico. Adicionalmente, a presença de fatores como a doença sistémica não tiroideia e a administração de fármacos podem alterar os resultados dos testes de função tiroideia, dificultando, assim, a sua interpretação. Não se deve também subestimar a importância de variações específicas e fisiológicas das raças, no que diz respeito às concentrações das hormonas tiroideias.

Na medida em que determinadas raças específicas apresentam uma predisposição para o hipotiroidismo, este estudo teve como objetivo determinar a prevalência desta doença numa raça Portuguesa, o Rafeiro do Alentejo. O diagnóstico de hipotiroidismo foi realizado a partir de testes de tT_4 , IT_4 , TSH, TgAAs, da anamnese e de sinais clínicos físicos e laboratoriais, numa amostra de 87 cães. Verificou-se uma prevalência de hipotiroidismo de 2,3% nesta raça. Observou-se ainda uma diminuição fisiológica das concentrações de tT_4 e IT_4 em 41,67% e 12,05%, respetivamente, nos cães eutiroideos. Os intervalos específicos determinados para esta raça foram de 0,84-2,2 $\mu\text{g/dL}$ para a tT_4 , de 0,43-1,8 ng/dL para a IT_4 e de 0,03 – 0,37 ng/mL para a TSH. Identificou-se, também, uma frequência de anticorpos de 45,16% em 31 animais desta raça, muito elevada em comparação com os resultados obtidos para outras raças. É assim possível que, pelo menos 14 cães desta amostra, se encontrem num estadio de tiroidite subclínica e 2 cães num estadio de hipotiroidismo não inflamatório atrófico ou de atrofia idiopática da tiroide.

Palavras-chave: Rafeiro do Alentejo, Hipotiroidismo, Tiroidite linfocítica autoimune, Prevalência

Abstract

Prevalence study of Hypothyroidism in 87 dogs of the Portuguese Breed Alentejo Shepherd Dog

Hypothyroidism is a very common endocrine disease in dogs. It is characterized by a deficit of circulating thyroxine and triiodothyronine and, usually, by an increase in thyroid-releasing hormone concentration. The two main causes of hypothyroidism are lymphocytic thyroiditis and idiopathic thyroid atrophy. Lymphocytic thyroiditis is an autoimmune process that is influenced by genetic and environmental factors, which results in thyroid destruction. In dogs, thyroiditis may be subclinical for 1 to 2 years, where the only alteration found is the presence of antithyroglobulin antibodies. This disease's clinical signs are nonspecific, since the thyroidal hormones have a grand variety of physiological effects. Although dermatological and metabolic findings are most commonly identified, other less frequent signs can be found. Dogs' hypothyroidism's diagnosis is still complicated due to the absence of a single confirmation test. Additionally, thyroid function tests results may be affected by the presence of non-thyroidal systemic disease as well as the administration of drugs, making its interpretation more difficult. Specific and physiological variations within breeds regarding thyroidal hormone concentrations should not be underestimated.

Since hypothyroidism has a specific breed predisposition, the goal of this study was to establish the prevalence of this disease in a Portuguese breed, the Alentejo Shepherd Dog. Hypothyroidism was diagnosed through tT_4 , IT_4 , TSH and TgAAs tests, anamnesis and the presence of laboratorial and physical clinical signs, in a sample of 87 dogs. The prevalence of hypothyroidism found in this breed was 2,3%. A physiological decrease of tT_4 and IT_4 concentrations of 41,67% and 12,05% was also seen in euthyroidal dogs. The reference range determined for this breed was 0,84-2,2 $\mu\text{g/dL}$ for tT_4 , 0,43-1,8 ng/dL for IT_4 and 0,03 – 0,37 ng/mL for TSH. The antibodies' frequency was identified as 45,16% in 31 animals of this breed, a very high percentage when in comparison with obtained results in other breeds. Therefore, it is possible that at least 14 dogs within this sample may be in a subclinical thyroiditis stage and 2 dogs in a non-inflammatory atrophic hypothyroidism stage or have idiopathic thyroid atrophy.

Keywords: Alentejo Shepherd Dogs, Hypothyroidism, Autoimmune lymphocytic thyroiditis, Prevalence

Índice

I.	RELATÓRIO DE ATIVIDADES DE ESTÁGIO	1
II.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
1.	Introdução	4
2.	A Glândula Tiroide	4
2.1.	Síntese e secreção das hormonas tiroideias	4
2.2.	Transporte, entrada nos tecidos e metabolização	5
2.3.	Regulação da função tiroideia	7
3.	Hipotiroidismo primário.....	8
3.1.	Tiroidite linfocítica	8
3.2.	Atrofia idiopática da tiroide	18
3.3.	Outras causas de hipotiroidismo primário.....	19
4.	Epidemiologia do Hipotiroidismo	20
5.	Sinais clínicos de Hipotiroidismo	21
5.1.	Alterações metabólicas	21
5.2.	Alterações dermatológicas	22
5.3.	Alterações neuromusculares	24
5.4.	Alterações reprodutivas.....	26
5.5.	Alterações cardiovasculares.....	27
5.6.	Outros sinais clínicos	27
6.	Diagnóstico de hipotiroidismo.....	29
6.1.	Alterações clinicopatológicas	29
6.2.	Testes endócrinos	31
6.3.	Diagnóstico de tiroidite	41
6.4.	Diagnóstico imagiológico.....	43
7.	Tratamento e monitorização terapêutica	46
III.	Projeto de Investigação – Estudo da prevalência de Hipotiroidismo em cães da raça Rafeiro do Alentejo	48
1.	Introdução	48
2.	Material e Métodos.....	49
2.1.	Animais	49
2.2.	História Progressiva e Exame clínico.....	50
2.3.	Colheita de sangue e análises sanguíneas	50
2.4.	Critérios de exclusão de animais.....	50
2.5.	Análises da tiroide.....	51
2.6.	Classificação de cães hipotiroideos clínicos e de cães eutiroideos	52
2.7.	Análise Estatística	52
IV.	Resultados	53
1.	Estatística descritiva.....	53
1.1.	Caracterização da amostra	53
1.2.	Sinais clínicos	53
1.3.	Hemograma e Bioquímicas	54
1.4.	Concentração de tT_4 , IT_4 e TSH	54
2.	Deteção de TgAAs	54
3.	Hipotiroidismo clínico em cães da raça Rafeiro do Alentejo	56
4.	Animais eutiroideos.....	56
4.1.	Relação dos resultados das hormonas tiroideias com o sexo e correlação com a idade	56
4.2.	Avaliação das concentrações de tT_4 , IT_4 e TSH em animais eutiroideos	57
4.3.	Diferença entre as concentrações de tT_4 e IT_4 e os resultados das análises clínicas, idade e origem dos animais	58
V.	Discussão	60
1.	Sinais clínicos de hipotiroidismo e diagnósticos diferenciais em animais eutiroideos	60
1.1.	Alterações dermatológicas	60

1.2.	Alterações metabólicas	61
1.3.	Alterações reprodutivas e alterações oculares	61
2.	Alterações laboratoriais em cães hipotiroídeos e eutiroídeos.....	62
3.	Diagnóstico de hipotiroídeo.....	63
4.	Concentrações diminuídas de tT_4 e IT_4 em Rafeiros do Alentejo clinicamente eutiroídeos.....	64
5.	Frequência de TgAAs em Rafeiros do Alentejo	67
VI.	Conclusão	70
VIII.	Bibliografia	71
IX.	Anexos	84
1.	Material e Métodos - Questionário.....	84
2.	Resultados – Animais, Anamnese, Exame físico, Hemograma	86
3.	Resultados – Animais, Parâmetros Bioquímicos e Concentrações de IT_4 , tT_4 e TSH	90
4.	Resultados – Animais, TgAAs, Densidade óptica e Título de anticorpos	92

Lista de Tabelas

Tabela 1: Tipos de APS no Homem classificados por Naeufeld <i>et al</i> , em 1980 (Adaptada de Betterle & Zanchetta (2003)).	17
Tabela 2: Presença de sinais clínicos, alterações do hemograma e bioquímicas, concentração das hormonas IT_4 , tT_4 e TSH dos animais TgAAs negativos e positivos.	55
Tabela 3: Distribuição das hormonas tT_4 , IT_4 e TSH relativamente à presença ou ausência de TgAAs.	55
Tabela 4: Animais hipotiroideos e respetivos sinais clínicos, alterações do hemograma, concentração de tT_4 , IT_4 e TSH e deteção de TgAAs.	56
Tabela 5: Valores de TSH, IT_4 e tT_4 em animais eutiroideos.	56
Tabela 6: Intervalos de referência de tT_4 , IT_4 e de TSH para cães da raça Rafeiro do Alentejo.	66

Lista de Gráficos

Gráfico 1: Concentração de tT_4 ($\mu\text{g/dL}$) dos cães eutiroideos relativamente as fêmeas e aos machos.	57
Gráfico 2: Variação da concentração de tT_4 em relação à idade da amostra.	57
Gráfico 3: Correlação entre as concentrações de tT_4 ($\mu\text{g/dL}$), IT_4 (ng/dL) e TSH (ng/mL) da amostra de animais eutiroideos.	58
Gráfico 4: Animais com concentrações de tT_4 e IT_4 diminuídas ou normais relativamente ao local de origem.	59

Lista de Figuras

Figura 1: Esquema ilustrativo da etiopatogenia da tiroidite linfocítica em cães (Imagem original).	16
Figura 2: Cão hipotiroideu com alopecia no flanco, no tronco e na cauda (Imagem original).	23
Figura 3: Locais de contacto com os Rafeiros do Alentejo inseridos no projeto (Imagem original).	49
Figura 4: Rafeiro do Alentejo com pododermatite.	53
Figura 5: Rafeiro do Alentejo com lipidose da córnea (Imagens originais).	53

Lista de Abreviaturas e Siglas

^{123}I ou ^{131}I	Iodo radioativo
$^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$	Pertecnetato radioativo
AAS	Ácido acetilsalicílico
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AINES	Anti-inflamatórios não-esteroides
AITD	<i>Autoimmune thyroid diseases</i> ; doenças autoimunes da tiroide
ALT	Alanina aminotransferase
APC's	<i>Antigen presenting cells</i> ; células apresentadoras de antigénios
APS	<i>Autoimmune Polyendocrine Syndromes</i> ; síndrome autoimune poliglandular
AST	Aspartato aminotransferase
ATPase	Adenosina trifosfatase
CA-2	Antigénio coloidal 2
CIISA	Centro de Investigação Interdisciplinar de Sanidade Animal
CK	Creatinina quinase
CLT	<i>Canine lymphocytic thyroiditis</i> ; tiroidite linfocítica canina
CMD	Cardiomiopatia dilatada
CPC	Clube Português de Canicultura
CTLA-4	<i>Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4</i>
cTSH	TSH canina
D1, D2, D3	Desiodinases tipo 1, 2 e 3
DIT	Diiidotirosina
DLA	<i>Dog leukocyte antigen</i>
ECG	Eletrocardiograma
ED	Dialise de equilíbrio
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
EVL	<i>European Veterinary Laboratory</i>
FAS	Fosfatase alcalina
FMV-UTL	Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa
GGT	Gamaglutamiltransferase
H_2O_2	Peróxido de hidrogénio
HCV	<i>Hepatitis C virus</i> ; vírus da Hepatite C
HD	Doença de Hashimoto's
HDL	<i>High-density lipoprotein</i> ; lipoproteínas de alta densidade
HLA	<i>Human leukocyte antigen</i> ; Antigénio leucocítico human
IFN- α	Interferão alfa
IFN- γ	Interferão gama
Ig	Imunoglobulinas
IL-2	Interleucina-2
IV	Intravenosa
LDH	Lactato de desidrogenase
LDL	<i>Low Density Lipoproteins</i> ; lipoproteínas de baixa densidade
LOP	Livro de Origem Portuguesa
IT_3	Triiodotironina livre
IT_4	Tiroxina Livre
MHC	<i>Major histocompatibility complex</i> ; complexo maior de histocompatibilidade
MIT	Monoiodotirosina
Na/I	Sódio/Iodo
NK	Células <i>natural killer</i>
NTI	<i>Nonthyroidal illness</i> ; doença não-tiroideia
O_2^-	Superóxido
PO	<i>Per os</i>
PTPN22	<i>Protein tyrosine phosphatase nonreceptor-type 22</i>
rhTSH	TSH recombinante humana
RI	Registo de Identificação
RM	Ressonância magnética
rT ₃	T ₃ reversa

Rx	Radiologia
SNC	Sistema nervoso central
T ₃	Triiodotironina
T ₃ AA	Autoanticorpos T ₃
T ₄	Tiroxina
T ₄ AA	Autoanticorpos T ₄
TBG	<i>Thyroid hormone-binding globulin</i> ; globulina de ligação às hormonas tiroideias
TBPA	<i>Thyroxine-binding pre-albumin</i> ; pré-albumina de ligação à tiroxina/transtiretina
TC	Tomografia axial
TCR	<i>T-cell receptor</i> ; recetores de células T
Tg	Tiroglobulina
TgAAs	Autoanticorpos antitiroglobulina
TGF-β	<i>Transforming growth factor β</i> ; fator de transformação do crescimento β
Th1	Linfócitos T auxiliares 1
Th17	Linfócitos T auxiliares 17
Th2	Linfócitos T auxiliares 2
THAA	Anticorpos anti hormonas tiroideias
TNF-α	<i>Tumor necrosis factors-α</i> ; fator de necrose tumoral alfa
TPO	Tiroperoxidase
TRAIL	<i>TNF related apoptosis-inducing ligand</i>
Tregs	Linfócitos T reguladores
TRH	<i>Thyrotropin-releasing hormone</i> ; hormona de libertação de tirotropina
TSH	<i>Thyroid-stimulating hormone</i> ; tirotropina hipofisária
tT ₃	Triiodotironina
tT ₄	Tiroxina total
VLDL	<i>Very-low-density lipoprotein</i> ; lipoproteínas de muito baixa densidade
vWf/Ag	Factor antigénio von Willebrand

Lista de Símbolos

%	Percentagem
[]	Concentração
<	Menor que
=	Igual a
>	Maior que
±	Desvio Padrão
↑	Aumentado
↓	Inferior
μg	Micrograma
μL	Microlitro
cm	Centímetro
dL	Decilitro
FR	Frequência
g	Força centrífuga
h	Hora (s)
Kg	Quilograma
L	Litro
mg	Miligrama
mL	Mililitro
N	Número
ng	Nanograma
°C	Graus Celsius

I. RELATÓRIO DE ATIVIDADES DE ESTÁGIO

O estágio curricular foi realizado no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa, no período de 1 de Outubro a 31 de Março de 2012. Durante este período, foram realizadas diferentes atividades clínicas nas áreas de Medicina Interna, Cirurgia e Imagiologia em turnos de 8 horas rotativos, compreendidos em horários das 9h-17h e das 13h-21h. Já as atividades na área do Internamento, foram realizadas em turnos de 24 horas, com supervisão de um médico assistente responsável e enfermeiros/auxiliares veterinários. No total, foram realizadas 1516 horas de estágio.

Medicina Interna

Na Medicina Interna realizou-se 660 horas de assistência aos médicos veterinários de serviço. Nesta área, mais que todas as outras, contactou-se com os proprietários dos pacientes, pelo que, se desenvolveu técnicas de comunicação, interpretação da informação dada e relação médico veterinário – proprietário – paciente. Na grande maioria das consultas, foi preparada a história pregressa e realizado o exame físico dos pacientes com verificação posterior do médico veterinário assistente. O exame físico foi realizado sistematicamente sempre da mesma forma, com o intuito de proporcionar ao animal uma avaliação médica metódica. No âmbito das consultas de medicina interna administrou-se vacinas e outros fármacos, colheu-se sangue, colocou-se cateteres endovenosos, colocou-se algálias, preparou-se sistemas de soro, prescreveu-se receitas médicas e transportou-se as amostras de sangue urgentes ao laboratório de análises clínicas.

As consultas mais frequentemente observadas foram as de rotina – vacinação e desparasitação – bem como as de aconselhamento dos cuidados a ter e exame médico de novos animais. O aparecimento de animais à consulta com doenças digestivas e infecciosas foi também muito comum. Assistiu-se, ainda, a consultas de especialidade na área da oncologia, endocrinologia, neurologia, dermatologia, oftalmologia e comportamento animal. No decorrer dos 6 meses, assistiu-se igualmente a casos de urgência e cuidados intensivos, aos quais em várias situações se realizou a triagem e priorização destes animais. Os casos mais observados de urgência foram o aparecimento de animais traumatizados, animais comatosos e em choque, animais convulsivos, animais com torções de estômago, animais dispneicos e animais em paragem cardiorrespiratória. Nestes quadros, auxiliou-se o médico assistente nas técnicas de reanimação, na disponibilização de uma via endovenosa aberta, na entubação, na preparação e administração de fármacos e na realização de métodos de diagnóstico.

Endocrinologia

Nestas consultas de especialidade, os animais eram muitas vezes referenciados aquando suspeitas de doenças endocrinológicas ou para realizar um plano de diagnóstico e/ou tratamento. Nesta área, prestou-se especial atenção aos sinais clínicos dos animais e aos

estímulos iatrotrópicos compatíveis com endocrinopatias. Na área da endocrinologia, os pacientes eram seguidos de forma rotineira, relativamente à resposta da doença à terapêutica.

Oncologia

As consultas de oncologia iniciavam-se com a explicação aos proprietários do processo da quimioterapia, dos cuidados a ter, taxas de sucesso e influência no bem-estar do animal. Anteriormente a cada sessão de quimioterapia procedeu-se à pesagem dos animais, colocou-se cateteres, colheu-se sangue para hemograma, sendo que só se iniciou a terapêutica após se conhecer os resultados da análise hematológica. De acordo com o temperamento dos animais colocou-se colares isabelinos e, no caso dos gatos, sedaram-se os animais.

Internamento

Foram realizadas 420 horas de internamento ao longo dos 6 meses de estágio. Nesta área, cumpriu-se um plano diário realizado pelo Médico-Veterinário responsável que incluía a terapêutica, a monitorização, as colheitas de amostras para laboratório, a dieta, os passeios dos cães e higienização das jaulas e caixas de areia nos gatos.

A monitorização destes animais era realizada cerca de 3 vezes por dia, consoante os casos, através da qual se avaliava a cor das mucosas, o tempo de repleção capilar, a frequência cardíaca, o pulso, a frequência respiratória e a temperatura. A frequência e a quantidade de fezes e urina, bem como a presença de alterações ao longo da micção e da defecação, eram igualmente registadas. Quando se deparou com alterações ou não melhorias do quadro médico do animal, relatou-se estes acontecimentos ao médico veterinário assistente. No período de 24 horas, a administração de fármacos era, sempre que possível, realizada no horário descrito no plano médico. No entanto, estes fármacos eram muitas vezes preparados com horas de antecedência.

Os cuidados com o bem-estar dos animais foram sempre considerados, tendo presente um esforço para reduzir o *stress*, a que estes estão sujeitos, no período do internamento.

Imagiologia

Nesta área realizou-se 188 horas de trabalho, divididas pelas áreas de radiologia (Rx), ecografia e tomografia computadorizada (TC).

Na radiologia, auxiliou-se na contenção e no posicionamento dos animais, bem como na revelação das cassetes. Nas situações em que foi necessário anestésiar os animais, controlou-se a anestesia e os sinais vitais dos animais. Estas situações eram normalmente reservadas quando surgia a necessidade de colocar os animais em posições incómodas para os mesmos, para animais agitados, para a realização de mielografias de contraste e para situações pré e pós-cirúrgicas.

Na ecografia, procedeu-se, principalmente à contenção dos animais. Auxiliou-se na realização de alguns procedimentos como de biópsias, de colheitas de urina por cistocentese, de toracocentese, de pericardiocentese e de aspiração de líquido de quistos prostáticos.

Na tomografia axial, realizou-se sobretudo a cauterização e contenção dos animais, indução e controlo da anestesia e monitorização dos sinais vitais. Muitas das vezes, acompanhou-se os animais até ao internamento e no seu recobro.

Cirurgia

A aluna esteve cerca de 248 horas na área da cirurgia. Numa fase inicial, os animais eram recebidos e pesados, enquanto o médico-cirurgião esclarecia os proprietários relativamente aos procedimentos cirúrgicos. Estes animais foram submetidos a uma analgesia pré-cirúrgica. Quando necessário, os animais foram anestesiados na sala de Rx e de TC, com o intuito de se obter dados complementares antes das cirurgias. Nestes casos, auxiliou-se na anestesia e na monitorização da mesma, bem como no transporte dos animais até à sala de preparação cirúrgica. Na preparação e indução da anestesia, cateterizou-se os animais, preparou-se sistemas de soro, introduziu-se tubos endotraqueais, acoplou-se os tubos endotraqueais aos sistemas de anestesia volátil e, por fim, realizou-se a tricotomia e, conseqüente, lavagem e desinfeção da área cirúrgica. Nesta fase, preparou-se e administrou-se anti-inflamatórios e antibióticos.

Uma vez dentro da sala cirúrgica, foram cumpridas as condições de assepsia exigidas. Quando na posição de circulante, auxiliou-se na preparação do cirurgião e ajudante de cirurgião e facultou-se todo o material cirúrgico necessário à cirurgia. Quando anestesista, realizou-se a monitorização dos animais, sensivelmente, de 5 em 5 minutos, através da observação das mucosas, do tempo de repleção capilar, da frequência cardíaca, da frequência respiratória, da temperatura e da caracterização dos estadios anestésicos. Nas cirurgias, em que foi possível ser ajudante de cirurgião, auxiliou-se na exposição de determinados órgãos e estruturas, realizou-se compressão em situações de pequenas hemorragias e suturou-se, quando possível, alguns animais. Nas cirurgias eletivas, foi possível, como por exemplo, realizar a gonadectomia dos animais. No final da cirurgia, em alguns casos, realizou-se pensos.

Acompanhou-se, também, o pós-operatório dos animais, através da continuação da monitorização dos sinais vitais e remoção do tubo endotraqueal. Realizou-se as fichas pós-operatórias dos animais, de acordo com as indicações do médico-cirurgião assistente, onde foram registados os cuidados pós-operatórios e plano de medicação. Acompanhou-se a evolução pós-cirúrgica dos animais nas consultas posteriores, nas quais na maioria dos casos, se observou a cicatrização da pele e se retirou os pontos de sutura.

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Introdução

O hipotireoidismo é uma doença endócrina muito comum, que, embora possa ocorrer em qualquer tipo de cães, existem determinadas raças específicas que apresentam uma predisposição para esta doença (Mooney & Shiel, 2012). Nas raças portuguesas, não se conhece, até à data, qual a prevalência desta insuficiência endócrina. Por este motivo, este trabalho tem como principal objetivo conhecer a prevalência de hipotireoidismo em cães da raça portuguesa Rafeiro do Alentejo.

2. A Glândula Tiroide

A tiroide é uma glândula endócrina de origem endodérmica, estruturalmente representada por dois lóbulos unidos por um istmo, entre o 3º e o 8º anel traqueal (Junqueira & Carneiro, 2008; Rijnberk & Kooistra, 2010). Esta glândula é composta por milhares de folículos tiroidianos que contêm o coloide. Este último é uma substância gelatinosa constituída principalmente por uma glicoproteína de alto peso molecular, denominada tiroglobulina (Tg). A tiroglobulina contém iodotirosinas precursoras da síntese das hormonas tiroideias. Cada folículo é constituído por uma parede formada por uma única camada de células epiteliais, as quais são cuboides, quando estão quiescentes, ou são colunares, quando são estimuladas a produzir hormonas (Feldman & Nelson, 2004). Um outro tipo de células, que é encontrado no epitélio folicular ou entre os folículos tiroidianos, são as células parafoliculares ou células C. Estas células têm no seu interior numerosos grânulos que contêm uma hormona, denominada calcitonina, cujo efeito é inibir a reabsorção óssea e em consequência diminuir o nível de cálcio no plasma (Junqueira & Carneiro, 2008).

2.1. Síntese e secreção das hormonas tiroideias

A síntese e o armazenamento das hormonas tiroideias ocorrem em quatro etapas: (1) síntese de tiroglobulina; (2) captação de iodeto do sangue; (3) oxidação do iodeto e por fim; (4) iodação dos resíduos de tirosina da tiroglobulina (Scott-Moncrieff, 2010).

O iodo, convertido em iodeto no tubo digestivo, é essencial à produção das hormonas tiroideias. Este é transportado até à circulação sanguínea, deslocando-se até à tiroide onde entra por transporte ativo através de um co-transportador de Sódio/Iodo (Na/I) presente na membrana baso-lateral das células foliculares (Cunningham, 2002). Este mecanismo permite que a tiroide tenha uma concentração de iodeto 20 a 50 vezes maior que a do plasma (Junqueira & Carneiro, 2008).

Uma vez dentro da célula, o iodeto é oxidado, na presença de peróxido de hidrogénio, num intermediário reativo que é, por sua vez, incorporado nas estruturas anelares das moléculas de tirosina da tiroglobulina (Feldman & Nelson, 2004). Esta reação é catalisada pela tiroperoxidase (TPO), presente na membrana apical das células foliculares. A Tg é então

iodizada, na margem apical da célula folicular e depois libertada para o coloide por exocitose. A iodização dos resíduos de tirosina resulta na formação da monoiodotirosina (MIT), se o anel tirosil receber uma molécula de iodeto, ou da diiodotirosina (DIT), caso o anel tirosil receba duas moléculas iodeto. No interior do coloide, a TPO catalisa a união de duas moléculas de iodotirosina formando as iodotironinas (Rijnberk & Kooistra, 2010). A tiroxina (T_4) é então formada por duas moléculas DIT e a triiodotironina (T_3) por uma molécula DIT e uma molécula MIT (Cunningham, 2001). As moléculas MIT, DIT, T_3 e T_4 permanecem ligadas à tiroglobulina até serem excretadas (Scott-Moncrieff, 2010).

Para que as hormonas sejam libertadas na circulação, a tiroglobulina entra, por endocitose ou pinocitose, no interior da célula folicular. Ao entrar dentro da célula, as proteases dos lisossomas aí presentes clivam as pontes peptídicas entre os resíduos iodados e a tiroglobulina e, deste modo, as tironinas e as tirosinas são libertadas no citoplasma (Junqueira & Carneiro, 2008; Scott-Moncrieff, 2010). As iodotironinas atravessam livremente a membrana baso-lateral da célula e difundem-se nos capilares sanguíneos, ao passo que a MIT e a DIT, não sendo excretadas, são desionizadas pela enzima iodotirosinadesalogenase. Os produtos desta reação enzimática, o iodo e a tirosina, são reciclados nas células foliculares e alguma concentração de iodo pode voltar a entrar em circulação. A própria Tg não é normalmente libertada em quantidades significativas e, em cães saudáveis, só uma pequena quantidade pode ser medida na circulação periférica. Porém, a concentração de Tg em circulação pode estar aumentada quando as células foliculares estão danificadas, tal como ocorre na tiroidite linfocítica (Feldman & Nelson, 2004; Rijnberk & Kooistra, 2010).

Das hormonas tiroideias, toda a T_4 em circulação provém da glândula tiroide, mas apenas 20% da T_3 é produzida por esta glândula (Scott-Moncrieff, 2010). A maior parte da T_3 tem origem na desionização da T_4 nos tecidos periféricos. Esta reação é realizada pela enzima 5'-monodesiodinase, a qual remove o iodeto do anel fenólico externo da tiroxina. Quando o iodeto é removido do anel interno da T_4 é formada a T_3 reversa (rT_3), cujo efeito biológico é reduzido (Cunningham, 2002). A T_3 é, preferencialmente, produzida em estados metabólicos normais, enquanto a rT_3 parece ser produzida durante períodos de doença, de fome ou de catabolismo endógeno excessivo (Feldman & Nelson, 2004). Os tecidos periféricos nos quais ocorre a desionização da T_4 são a pele, o fígado, o músculo-esquelético e os rins (Mooney & Shiel, 2012).

2.2. Transporte, entrada nos tecidos e metabolização de hormonas

Na circulação sanguínea, mais de 99% da T_4 e T_3 estão ligadas às proteínas plasmáticas. No entanto, a T_4 está mais intensamente ligada àquelas que a T_3 (Scott-Moncrieff, 2010). No cão, as proteínas de ligação tiroideias são a globulina de ligação às hormonas tiroideias (TBG, *Thyroid hormone-binding globulin*), a albumina, a pré-albumina de ligação à tiroxina

(TBPA, *Thyroxine-binding pre-albumin*, atualmente designada transtiretina) e alguns tipos de lipoproteínas plasmáticas. A maioria da T_4 está ligada com alta afinidade à TBG, embora esta última tenha menor capacidade de ligação devido à sua diminuída concentração. Por sua vez, a albumina tem uma afinidade reduzida para a T_4 e T_3 , apesar de ter uma elevada capacidade de ligação devido à sua concentração abundante e assim representa, na ausência da TBG, um transportador importante de hormonas tiroideias (Cunningham, 2002; Rijnberk & Kooistra, 2010; Mooney & Shiel, 2012). No cão comparativamente ao Homem, há uma menor afinidade entre as proteínas de ligação plasmáticas e as hormonas tiroideias, bem como uma menor concentração das proteínas de ligação, o que resulta numa diminuição sérica da concentração total de T_4 e T_3 , num aumento da concentração de hormonas livres e numa maior taxa de *clearance* (Scott-Moncrieff, 2010).

É a pequena concentração de hormonas livres que determina o estado da tiroide independentemente da concentração de hormonas totais no plasma. São as hormonas livres que entram nas células dos tecidos-alvo produzindo um efeito biológico e uma retroalimentação negativa na hipófise e no hipotálamo (Scott-Moncrieff, 2010). As proteínas de ligação às hormonas tiroideias servem, assim, como reservatório, libertando lentamente as hormonas livres das proteínas de ligação, entrando estas posteriormente nas células (Feldman & Nelson, 2004). As hormonas tiroideias ligam-se a recetores no núcleo e, seguidamente, o complexo recetor da hormona liga-se ao ADN e influencia a expressão de uma variedade de genes que codificam enzimas reguladoras. A T_3 , comparativamente à T_4 , entra na célula mais rapidamente, tem um início de ação mais rápido e é três a cinco vezes mais potente que a T_4 (Scott-Moncrieff, 2010).

Após produzirem o seu efeito biológico, as hormonas são então metabolizadas. A desionização é a forma principal de regulação do metabolismo das hormonas tiroideias (Cunningham, 2002; Scott-Moncrieff, 2010). À exceção da formação de T_3 a partir de T_4 , nenhum dos derivados desionizados têm um efeito metabólico expressivo (Cunningham, 2002). As enzimas desiodinases tipo 1, 2 e 3 (D1, D2, D3), envolvidas na desionização, são as mesmas que estão envolvidas no catabolismo, inativando a T_3 e T_4 por desionização do anel interno. Uma vez que a T_4 tem maior ligação às proteínas plasmáticas, a sua taxa de *clearance* metabólico é menor, resultando num maior tempo de semivida, quando comparado com a T_3 (Rijnberk & Kooistra, 2010). O tempo de semivida da T_4 é de apenas 10-16 horas nos cães, comparado com os 7 dias no Homem (Mooney & Shiel, 2012).

A tiroxina e a T_3 são ambas concentradas no fígado e excretadas na biliar, sendo posteriormente reabsorvidas no tubo digestivo, resultando na produção de iodo que é reabsorvido como parte do ciclo entero-hepático (Cunningham, 2002; Scott-Moncrieff, 2010).

2.3. Regulação da função tiroideia

A síntese e a excreção das hormonas tiroideias são reguladas primariamente por mudanças na concentração em circulação da tirotropina hipofisária (TSH, *Thyroid-stimulating hormone*) excretada pela *pars distalis* da hipófise, controlada pelo eixo hipotálamo-hipófise-tiroide (Scott-Moncrieff, 2010). Como todas as hormonas hipofisárias, a TSH é libertada de forma pulsátil, mas a flutuação da sua concentração plasmática é muito reduzida principalmente no estado eutiroideu (Rijnberk & Kooistra, 2010). A TSH estimula a captação de iodo circulante, a produção e libertação de T_4 e, em menor quantidade, de T_3 (Junqueira & Carneiro, 2008; Scott-Moncrieff, 2010). Na hipófise, a concentração de T_3 , produzida por desionização da T_4 , desempenha um papel de retroalimentação negativa na secreção de TSH. O hipotálamo, por sua vez, produz a hormona de libertação de tirotropina (TRH, *Thyrotropin-releasing hormone*) que desempenha um papel modelador na libertação de TSH na hipófise. Estas regulações permitem estabelecer um equilíbrio que mantém o organismo com quantidades adequadas de T_4 e T_3 (Scott-Moncrieff, 2010).

A secreção de TSH aumenta por exposição ao frio e diminui com calor e também em resposta ao *stress* (Junqueira & Carneiro, 2008). A dopamina, a somatostatina, a serotonina e os glucocorticoides inibem a secreção de TSH, enquanto que a TRH, as prostaglandinas e os agonistas alfa-adrenérgicos estimulam a síntese de TSH (Scott-Moncrieff, 2010).

A função tiroideia é também autoregulada, sendo especialmente importante em situações em que há variação da concentração de iodo no organismo. Quando se verifica um excesso de iodo, ocorre uma reação designada *Wolff-Chaikoff block*, através da qual há uma diminuição da iodização da Tg por inibição da peroxidase tiroideia, resultando numa diminuição da síntese das hormonas tiroideias (Feldman & Nelson, 2004).

3. Hipotireoidismo primário

O hipotireoidismo primário ocorre em 95% dos casos de hipotireoidismo (Feldman & Nelson, 2004). Existem duas formas histológicas predominantes de hipotireoidismo primário em cães – a tireoidite linfocítica e a atrofia idiopática. Clinicamente estima-se uma relação de aproximadamente 1:1 destes dois tipos de afeções da tireoide (Graham, Refsal & Nachreiner, 2007). O resultado final de ambas as formas é a destruição progressiva da glândula tireoide e a consequente deficiência das hormonas tireoideas em circulação (Feldman & Nelson, 2004).

3.1. Tireoidite linfocítica

A tireoidite linfocítica, também designada de tireoidite autoimune, é caracterizada histologicamente pela infiltração multifocal ou difusa da glândula tireoide por linfócitos, por plasmócitos e por macrófagos. A característica histopatológica predominante da tireoidite é a infiltração celular por linfócitos B e T. Esta infiltração resulta na formação de nódulos linfoides com destruição dos folículos e na substituição progressiva do tecido normal glandular por tecido conjuntivo fibroso (Graham *et al*, 2007; Mooney & Shiel, 2012). Os folículos remanescentes são pequenos e, podem ser encontrados linfócitos, macrófagos e células degenerativas foliculares dentro dos colóides vacuolizados. Macroscopicamente, a tireoide pode parecer normal ou atrofica (Scott-Moncrieff, 2010).

A tireoidite linfocítica canina (CLT, *Canine lymphocytic thyroiditis*) é considerada análoga da doença de Hashimoto's (HD) no Homem, uma vez que, histologicamente, apresentam o mesmo padrão lesional e partilham as mesmas bases imunológicas no desenvolvimento da doença (Gosselin, Capen & Martin, 1978; Happ, 1995). Ambas as afeções apresentam as mesmas alterações patológicas, com a exceção do bócio desenvolvido na HD, o qual não é encontrado na CLT dos cães (Graham, Nachreiner, Refsal, Provencher-Bolliger, 2001).

Os sinais clínicos associados ao hipotireoidismo no decorrer da CLT apenas se desenvolvem quando aproximadamente 75% da glândula é destruída (Feldman & Nelson, 2004; Mooney & Shiel, 2012). A progressão da tireoidite linfocítica, desde as primeiras alterações patológicas até à insuficiência funcional da tireoide, é lenta, pode demorar meses a anos, é variável para cada paciente, e nem sempre tem como resultado final uma situação de hipotireoidismo (Mooney & Shiel, 2012). O reconhecimento de diferentes estadios funcionais e patológicos da CLT é essencial no que diz respeito ao seu diagnóstico. Graham *et al* (2001b) reconheceram os seguintes estadios:

- Tireoidite subclínica ou silenciosa, a qual é caracterizada pela presença de infiltração linfocítica focal e muitas vezes periférica da glândula sem mais nenhuma alteração histológica. Nesta situação existe a presença de autoanticorpos, mas todas as hormonas tireoideas estão dentro dos intervalos de referência (eutiroides).

- Hipotiroidismo subclínico anticorpos-positivo, no que as alterações patológicas se estendem a mais de 60% a 70% da glândula tiroide. Neste caso, ocorre aumento da concentração de TSH em circulação, a qual estimula a restante fração de tecido funcional a produzir hormonas tiroideias. Observa-se assim a presença de anticorpos e de um aumento da concentração de TSH, mas as concentrações de T₄ e T₃ estão normais.
- Hipotiroidismo anticorpos-positivo, no qual, devido à inflamação, a maioria do tecido funcional da tiroide encontra-se destruído e deixa de ser possível manter a produção de T₄. Existe, nestes casos, uma diminuição da T₄, aumento da TSH e a presença de anticorpos.
- Hipotiroidismo não inflamatório atrófico, na qual ocorre substituição do tecido tiroideu destruído por tecido fibroso e adiposo, os quais dão origem a uma aparência histológica não inflamatória e atrófica da tiroide, devido ao desaparecimento das células inflamatórias. No entanto, podem estar presentes infiltrados residuais de linfócitos e de plasmócitos intercalados por aglomerações de células parafoliculares, assim como de pequenos folículos em número reduzido contendo células foliculares degenerativas e de coloide com fraca coloração (Conaway, Padgett, Bunton, Nachreiner & Hauptman, 1985). A ausência do processo inflamatório resulta no desaparecimento dos anticorpos, mantendo-se o perfil laboratorial hipotiroideu de um animal com hipotiroidismo.

A progressão entre os estadios, de tiroidite subclínica para hipotiroidismo clínico com anticorpos e deste último para o hipotiroidismo clínico sem anticorpos, decorre em 1 a 2 anos (Graham *et al*, 2001b).

Durante este processo inflamatório são libertados em circulação vários tipos de anticorpos dirigidos a diferentes antigénios. Com efeito, estão identificados diversos anticorpos contra a tiroglobulina, contra o antigénio microssomal da tiroperoxidase, contra o antigénio coloidal (CA-2), contra o transportador Na/I e ainda contra os recetores de TSH (Graham *et al*, 2001b). Nos cães, estes anticorpos são dirigidos predominantemente contra a tiroglobulina. Porém, em pacientes com HD, os anticorpos mais comuns identificados são os dirigidos contra antigénios da TPO (Feldman & Nelson, 2004; Graham *et al*, 2007). Assim, embora a tiroidite linfocítica nos cães seja histologicamente e clinicamente comparável com a HD, o número de anticorpos anti-TPO no soro de cães hipotiroideus não é idêntico ao encontrado em pacientes humanos. Existe inclusivamente um estudo que não regista qualquer evidência da presença de anticorpos contra a TPO em cães com doença autoimune da tiroide (Thacker, Davis, Refsal & Bull, 1995). No entanto, Skopek, Patzl e Nachreiner (2006) à semelhança de outros autores, identificaram anticorpos anti-TPO numa pequena percentagem dos cães afetados, geralmente em associação com outros autoanticorpos da tiroide.

3.1.1. Etiopatogenia

Os mecanismos exatos responsáveis pelo desenvolvimento da CLT ou da HD continuam por esclarecer, ainda que se verifique uma elevada prevalência de HT em pacientes humanos (Graham *et al*, 2007; Zaletel & Gaberšček, 2011). É, no entanto, atribuída a esta doença autoimune uma forte componente multifatorial, para a qual contribuem, quer fatores genéticos, assim como fatores ambientais e endógenos, que conjuntamente desequilibram a tolerância imunitária e, deste modo, podem despoletar processos de agressão autoimune da tiroide (Melo, 2006; Burek & Talor, 2009).

3.1.1.1. Suscetibilidade Genética

A redução da heterozigotia, atribuída à endogamia dos cães de raça pura, torna os animais particularmente predispostos ao desenvolvimento de doenças hereditárias, tais como, a diabetes, a epilepsia, os tumores, as doenças cardiovasculares e ainda doenças autoimunes. (Lindblad-Toh *et al*, 2005; Karlsson & Lindblad-Toh, 2008). Atualmente está demonstrada uma forte origem genética nas doenças autoimunes da tiroide (AITD, *Autoimmune thyroid diseases*), tanto no Homem como no Cão (Sundberg, 2012).

O completo envolvimento genético e ambiental da CLT continua por esclarecer (Ferm *et al*, 2009). Contudo, na HD no Homem é conhecida a contribuição de vários genes, como genes imunoreguladores – HLA (*Human leukocyte antigen*), CTLA-4 (*Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4*) e PTPN22 (*Protein tyrosine phosphatase nonreceptor-type 22*) – e um gene específicos da tiroide – gene da tiroglobulina (Zaletel & Gaberšček, 2011).

O complexo maior de histocompatibilidade (MHC, *Major histocompatibility complex*) foi o primeiro locus associado à suscetibilidade da AITD no Homem. O MHC codifica as proteínas HLA que estão localizadas nas células apresentadoras de antígenos (APC's, *Antigen presenting cells*), desempenhando assim um importante papel na ativação da resposta imune. A região HLA é altamente polimórfica, sendo que a existência de alelos HLA específicos com uma maior afinidade para autoantígenos tiroideus contribui significativamente para o desenvolvimento da AITD (Zaletel & Gaberšček, 2011; Sundberg, 2012).

Assim como no Homem, os genes do MHC classe II designados DLA (*Dog leukocyte antigen*) têm sido fortemente associados à predisposição para o desenvolvimento da CLT (Wilbe *et al*, 2010). A variação das frequências dos haplótipos e dos alelos do MHC classe II, pode justificar uma resposta correta ou incorreta a antígenos próprios ou, ainda, uma tendência para certas raças desenvolverem autoimunidade (Kennedy *et al*, 2006). Os genes do DLA classe II mais estudados são os DLA-DRB1, - DQA1 e – DQB1, presentes no cromossoma 12, os quais, à semelhança dos genes HLA, são altamente polimórficos. No entanto, dentro de cada raça canina podem existir cinco a sete haplótipos, sendo que dois ou três possuem uma frequência predominante (Kennedy, 2012). Adicionalmente, Angles *et*

al (2005) analisaram a frequência e distribuição dos alelos DLA-DRB1, - DQA1 e - DQB1 de 25 raças do Clube Americano de Canicultura, e registaram um nível muito elevado de homozigotia do DLA classe II nalgumas raças. Este fato pode contribuir para o desenvolvimento de doenças autoimunes. Os investigadores Wilbe e colaboradores (2010) verificaram que o alelo DLA-DRB1*01201, do haplótipo DLA-DRB1*01201/DQA1*00101/DQB1*00201, mostra ser um alelo de risco no desenvolvimento da CLT em cães da raça Schnauzer Gigante e Hovawarts. Este alelo foi igualmente identificado em diversas raças como o Terra Nova, o Pastor Alemão, o Chow Chow, o Golden Retriever, o Retriever do Labrador, o Weimaraner e o Dobermann (Angles *et al*, 2005; Kennedy *et al*, 2006). Vários animais saudáveis são portadores de haplótipo DLA-DRB1*01301/DQA1*00301/DQB1*00501, o que pode representar uma proteção ao desenvolvimento da doença (Wilbe *et al*, 2010).

O alelo DQA1*00101 parece estar também associado a um risco significativo do desenvolvimento de CLT. Os cães hipotiroideos, das raças Dobermann, Leão da Rodésia, Setter Inglês e Schnauzer gigante, parecem ter uma prevalência maior deste alelo (Kennedy *et al*, 2006). Neste estudo propôs-se ainda uma diferente associação do MHC dos cães hipotiroideos da raça Boxer, uma vez que estes animais apresentavam uma frequência diminuída do alelo DQA1*00101 e uma frequência aumentada de um haplótipo raro do DLA. Desta forma, tal como no Homem, com diferenças entre e dentro de etnias, também nos cães ocorrem diferentes associações entre o MHC nas diferentes raças (Kennedy *et al*, 2007).

A variação da prevalência de TgAA entre diferentes raças reforça a hereditariedade da CLT. Nos últimos anos, tem vindo a identificar-se raças com uma frequência elevada de anticorpos antitiroideos. Entre elas destacam-se o Setter Inglês, o Dálmata, o Basenji, o Leão da Rodésia, o Pastor Inglês, o Boxer, o Bichon Maltês, o Chesapeake Bay Retriever, o Beagle, o Cocker Spaniel, o Shetland Sheepdog, o Huskie, o Border Collie, o Akita, o Golden Retriever (Graham *et al*, 2007), o Schnauzer gigante e o Hovawart (Ferm *et al*, 2009).

Para além do MHC classe II, à semelhança do que se conhece na HD, podem estar por determinar outros genes suscetíveis no desenvolvimento de CLT (Kennedy *et al*, 2006; Wilbe *et al*, 2010). No homem, existe uma grande contribuição genética numa mesma família ou em irmãos gémeos para o desenvolvimento de AITD (Brix, Kyvik & Legedüs, 2000; Zaletel & Gaberšček, 2011). Já os indivíduos do sexo feminino têm uma maior predisposição genética para a AITD, que deverá estar associada a defeitos no cromossoma X. Este contem vários genes sexuais e imunoreguladores, os quais são essenciais à preservação da imunotolerância (McCombe, Greer, Mackay, 2009).

3.1.1.2. Fatores Ambientais

O facto de não ocorrer uma concordância de 100% da contribuição genética na etiologia da AITD entre gémeos monozigóticos sugere uma influência de fatores ambientais na doença (Brix *et al*, 2000).

Em contraste ao que é conhecido, acerca da predisposição genética da doença, pouco se conhece relativamente aos agentes ambientais que podem despoletar autoimunidade num indivíduo geneticamente predisposto (Burek & Talor, 2009). Os fatores ambientais que têm sido implicados no desenvolvimento da tiroidite autoimune no Homem são o excesso ou a deficiência de iodo, a deficiência em selénio, o microquimerismo fetal, a infeção, os fármacos e os poluentes ambientais (Prummel, Strieder & Wiersinga, 2004; Zaletel & Gaberšček, 2011). Dos fatores ambientais implicados na doença de Hashimoto's, a dieta é o fator que mais provavelmente afeta os cães (Johansson, 2011). Tanto o excesso, tal como a deficiência de iodo na dieta, podem causar alterações na biossíntese das hormonas tiroideias (Castillo *et al*, 2001). Castilho e colaboradores (2001) demonstraram que a administração de uma quantidade excessiva de iodo na dieta em cachorros da raça Beagle durante 45-90 dias provoca uma diminuição da concentração plasmática de T₄ livre e aumento da concentração de TSH. Estão descritos vários mecanismos através dos quais o iodo promove o aparecimento da tiroidite, destacando-se entre eles: (1) o aumento da antigenicidade de porções da tiroide através da iodação dos epítomos mais antigénicos; (2) a interação do iodo com radicais livres de oxigénio como o peróxido de hidrogénio (H₂O₂) ou o superóxido (O₂⁻), originando radicais de iodo, os quais podem provocar danos na membrana lipídica e nas proteínas; (3) a iodação dos lípidos ou proteínas, para além da Tg, que podem atuar como ativadores imunogénicos (Brown, Sundick, Dhar, Sheth & Bagchi, 1991; Sundick, Bagchi & Brown, 1992).

Um dos fatores que aumenta a predisposição dos indivíduos femininos para a AITD é o microquimerismo fetal. Este é definido pela presença de células fetais no tecido materno transferido para a circulação materna durante a gravidez. As células imunitárias fetais deslocam-se para a glândula tiroide, onde podem tornar-se ativas no período pós-parto, no momento da suspensão da imunotolerância materna, podendo ampliar ou iniciar a AITD (Greer *et al*, 2011; Zaletel & Gaberšček, 2011).

As infeções causadas por vários agentes como os vírus, as bactérias e os protozoários têm sido implicadas na patogénese da tiroidite autoimune. Esta hipótese sugere que a ativação dos linfócitos T CD4 específicos para antigénios da tiroide possa ser provocada pela presença de agentes infecciosos (Dayan & Daniels, 1996). Assim, vários estudos demonstraram uma evidência direta entre a presença de infeção e o risco de aparecimento de tiroidite autoimune. Entre os agentes infecciosos implicados destaca-se o vírus da Hepatite C (HCV, *hepatitis C virus*), o Herpesvirus, o Parvovirus e o *Toxoplasma gondii* (Mori *et al*, 2007; Thomas *et al*, 2008; Tozzoli *et al*, 2008; Wasserman *et al*, 2009; Tomer, 2010).

Embora tenham sido implicados vários agentes específicos, uma variedade de microrganismos pode produzir o mesmo efeito (Burek & Talor, 2009). No entanto, atualmente tem-se verificado uma aceitação crescente no sentido em que o sistema imunitário é “educado” por múltiplas exposições a diferentes infeções permitindo um melhor controlo das respostas autoimunes (Davies, 2008). É, portanto, controverso o papel da infeção relativamente ao aparecimento ou proteção da tiroidite autoimune (Davies, 2008).

A teoria, implícita na capacidade de um vírus induzir autoimunidade, é aplicada à vacinação e ao seu efeito potencial (Sundberg, 2012). No decorrer dos últimos anos, a vacinação de rotina em cães tem sido discutida como sendo um fator parcialmente responsável pelo aumento do aparecimento das doenças autoimunes em cães (Scott-Moncrieff, Azcona-Olivera, Glickman, Glickman & HogenEsch, 2002). Scott-Moncrieff e colaboradores (2002) verificaram que a vacinação de rotina contra a raiva induz o aparecimento de autoanticorpos contra a tiroglobulina canina, não sendo conhecido se estes anticorpos desempenham ou não um efeito prejudicial na função da glândula tiroide. No entanto, os mesmos investigadores, não encontraram qualquer relação entre o aparecimento de alterações histopatológicas compatíveis com tiroidite e a vacinação em cães (Scott-Moncrieff, Glickman, Glickman & HogenEsch, 2006).

Está igualmente demonstrada a capacidade de certos fármacos, tais como o Interferão alfa (IFN- α), a Interleucina-2 (IL-2) e a amiodarona de despoletarem ou exacerbarem a suscetibilidade de indivíduos à tiroidite autoimune (Zaletel & Gaberšček, 2011). O IFN α , usado no tratamento da hepatite crónica, pode provocar tanto efeitos tóxicos diretos na tiroide como efeitos autoimunes (Tomer, 2010). Alguns tipos de poluentes ambientais também apresentam evidências de uma contribuição para o desenvolvimento da AITD (Burek & Talor, 2009).

3.1.1.3. Autoimunidade

A autoimunidade é representada pela perda da autotolerância, na qual o sistema imunitário identifica os autoantígenos como antígenos estranhos ao organismo, desenvolvendo um ataque aos próprios tecidos. No entanto, no organismo, existem mecanismos que previnem a autoimunidade da tiroide. Mas quando sujeitos a alterações, ocorre o desaparecimento da tolerância imunitária e, conseqüentemente, o desenvolvimento da tiroidite autoimune (Figura 1) (Gershwin, 2010).

3.1.1.3.1. *Proteção contra a autoimunidade da tiroide*

A tolerância imunológica é mantida por um processo complexo de mecanismos centrais e periféricos. A tolerância central é realizada no córtex do timo, onde os linfócitos fetais estão em contacto com células epiteliais que expressam uma variedade de antígenos de tecidos e antígenos do MHC classe I e II. Apenas são mantidos os linfócitos T, que têm a capacidade de reconhecer os autoantígenos MHC mas, que não fazem ligações suficientemente fortes

de modo a iniciarem uma resposta citotóxica. Estas células tornam-se linfócitos T CD4 ou CD8 e podem ligar-se aos MHC classe II ou I, respetivamente, onde os seus recetores de células T (TCR, *T-cell receptor*) para antigénios têm especificidade para epítomos estranhos ao organismo (Gershwin, 2010). Vários mecanismos periféricos de tolerância impedem as células que, escapam à tolerância central, de provocar autoimunidade. Entre eles, a apoptose e a anergia dos linfócitos T reativos, a não apresentação de sinais que permitam o reconhecimento de autoantigénios e a supressão por linfócitos T reguladores (Tregs) ativos (Day, 2012). Os Tregs são linfócitos do tipo CD4⁺ CD25⁺ e são essenciais na prevenção da doença autoimune em animais saudáveis (Weetman, 2004). Para tal, desempenham efeitos supressores nos linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ autoreativas, nas APCs e nos linfócitos B, evitando respostas imunológicas a autoantigénios e suprimindo respostas imunes excessivas (Sakaguchi, Yamaguchi, Nomura & Ono, 2008). O fator de crescimento transformante (TGF- β , *Transforming growth factor β*) produzido pelos Tregs, pelos fibroblastos, macrófagos, pelas células endoteliais e pelos tirócitos, é também um regulador essencial da tolerância imunitária. Este é um inibidor forte da diferenciação das células T e da atividade citolítica dos linfócitos T citotóxicos e das células *natural killer* (NK) (Kehrl, 1991).

3.1.1.3.2. *Desenvolvimento da autoimunidade na tiroide*

Os mecanismos exatos de iniciação e progressão da tiroidite autoimune, bem como a ausência de supressão desempenhada pelos Tregs aquando do desenvolvimento da resposta autoimune, ainda não estão completamente esclarecidos (Gershwin, 2010; Zaletel & Gaberšček, 2011). Para a iniciação da tiroidite autoimune é necessária uma interação entre as células foliculares tiroideias, as APCs, e os linfócitos T autoreativos, da qual resulta uma resposta autoimune contra os antigénios da tiroide (Zaletel & Gaberšček, 2011). Esta interação é desencadeada pela emissão de um sinal inflamatório, produzido por lesões não específicas ou pela necrose das células tiroideias, provocados por múltiplos fatores, tais como a suscetibilidade genética, as infeções bacterianas ou virais, o stress, o excesso de iodo ou as alterações do microambiente local (Happ, 1995; Melo, 2006). Esta lesão inicial atrai uma quantidade expressiva de APCs para o interior da tiroide que, por sua vez, vão apresentar autoantigénios da tiroide aos linfócitos T auxiliares CD4⁺ (Sgarbi & Maciel, 2009).

Uma vez dentro da tiroide, os linfócitos organizam-se em centros germinativos, com um padrão distinto de adesão molecular, onde se vão desenvolver vénulas bem formadas e se vão produzir quimiocinas (Armengol *et al*, 2001; Graham *et al*, 2007). As quimiocinas são uma família especializada de citocinas que podem manter e amplificar a reação inflamatória crónica através do recrutamento de leucócitos para os locais inflamatórios, o que vai perpetuar o processo autoimune (Rotondi, Chiovato, Romagnani, Serio & Romagnani, 2007). Durante este processo patogénico o infiltrado linfocítico vai desenvolver respostas

Th1 (Linfócitos T auxiliares 1) e Th2 (Linfócitos T auxiliares 2), com um desvio para um padrão de Th1 (Heuer, Aust, Ode-Hakim & Scherbaum, 1996; Wang & Baker, 2007). Assim, a resposta autoimune tem um predomínio de produção de citocinas do tipo Th1 como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α , *Tumor necrosis factor - α*), o interferon gama (IFN- γ) e a IL-2 (Zaletel & Gaberšček, 2011). Choi *et al*, 2006, verificaram, igualmente, um aumento de citocinas do tipo Th1 como o IFN- γ , IL-18 e IL-15 durante o desenvolvimento da tireoidite autoimune em cães. As citocinas libertadas, principalmente o IFN- γ , podem induzir a expressão de moléculas MHC classe II na superfície das células foliculares tiroideias transformando-as em APCs (Weetman, 2004; Sgarbi & Maciel, 2009).

Os linfócitos Th produzem linfocinas que promovem a diferenciação das células B em plasmócitos que, por sua vez, produzem uma grande quantidade de anticorpos (imunoglobulinas – Ig) e iniciam a maturação dos linfócitos T CD8+ em linfócitos T citolíticos ou supressores (Happ, 1995).

A descoberta recente dos linfócitos T auxiliares 17 (Th17), e do seu papel na patogénese de doenças crónicas inflamatórias e autoimunes, tem sido estudada para uma melhor compreensão de alguns mecanismos regulatórios (Gershwin, 2010). Figueroa-Veja e colaboradores (2010) realizaram um estudo em pacientes humanos com AITD e verificaram um aumento da diferenciação de linfócitos Th17, assim como a síntese de citocinas IL-17 e IL-22, particularmente em pacientes com HD.

3.1.1.3.3. *Destruição da tiroide*

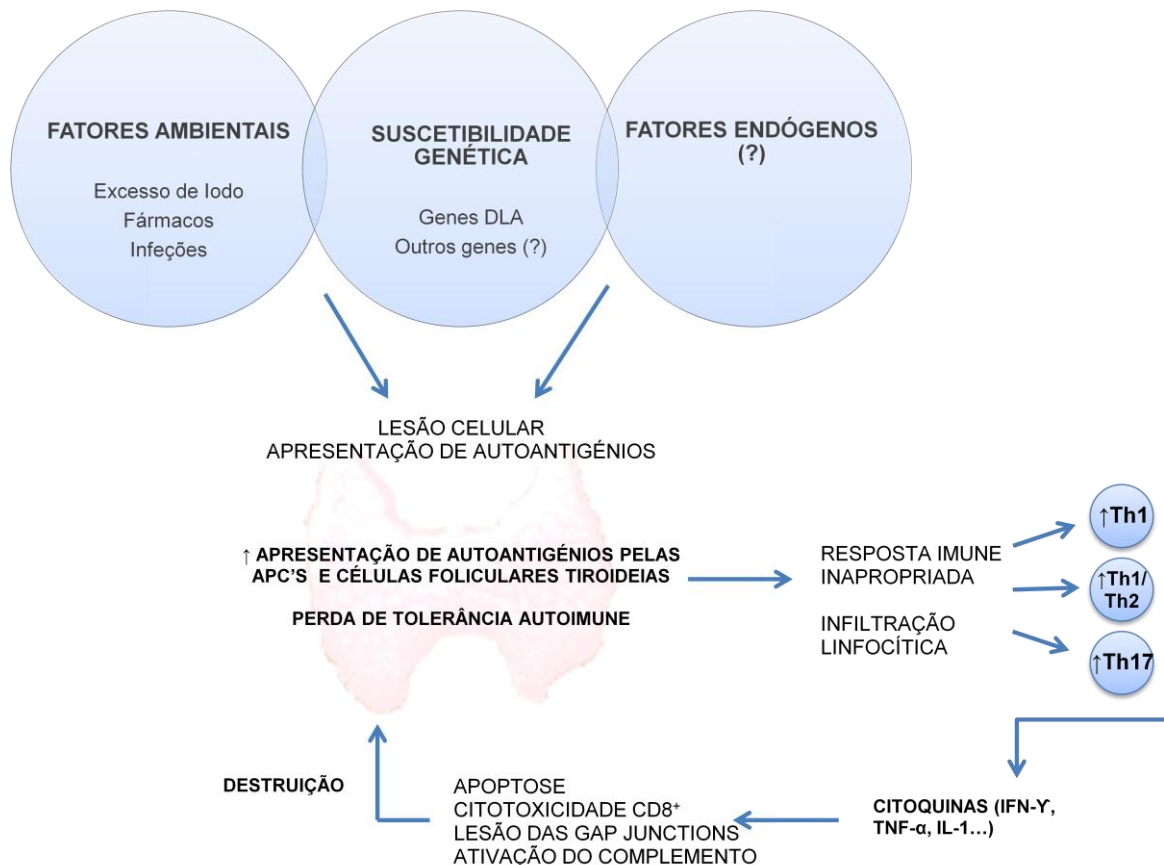
A destruição da tiroide é provocada por uma consequência de vários mecanismos como a apoptose, a citotoxicidade mediada por linfócitos CD8+, a alteração nas junções celulares e a ativação do complemento (Zaletel & Gaberšček, 2011). A apoptose pode ser iniciada por dois mecanismos principais, tais como o aumento de recetores Fas e TRAIL (*TNF related apoptosis-inducing ligand*). O primeiro mecanismo implica o aumento da expressão de recetores Fas (Apo1 ou CD95) na célula tiroideia que se liga ao ligando do Fas presente na superfície dos linfócitos T ativos, ativando o processo de apoptose (Mitsiades, Poulaki, Mitsiades, Koutras & Chrousos, 2001). Este mecanismo de morte celular programada é estimulado pela presença de citocinas do tipo Th1, aquando do processo inflamatório, nomeadamente por IFN- γ e TNF- α (Wang *et al*, 2002). O segundo mecanismo inclui o TRAIL/Apo2L que se liga aos recetores TRAIL-R1 e TRAIL-R2 ativando os mecanismos de morte celular programada (Mitsiades, *et al* 2001). Ambos os mecanismos ativam as enzimas caspases proteolíticas que destroem as células tiroideias.

Um outro processo que também contribui para a destruição tiroideia é a citotoxicidade mediada por linfócitos CD8+. Estes ligam-se a moléculas imunologicamente ativas como o fator ICAM-1, expressado pelas células foliculares tiroideias, induzindo a citotoxicidade (Weetman, 2004). A ligação de anticorpos às células foliculares, ao coloide e a antigénios de tiroglobulina, ativa o complemento, ou a citotoxicidade mediada por células dependente de

anticorpos, ou ambos, causando a destruição das células foliculares (Feldman & Nelson, 2004).

Finalmente, as alterações das *gap junctions* conduzem a alterações de comunicação entre células, o que contribui para a destruição tiroideia. Esta alteração da integridade da tiroide vai ainda permitir ao anticorpos TPO ligarem-se à TPO, ativando a via clássica do complemento dependente de anticorpos (Chiovato *et al*, 1993). Verificou-se ainda, um mecanismo alternativo de ativação do complemento, através da ação direta da TPO, sem mediação de anticorpos (Blanchin, Estienne, Durand-Gorde, Carayon & Ruf, 2003).

Figura 1: Esquema ilustrativo da etiopatogenia da tiroidite linfocítica em cães (Imagem original).



Legenda da figura 1: ? - Não estão descritos em cães; ↑ - Aumento

3.1.2. Tiroidite linfocítica e síndrome autoimune poliglandular

A patogénese da tiroidite linfocítica envolve um mecanismo autoimune, assim, esta doença pode ocorrer em simultâneo com outras doenças endócrinas imunomediadas (Feldman & Nelson, 2004). A síndrome autoimune poliglandular (APS, *Autoimmune Polyendocrine Syndromes*) surge em resultado de uma insuficiência múltipla endócrina (Kooistra, Rijnberk & van den Ingh, 1995). Baseado em critérios clínicos, Neufeld, Maclaren e Blizzard (1980) sugeriram uma classificação da APS em 4 tipos, tais como os referidos na Tabela 1.

Tabela 1: Tipos de APS no Homem classificados por Neufeld *et al*, em 1980 (Adaptada de Betterle & Zanchetta (2003)).

Tipo 1	Addison, Hipoparatiroidismo crónico, Candidíase crónica (pelo menos dois presentes)
Tipo 2	Addison (sempre presente) + Doença autoimune da tiroide e/ou Diabetes Mellitus tipo 1
Tipo 3	Doença autoimune da tiroide associada a outras doenças autoimunes (excluindo Addison e/ou hipoparatiroidismo)
Misto	Combinações não incluídas nos grupos anteriores

Blois, Dickie, Kruth e Allen (2011) realizaram um estudo retrospectivo, onde foram identificados em 35 animais com poliendocrinopatias, várias combinações de APS idênticas às do Homem. Entre elas destacou-se a combinação de hipoadrenocorticismo e de hipotiroidismo em 20% dos animais e a ocorrência conjunta de diabetes *mellitus* e de hipotiroidismo em 11,4% de todos os animais com poliendocrinopatias (Blois *et al*, 2011). O conjunto do hipotiroidismo primário e de hipoadrenocorticismo primário no cão é idêntico à síndrome autoimune poliglandular tipo II ou síndrome de Schmidt's no Homem (Kooistra *et al*, 1995; Pikula, Pikulova, Bandouchova, Hajkova & Faldyna, 2007).

Blois *et al* (2011) verificaram que, no período de 1996 a 2009, apenas 0,3% da totalidade dos pacientes seguidos no hospital apresentava doença endócrina múltipla. Tal reforça a raridade da ocorrência de poliendocrinopatia em cães, sendo que apenas 2,3% de todos os cães com endocrinopatias apresentava mais do que uma doença endócrina (Blois *et al*, 2011).

3.2. Atrofia idiopática da tiroide

A atrofia folicular idiopática representa aproximadamente 50% da patologia da tiroide encontrado na origem do hipotireoidismo clínico em cães (Graham *et al*, 2007).

A causa deste processo é ainda desconhecida, embora se tenha vindo a formular hipóteses para a ocorrência desta alteração específica. Gosselin, Capen e Martin (1981) sugeriram que a atrofia idiopática possa tratar-se de uma doença primária degenerativa, a qual envolve células foliculares individuais distinguindo-se da atrofia folicular secundária à diminuição da produção de TSH. As lesões iniciais da atrofia da tiroide caracterizam-se histologicamente por uma degenerescência das células foliculares, com consequente exfoliação das células para dentro do coloide ou dos espaços interfoliculares. Ocorre, então, diminuição do tamanho dos folículos e substituição dos folículos degenerados por tecido conjuntivo adiposo. Em contraste com o que se sucede na tiroidite linfocítica, não há destruição da glândula por infiltração inflamatória (Gosselin *et al*, 1981).

Alternativamente, Conaway e colaboradores (1985) propuseram que a atrofia idiopática da tiroide se pudesse tratar de uma fase final da tiroidite linfocítica. Estes autores avaliaram a progressão das alterações morfológicas da tiroidite linfocítica numa colónia de cães Borzoi e verificaram que numa fase final da destruição da glândula tiroide há uma manifestação histológica semelhante à atrofia idiopática da tiroide (Conaway *et al*, 1985). Teoricamente, a completa destruição da tiroide leva à redução da estimulação e resposta imunitária e, eventualmente, ao desaparecimento da tiroidite e consequentemente à ausência de antigénios (Mooney & Shiel, 2012). Adicionalmente, Graham e colaboradores (2001b) verificaram que a idade média dos cães com suspeita de hipotireoidismo por atrofia idiopática é mais avançada que nos cães com diagnóstico de hipotireoidismo por tiroidite linfocítica. Este facto vem reforçar a hipótese da presença de atrofia idiopática como uma fase final da tiroidite linfocítica (Graham *et al*, 2001b). No entanto, Conaway *et al* (1985) identificaram ainda a presença histológica de linfócitos residuais. Tal, vem contrastar com a incapacidade em se demonstrar histologicamente a infiltração de células inflamatórias, mesmo na presença de folículos, em cães com atrofia idiopática. Sugere-se, assim, que esta doença possa ter mais do que uma etiologia em cães (Feldman & Nelson, 2004).

3.3. Outras causas de hipotireoidismo primário

A neoplasia da tireoide ou infiltração da tireoide por metástases neoplásicas é uma causa de hipotireoidismo primário que ocorre muito raramente (Marks, Koblik, Hornof & Feldman, 1994). A tireoidite linfocítica identificada numa colônia de Beagles foi caracterizada como sendo um fator de risco no aparecimento de neoplasia epitelial folicular da tireoide, particularmente de adenocarcinomas foliculares (Benjamin *et al*, 1996). O tipo de tumores mais comuns são o carcinoma da tireoide e o carcinoma das células escamosas, estes causam uma destruição massiva da glândula da tireoide (Feldman & Nelson, 2004). A maioria dos tumores são não funcionais, ou seja, não estimulam uma produção excessiva de hormonas tireoideas. Feldman e Nelson (2004) afirmam que dos pacientes com tumores de tireoide examinados, 55% a 60% dos cães com neoplasia da tireoide têm concentração normal de hormonas tireoideas, 30 a 35% têm uma concentração de hormonas tireoideas diminuída e aproximadamente 10% têm sinais clínicos compatíveis com hipertireoidismo.

4. Epidemiologia do Hipotireoidismo

O hipotireoidismo é, sem dúvida, uma das doenças endócrinas mais comum em cães adultos. A prevalência de hipotireoidismo canino varia de acordo com diferentes estudos, devido à inconsistência no critério de diagnóstico dos mesmos (Mooney & Shiel, 2012). Está estimado uma prevalência em cães de 0,2% a 0,8% (Panciera, 1994; Dixon, Reid & Mooney, 1999).

Qualquer raça pode desenvolver hipotireoidismo. Porém, as raças puras são geralmente mais afetadas. A determinação de autoanticorpos tireoglobulina e hormonas tireóideas em determinadas raças com tendência a desenvolver tireoidite linfocítica vem reforçar a influência genética desta doença em raças específicas (Graham *et al*, 2001b). O hipotireoidismo sem etiologia específica tem-se verificado ter maior ocorrência em Dobermanns, Dogue Alemão, Caniches, Golden Retrievers, Boxers, Schnauzers, Hovawarts, Spaniels (particularmente Cockers), Setters e Terriers (Feldman & Nelson, 2004; Mooney & Shiel, 2012). Muitas destas raças têm especial tendência para tireoidite linfocítica (Mooney & Shiel, 2012).

A doença é mais comum em cães de idade média, sendo raramente encontrado em animais com menos de dois anos. A idade média de diagnóstico é 7 anos, variando entre 6 meses e 15 anos (Scott-Moncrieff, 2010). O desenvolvimento dos primeiros sintomas pode ocorrer em diferentes idades, consoante as raças, provavelmente devido à etiologia subjacente e ao ritmo de progressão da doença. As raças em risco de desenvolver tireoidite linfocítica tendem a desenvolver a doença mais cedo, variando também individualmente dentro de cada raça (Feldman & Nelson, 2004; Mooney & Shiel, 2012).

Panciera (1994) sugeriu que existe uma relação causa-efeito entre a esterilização dos animais do sexo feminino e masculino e um maior risco de desenvolver hipotireoidismo, mais especificamente predisposição para tireoidite linfocítica. No entanto, Dixon *et al* (1999) não encontraram uma associação entre a presença de hipotireoidismo e o sexo ou esterilização dos animais da amostra. Adicionalmente, também não se verificou uma associação dos animais esterilizados com a presença de tireoidite linfocítica (Dixon *et al*, 1999).

5. Sinais clínicos de Hipotiroidismo

As hormonas tiroideias têm uma grande variedade de efeitos fisiológicos (Scott-Moncrieff, 2010). As hormonas tiroideias atuam principalmente como fatores de transcrição que modificam a expressão dos genes. A um nível celular, influenciam ainda múltiplos processos metabólicos, desde a regulação da necessidade de oxigénio das mitocôndrias até à síntese proteica (Mooney & Shiel, 2012). Como tal, os sinais clínicos do hipotiroidismo resultam dos efeitos da deficiência em hormonas tiroideias tanto no metabolismo geral, assim como nos órgãos específicos (Panciera, 2001). Esta doença dá então origem a uma variedade de sinais clínicos inespecíficos e é considerada no diagnóstico diferencial de várias listas de problemas (Scott-Moncrieff, 2010).

O início da doença é insidiosamente progressivo e variável, dependendo em parte da idade inicial do animal em que se desenvolveu a deficiência em hormonas tiroideias. A destruição da glândula tiroide tende a ser um processo progressivo e pode decorrer mais de um a dois anos desde o momento em que se identifica a tiroidite linfocítica, até à alteração da tiroide (Graham *et al*, 2001b). Assim, o começo dos sinais clínicos pode ser gradual e subtil, dificultando o reconhecimento dos sinais pelo proprietário e o estabelecimento do diagnóstico pelo clínico (Feldman & Nelson, 2004)

A maioria dos sinais clínicos, em aproximadamente 70% dos casos, está associada a uma diminuição da taxa metabólica, juntamente com uma variedade de alterações dermatológicas (Panciera, 1994; Dixon *et al*, 1999). Embora alguns cães possam apresentar apenas um sinal clínico, outros podem ter, concomitantemente, sinais neuromusculares, cardiovasculares, reprodutivos, oftálmicos e digestivos (Mooney & Shiel, 2012).

Os sinais clínicos podem também variar de acordo com as raças envolvidas (Feldman & Nelson, 2004). Por exemplo, o ciclo do pelo e a morfologia folicular podem ser marcadamente diferentes, em diferentes raças, influenciando os sinais clínicos e histológicos da doença (Credille *et al*, 2000). Da mesma forma, os sinais dermatológicos podem predominar em determinadas raças, ao contrário dos sinais neurológicos que podem prevalecer noutras raças (Feldman & Nelson, 2004). É ainda difícil estabelecer uma relação entre a presença de certas alterações com a deficiência de hormonas tiroideias, na medida em que o hipotiroidismo tem uma elevada prevalência em raças com predisposição para outras doenças. Assim, a relação entre o hipotiroidismo e certas afeções como o megaesófago, a paralisia da laringe, alterações reprodutivas entre outros, continua por esclarecer (Panciera, 2001).

5.1. Alterações metabólicas

Em consequência da diminuição da taxa metabólica e do consumo de oxigénio com resultante diminuição da produção de calor, cerca de 85% dos cães hipotiroideus apresentam pelo menos um sinal metabólico (Scott-Moncrieff, 2010; Mooney & Shiel, 2012).

As alterações metabólicas caracterizam-se por letargia (80%), ganho de peso (40%), intolerância ao exercício (25%) e intolerância ao frio (10%) (Mooney & Shiel, 2012). Embora o apetite dos animais se mantenha normal ou ligeiramente diminuído, o excesso de peso é exacerbado pela intolerância ao exercício, podendo atingir mais de 75% do peso médio para a raça (Mooney & Shiel, 2012).

Estes sinais clínicos estão muitas vezes ocultos e podem passar despercebidos aos donos, devido ao seu desenvolvimento gradual. No entanto, com a instituição da suplementação hormonal, ocorre um aumento rápido da taxa metabólica e conseqüente aumento da atividade, independentemente dos sinais clínicos terem sido identificados previamente na história clínica e exame físico (Panciera, 2001; Feldman & Nelson, 2004)

5.2. Alterações dermatológicas

As hormonas tiroideias representam um papel fundamental na manutenção da vitalidade da derme. As alterações dermatológicas ocorrem em 80% dos cães com hipotiroidismo, podendo ser extensivas, tornando-se por isso mais preocupantes no ponto de vista dos donos que as alterações metabólicas, visto estas serem mais subtis. Os sinais são variados e dependem da raça do cão e refletem a gravidade e duração da doença (Mooney & Shiel, 2012).

As alterações dermatológicas incluem pele escamosa seca, mudanças na qualidade e coloração do pelo, alopecia, seborreia seca ou oleosa e piodermite superficial (Mooney & Shiel, 2012). Pode também surgir hiperpigmentação nas zonas de alopecia e nas regiões axilar e inguinal, a formação de comedões, a hipertricose, a má cicatrização de feridas, o aumento de hematomas e ainda o mixedema (Scott-Moncrieff, 2010). Pode ainda desenvolver-se uma excessiva liquenificação nos locais de proeminência óssea ou nas áreas de alopecia (Frank, 2006).

É comum o aparecimento de alterações de queratinização em cães hipotiroideus, podendo esta ser a primeira alteração cutânea, em muitos casos (Panciera, 2001). A diminuição de ácidos gordos e a diminuição de prostaglandina E₂, bem como a atrofia das glândulas sebáceas, são responsáveis pelo aparecimento da hiperqueratose, de escamas e de seborreia seca com o desenvolvimento de uma pelagem seca e sem brilho (Campbell & Davis, 1990).

As hormonas tiroideias são necessárias para a iniciação da fase de anagénesse do crescimento do pelo. Na ausência destas hormonas ocorre uma persistência da fase telogénica durante longos períodos, tornando os pelos mais frágeis e baços (Panciera, 2001). Estes são facilmente removidos, com alopecia resultante e uma falha de crescimento, após a queda ou tosquia (Mooney & Shiel, 2012). A perda de pelo inicia-se nas áreas de desgaste, como no pescoço, no local da coleira, e na cauda, dando origem ao típico sinal de hipotiroidismo, “cauda de rato”, e nos pontos de pressão como cotovelos e anca (Frank,

2006). Os animais afetados apresentam frequentemente alopecia endócrina não prurítica bilateral simétrica, com perda de pelo no flanco e tronco, normalmente poupando a cabeça e extremidades (Figura 2). No entanto, pode ocorrer alopecia assimétrica focal ou multifocal e, em raças grandes, pode ocorrer alopecia das extremidades em consequência da fricção, enquanto o tronco não é afetado (Scott-Moncrieff, 2010; Mooney & Shiel, 2012).

Figura 2: Cão hipotiroideu com alopecia no flanco, no tronco e na cauda (Imagem original)



Os sinais dermatológicos diferem entre raças de cães devido a diferentes ciclos de pelo e morfologia folicular (Feldman & Nelson, 2004). Um estudo realizado por Credille e outros investigadores (2001) em animais da raça Beagle com hipotiroidismo verificou que os pelos nos folículos telogénicos ficavam retidos durante longos períodos de tempo, meses a anos, sem cair. Esta retenção de pelos, em telogénese, pode explicar porque não ocorre alopecia do tronco em algumas raças de cães. No entanto, quando há queda de pelos, em telogénese, em regiões com pontos de pressão ou expostas a fricção, estes pelos não são substituídos, ocorrendo alopecia nessas áreas (Feldman & Nelson, 2004). Algumas raças, particularmente, o Setter Irlandês, devido à falta de crescimento de novo pelo, retêm o pelo e desenvolvem uma pelagem densa consistente com hipertricose (Panciera, 2001). Em certas raças de cães há uma perda predominante do sub-pelo, e os pelos primários restantes dão um aspeto áspero à pelagem. Outras raças, como as raças árticas, perdem predominantemente a pelagem primária, dando um aspeto de lã à pelagem semelhante à pelagem dos cachorros (Scott-Moncrieff, 2010). Geralmente, os cães com hipotiroidismo, não apresentam alopecia na cabeça e nas extremidades distais, embora se possa verificar alopecia na região dorsal nasal tal como nas raças Retriever e Beagle, no pavilhão auricular em Teckels, ou na região lateral das extremidades distais em cães da raça Terra Nova (Feldman & Nelson, 2004; Mooney & Shiel, 2012).

A acumulação de mucopolissacáridos e ácido hialurónico na pele ocorre devido a um desequilíbrio entre a sua produção e catabolização controlada pela hormona tiroide,

conduzindo à chamada de água na derme. Tal, resulta no espessamento, sem sinal de *godet* (sem depressão) da pele, designado por mixedema. Este espessamento é mais pronunciado na face, podendo dar origem à expressão *facis tragis*, com espessamento dos lábios, da pele na fronte e abatimento das pálpebras (Doliger *et al*, 1995; Feldman & Nelson, 2004; Mooney & Shiel, 2012).

Os cães com hipotireoidismo têm predisposição para infecções bacterianas recorrentes como foliculite, piodermite superficial, impetigo e furunculose (Scott-Moncrieff, 2010). Nestes animais as defesas cutâneas locais estão alteradas devido aos efeitos do hipotireoidismo na queratinização e na produção de sebum. Esta situação, aliada a uma possível alteração da imunidade local, pode diminuir a resistência à infecção em cães com hipotireoidismo (Panciera, 2001). As infecções secundárias recorrentes, superficiais persistentes, profundas bacterianas e por *Malassezia* são descritas em 10-20% dos cães com hipotireoidismo (Mooney & Shiel, 2012). A maioria das infecções bacterianas é causada por *Staphylococcus pseudintermedius* (Feldman & Nelson, 2004). O prurido pode ocorrer devido a autoexcoriação e traumatismo, podendo complicar a aparência clínica e histopatológica (Mooney & Shiel, 2012). O hipotireoidismo pode também predispor o desenvolvimento de demodecose e otite externa crônica ceruminosa (Panciera, 2001).

5.3. Alterações neuromusculares

O hipotireoidismo em cães tem sido associado a uma série de manifestações neurológicas como neuropatias periféricas, miopatias e doenças do sistema nervoso central (SNC), embora apenas algumas se confirmem. A fisiopatologia da maioria das anomalias neuromusculares centrais ou generalizadas é complexa e provavelmente multifatorial (Mooney & Shiel, 2012). A patogenia das neuropatias periféricas está, entre outras causas, relacionada com alterações metabólicas no transporte axonal e com a desmielinização provocada por alterações metabólicas nas células de Schwann (Meier & Bischoff, 1977; Beghi *et al*, 1989; Panciera, 1994; Scott-Moncrieff, 2007). As neuropatias periféricas podem também dever-se a lesões imunomediadas dos nervos, em animais com evidências de tireoidite linfocítica (Rossmeisl, 2010). No homem, as mononeuropatias estão em parte relacionadas com a compressão dos nervos afetados por depósitos mucinosos, no entanto ainda não se descreveu esta situação no cão (Scott-Moncrieff, 2007). A diminuição da capacidade $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ no músculo-esquelético justifica ainda os problemas locomotores generalizados (Schaafsma *et al*, 2002). Os sinais do SNC, por sua vez, são atribuídos à aterosclerose vascular ou hiperlipidemia grave (Higgins, Rossmeisl & Paciera 2006, Vitale & Olby, 2007), embora também se possam dever ao comprometimento da barreira hematoencefálica devido a alterações na integridade das células endoteliais e gliais da barreira (Pancotto, Rossmeisl Jr, Panciera & Zimmerman, 2010).

As neuropatias periféricas manifestam-se clinicamente por fraqueza generalizada, hiporeflexia, ataxia, deficiências proprioceptivas, quadriparesia e paralisia. Aliados a estas alterações podem, também, surgir nos animais afetados depressão, anorexia e dificuldades respiratórias (Panciera, 2001; Scott-Moncrieff, 2007). Destas manifestações, a tetraparesia difusa do motoneurônio inferior é provavelmente a alteração neurológica mais descrita no hipotiroidismo (Mooney & Shiel, 2012). Os sinais clínicos progridem lentamente, entre duas a oito semanas, desde a observação inicial de alterações ligeiras da marcha a paresia ou tetraparesia dos animais afetados (Scott-Moncrieff, 2007). A polineuropatia é reversível, com uma resposta rápida ao tratamento e uma resolução completa após 1 a 2 meses (Panciera, 2001)

As neuropatias localizadas podem dar origem a doença vestibular periférica ou paralisia do nervo facial. Os sinais clínicos associados à doença vestibular periférica incluem o *head tilt*, o nistagmos, o estrabismo, a ataxia e o *circling* (Panciera, 2001). No entanto, Mooney e Shiel (2012) questionam a associação realizada entre a doença vestibular periférica e o hipotiroidismo, afirmando que esta hipótese se baseia apenas na resposta à suplementação com hormonas tiroideias. É igualmente controversa a relação entre outras afeções neurológicas, como o megaesófago, a paralisia da laringe e a *miastenia gravis*, e o hipotiroidismo (Feldman & Nelson, 2004; Mooney & Shiel, 2012). Assim, continua por provar uma relação causal entre o hipotiroidismo primário e o aparecimento de megaesófago ou de paralisia da laringe, uma vez que a resolução destas manifestações, após a suplementação hormonal, ainda não está bem documentada (Panciera, 2001; Scott-Moncrieff, 2007; Mooney & Shiel, 2012).

A miopatia associada ao hipotiroidismo é normalmente subclínica, mas pode contribuir para o aparecimento de sinais menos específicos como a letargia e a intolerância ao exercício verificados nos cães hipotiroideos (Mooney & Shiel, 2012). Esta alteração é caracterizada por alterações metabólicas da energia muscular e pela depleção de carnitina do aparelho músculo-esquelético (Rossmeisl, Duncan, Inzana, Panciera & Shelton, 2009).

Por vezes, ocorrem ainda alterações do SNC em consequência do coma mixedematoso ou aterosclerose em cães com hipotiroidismo (Scott-Moncrieff, 2007). Os sinais clínicos incluem ataxia, hemiparesia, hipermetria, *head tilt*, nistagmos, *circling* e alterações nervosas craniais (Panciera, 2001). O coma mixedematoso é a apresentação mais grave e mais aguda do hipotiroidismo, embora seja uma complicação muito rara. Os cães em depressão mental apresentam-se em estado de estupor ou comatoso, com hipotermia, bradicardia, hipotensão e hipoventilação. Nestes casos, é provável que o hipotiroidismo já se encontre numa fase tardia e, por isso, já existam outros sinais clínicos de hipotiroidismo (Mooney & Shiel, 2012). As análises laboratoriais podem apresentar hipoxemia, hipercarpmia, hiponatremia e hipoglicemia, para além das alterações clinicopatológicas mais comuns (Scott-Moncrieff, 2007; Feldman & Nelson, 2004). A doença central vestibular, embora rara, está bem descrita

(Mooney & Shiel, 2012). Relativamente à presença de convulsões não há evidência entre o hipotiroidismo e alterações que possam provocar convulsões (Scott-Moncrieff, 2007). Um estudo demonstrou que a epilepsia idiopática pode provocar alterações no perfil da tiroide compatíveis com a síndrome do eutiroideu doente e, desta forma, o diagnóstico de hipotiroidismo pode ser realizado erradamente em animais com epilepsia (Klopmann, Boettcher, Rotermund, Rohn & Tipold, 2006).

5.4. Alterações reprodutivas

Podem ocorrer alterações reprodutivas nas fêmeas com hipotiroidismo, tais como o intervalo interestro prolongado, o estro silencioso, o anestro persistente, a infertilidade, o aborto espontâneo, o reduzido número de crias e/ou de crias pequenas e fracas, a inércia uterina e a presença de nados mortos (Scott-Moncrieff, 2010; Mooney & Shiel, 2012). Porém, estas manifestações clínicas são pouco comuns e não estão bem documentadas (Feldman & Nelson, 2004; Scott-Moncrieff, 2007). Investigou-se recentemente, a presença de alterações reprodutivas em cadelas com hipotiroidismo induzido num período de tempo mais prolongado (56 semanas \pm 7,6). Verificou-se, apenas, um aumento da mortalidade pós-parto e diminuição do tamanho dos cachorros, com reversão destas alterações reprodutivas após a suplementação hormonal (Panciera, Purswell, Kolster, Werre & Trout, 2012). A galactorreia, embora pouco comum, pode estar relacionada com o hipotiroidismo (Mooney & Shiel, 2012). A produção de leite, para lá da resposta esperada na gravidez ou pseudogravidez, é devida a concentrações elevadas de prolactina libertada em resposta à estimulação de TRH. No hipotiroidismo, a falta de retroalimentação negativa das hormonas tiroideias sobre a TRH resulta numa produção aumentada de TRH pelo hipotálamo e consequente estimulação da produção de prolactina pela hipófise (Panciera, 2001). Demonstrou-se que existe desenvolvimento de hiperprolactinemia e consequentemente de galactorreia em cadelas inteiras com hipotiroidismo primário espontâneo (Diaz-Espiñeira, Mol, Rijnberk & Kooistra, 2009).

As alterações reprodutivas associadas a machos com hipotiroidismo são a redução da libido, a atrofia testicular, a hipoespermia e a azoospermia (Scott-Moncrieff, 2010). Contudo, Johnson, Olivier, Naschreiner e Mullaney (1999) não conseguiram provar quaisquer alterações reprodutivas. Uma explicação para esta ocorrência depreende-se pelo método de indução da doença não ser representativo do desenvolvimento mais comum de hipotiroidismo, a tiroidite linfocítica (Johnson, Olivier, Naschreiner & Mullaney, 1999). Um estudo realizado numa colónia de Beagles encontrou uma relação entre a presença de orquite e a ocorrência de tiroidite linfocítica. Estes animais apresentavam-se estéreis ou com diminuição da fertilidade (Fritz, Lombard, Tyler & Norris, 1976).

5.5. Alterações cardiovasculares

As hormonas tiroideias têm um efeito cronotrópico e inotrópico positivo no coração. Para além do mais, estimulam a hipertrofia do miocárdio e indiretamente o sistema cardiovascular, por aumentarem a resposta à estimulação adrenérgica. Assim, a diminuição de hormonas tiroideias podem induzir alterações na função cardíaca que se traduzem por bradicardia, batimento apical fraco e arritmias. No eletrocardiograma (ECG) verifica-se complexos QRS pequenos, ondas T invertidas e bradicardia sinusal (Mooney & Shiel, 2012). Para além das alterações da condução elétrica, a contratilidade e a função diastólica podem também estar alteradas em animais com hipotiroidismo (Panciera, 2001). O hipotiroidismo tem um efeito direto no miocárdio, incluindo a diminuição atividade da adenosina trifosfatase (ATPase) com conseqüente diminuição da força de contractilidade, a diminuição da atividade da cálcio-ATPase do retículo sarcoplasmático, a redução da atividade dos canais de cálcio, a diminuição da atividade da sódio-potássio-ATPase e a diminuição dos recetores β -adrenérgicos do miocárdio (Hawthorn *et al*, 1988).

A doença pericárdica pode estar também associada ao hipotiroidismo. Foi descrito num animal hipotiroideu um derrame pericárdico (MacGregor *et al*, 2004). A aterosclerose como conseqüência provável da hipercolesterolémia é uma complicação rara do hipotiroidismo. Porém pode originar outras manifestações cardiovasculares como perda de função do ventrículo esquerdo e fibrilação atrial (Scott-Moncrieff, 2007).

A cardiomiopatia dilatada (CMD) tem sido associada também ao hipotiroidismo. No entanto, não há evidência clara de uma relação causal, e a sua ligação pode estar relacionada com a predisposição de raças para terem ambas as doenças (Mooney & Shiel, 2012). Cães com CMD e insuficiência cardíaca podem ter de facto concentrações de TSH diminuídas, no entanto, a glândula tiroide na maioria destes cães responde à TSH, sugerindo tratar-se da síndrome do eutiroideu doente (Calvert *et al*, 1998).

Embora estejam documentadas todas estas alterações na função do miocárdio e na atividade elétrica em cães hipotiroideus, o significado clínico destas alterações parece ser mínimo (Panciera, 2001). Está, assim, ainda por determinar se o hipotiroidismo causa doença cardíaca clínica, ou, em alternativa, apenas complica a doença cardíaca pré-existente, potenciando a progressão de uma insuficiência cardíaca compensada para descompensada (Mooney & Shiel, 2012).

5.6. Outros sinais clínicos

Uma pequena percentagem de cães hipotiroideus apresenta lipídose da córnea, sendo esta última uma provável conseqüência da hiperlipidémia registada nos animais afetados (Crispin & Barnett, 1978; Scott-Moncrieff, 2010). Outros sinais oculares foram igualmente associados à presença de hipotiroidismo, como a úlcera da córnea, a uveíte, o derrame lipídico do humor aquoso, o glaucoma secundário, a lipémia retinalis e o descolamento da retina (Kern

& Reis, 1980). Williams, Pierce, Mellor e Heath (2007) verificaram uma diminuição na produção de lágrima em cães hipotiroídeos. Já a associação da queratoconjuntivite seca ao hipotiroidismo é controversa, uma vez que há raças com predisposição para desenvolver as duas doenças em simultâneo. Para além de que se pode tratar de uma doença autoimune generalizada (Mooney & Shiel, 2012). Estes sinais oculares ocorrem muito raramente em cães hipotiroídeos, não estando ainda provada uma relação definitiva entre o hipotiroidismo e a presença destes mesmos sinais (Panciera, 2001).

Embora não seja comum, o hipotiroidismo pode originar sinais do aparelho digestivo como obstipação ou diarreia. No entanto, é mais provável que estes cães apresentem a síndrome do eutiroídeu doente do que hipotiroidismo (Feldman & Nelson, 2004). Pode ainda estar associado ao sobrecrescimento bacteriano do intestino delgado, secundário à redução da motilidade gastrointestinal presente (Mooney & Shiel, 2012).

O hipotiroidismo é, ainda sugerido, como uma causa possível de alterações comportamentais, particularmente agressividade. No entanto, a maioria dos estudos publicados não têm demonstrado dados que o comprovem (Feldman & Nelson, 2004; Carter, Scott-Moncrieff, Luescher & Moore, 2009; Radosta, Shofer & Reisner, 2012).

A diminuição da concentração plasmática do fator antigénio von Willebrand (vWf/Ag) foi também descrita em cães com hipotiroidismo (Scott-Moncrieff, 2007). No entanto, vários estudos não conseguiram demonstrar uma relação entre a atividade do vWf/Ag ou fator VIII e o perfil das hormonas tiroideias (Avgeris, Lothrop & McDonald, 1990; Panciera & Johnson, 1994; Panciera & Johnson, 1996). No entanto, não parece existir um aumento consistente das concentrações de vWf/Ag aquando da suplementação com l-tiroxina de cães hipotiroídeos ou de cães eutiroídeos com a doença de von Willebrand (Panciera & Johnson, 1996; Heseltine *et al*, 2005). Assim, a associação entre estas duas doenças parece resultar da mesma predisposição rásica, por exemplo do Dobermann Pinscher, para o desenvolvimento de ambas as doenças (Scott-Moncrieff, 2007).

6. Diagnóstico de hipotiroidismo

O hipotiroidismo era considerado, na última década, a doença endócrina mais comum no cão. Atualmente, existem outras doenças endócrinas, como é o caso do hiperadrenocorticismo, que são mais frequentemente observadas. Esta diferença na prevalência de hipotiroidismo deve-se a deficiências no diagnóstico desta doença. Até à data, o diagnóstico de hipotiroidismo não é direto, na medida em que há muitos fatores que influenciam e dificultam o diagnóstico (Daminet, 2010). No diagnóstico de hipotiroidismo há que ter em conta uma série de fatores antes de se iniciarem os testes, tais como (Dixon, 2004):

- O diagnóstico de hipotiroidismo é um diagnóstico clínico e não se deve basear apenas em resultados laboratoriais. De facto, é dificultado pela presença de sinais clínicos pouco específicos.
- Nenhum dos testes endócrinos existentes é 100% eficaz e alguns são substancialmente inferiores a esta percentagem. Variam entre muito sensíveis e pouco específicos e muito específicos e pouco sensíveis.
- A utilização de fármacos comuns e a presença de doenças não tiroideias influenciam a função tiroideia e o resultado da grande maioria dos testes de tiroide.

6.1. Alterações clinicopatológicas

Independentemente do(s) sistema(s) de órgão(s) envolvido(s) na manifestação clínica, o hipotiroidismo deve ser considerado uma doença multisistémica e, todos os casos, implicam uma abordagem médica geral. A realização de um hemograma, de análises bioquímicas e de uma urianálise devem fazer parte desta abordagem, embora não isoladamente (Ferguson, 2007). Com efeito, muitas das alterações presentes no hipotiroidismo são inespecíficas e podem estar associadas a muitas outras doenças no cão. Porém, estas análises de rotina servem igualmente para descartar a hipótese de doença não tiroideia. A exclusão de outras doenças, sem origem na tiroide, aliada à presença de alterações laboratoriais associadas ao hipotiroidismo podem, juntamente com a presença de sinais clínicos, suportar a evidência de hipotiroidismo (Feldman & Nelson, 2004; Mooney & Shiel, 2012).

6.1.1. Hemograma

No hemograma pode-se verificar uma anemia normocítica e normocrómica, não regenerativa, em cerca de 40-50% dos cães com hipotiroidismo. O hematócrito e a hemoglobina apresentam-se diminuídos, atingindo o hematócrito valores de 28% a 36%. O número de eritrócitos é moderado ($5.0-5.5 \times 10^{12}/l$) ou situa-se no limite mínimo do valor de referência (Sullivan *et al*, 1993; Feldman & Nelson, 2004; Mooney & Shiel, 2012). Estudos

em ratinhos, no Homem e em cães indicam uma diminuição da concentração da eritropoietina plasmática e conseqüentemente uma falta de estimulação da medula óssea, não afetando o tempo de vida dos eritrócitos. A diminuição da resposta dos percussores de eritrócitos à eritropoietina, assim como o efeito direto das hormonas tiroideias, na fase inicial das células estaminais hematopoiéticas pluripotentes, podem também contribuir para a anemia presente no hipotiroidismo (Green & Ng, 1988; Sainteny, Larras-Regard & Frindel, 1990). A avaliação morfológica dos eritrócitos pode verificar um aumento de concentração de leptócitos. Estas células devem-se à passagem de colesterol pela membrana dos eritrócitos, quando existe hipercolesterolemia (Feldman & Nelson, 2004).

A contagem de leucócitos é variável e a presença de leucocitose pode estar associada a infeção, como a piodermite (Feldman & Nelson, 2004). A contagem de plaquetas pode ser normal a aumentada, e o tamanho das plaquetas normal a diminuído (Sullivan *et al*, 1993).

6.1.2. Perfil Bioquímico

O hipotiroidismo está associado a uma redução da taxa do catabolismo e da síntese lipídica. O catabolismo de lípidos está mais intensamente afetado e dá origem a uma acumulação de lípidos no plasma e no desenvolvimento potencial de aterosclerose (Hess, Kass & Van Winkle, 2003). As alterações principais são o aumento de lipoproteínas de alta densidade (HDL, *High-density lipoprotein*), o aumento de lipoproteínas de baixa densidade (LDL, *Low Density Lipoproteins*) e o aumento de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL, *Very-low-density lipoprotein*). A hipercolesterolemia ocorre em mais de 80% dos cães afetados, e a mesma percentagem de animais hipotiroideos, apresenta hipertrigliceridemia. A hiperlipidemia ligeira está também presente noutras doenças endócrinas, tais como a diabetes mellitus e o hiperadrenocorticism (Hess *et al*, 2003). No entanto, o aumento da concentração de colesterol é tipicamente mais exagerado no hipotiroidismo. Assim, a hipercolesterolemia ligeira e a hipertrigliceridemia não são patognomónicas do hipotiroidismo, mas valores exageradamente aumentados de colesterol e a verificação de sinais clínicos apropriados podem suportar a evidência de hipotiroidismo (Mooney & Shiel, 2012).

Ocasionalmente, em cerca de 30% dos cães com hipotiroidismo, pode ocorrer aumento moderado da atividade das enzimas hepáticas, como a fosfatase alcalina (FAS), gamaglutamiltransferase (GGT), aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT). Este desenvolvimento pode ser consequência da deposição lipídica hepática média e da miopatia hepática. Estas alterações hepáticas têm utilidade limitada no diagnóstico, na medida em que podem ser encontradas em variadas doenças não tiroideias (Feldman & Nelson, 2004; Mooney & Shiel, 2012).

Um aumento moderado da atividade da creatinina quinase (CK) pode ocorrer em cerca de 35% dos cães com hipotiroidismo, esta alteração parece ser atribuída à diminuição do

clearance de CK. O aumento de CK pode também estar relacionado com a presença de miopatia subclínica em hipotiroidismo, a qual ocorre em simultâneo com aumento da atividade de AST e lactato desidrogenase (LDH). No entanto, esta prevalência é semelhante em cães eutiroideus com sinais semelhantes sendo assim pouco específico para o diagnóstico de hipotiroidismo (Mooney & Shiel, 2012).

Em pacientes hipotiroideus humanos, as concentrações de frutosamina aumentam em consequência da diminuição da renovação proteica (Dixon *et al*, 1999). Devido ao seu uso na monitorização de cães diabéticos, há um grande interesse do efeito de outras doenças na concentração de frutosamina. Excluindo a presença de diabetes *mellitus*, o doseamento de frutosamina em cães hipotiroideus apresenta valores acima do intervalo de referência. Estes valores não são tão elevados comparativamente com as medições de frutosamina na diabetes mellitus. Assim, embora o diagnóstico de hipotiroidismo não se possa basear apenas na medição de frutosamina, esta pode ser tão valiosa ou mais que outros parâmetros clinicopatológicos de rotina no suporte do diagnóstico da doença. Consequentemente, em cães com diabetes mellitus e simultaneamente hipotiroidismo, a frutosamina deve ser interpretada cuidadosamente como indicador de controlo glicémico (Reusch, Gerber & Boretti, 2002).

6.1.1. Urianálise

A avaliação da urina é usualmente normal em cães com hipotiroidismo. No entanto, casos raros de cães com tiroidite linfocítica apresentam glomerulonefrite por depósitos de imunocomplexos que pode resultar em proteinúria. Porém, a poliúria, a hipostenúria e as infeções do trato urinário não são típicas do hipotiroidismo (Feldman & Nelson, 2004).

6.2. Testes endócrinos

A função da tiroide é avaliada através de medições das concentrações das hormonas tiroideias do soro ou por avaliação da resposta da tiroide a estimulação. Os testes disponíveis para avaliação da função tiroideia incluem a medição da tiroxina total (tT_4), da tiroxina livre (IT_4), da triiodotironina (tT_3), da triiodotironina livre (IT_3), da triiodotironina reversa (rT_3) e da concentração endógena de TSH (Feldman & Nelson, 2004). Embora a concentração de tT_3 ou de IT_3 seja maioritariamente dependente da absorção de T_4 nos tecidos e da desionização de T_4 , a sua medição é menos significativa do que a determinação da concentração de tT_4 ou T_4 (Ferguson, 2007). No passado, foram usados uma variedade de testes dinâmicos de função tiroideia. No entanto, o desenvolvimento de testes como a cTSH (TSH canina), IT_4 e TgAA reduziu a necessidade do uso destes testes na rotina geral da prática veterinária. Estes estão normalmente reservados em situações cujo diagnóstico não pode ser obtido de outra forma.

As hormonas tiroideias são estáveis em soro a 37°C durante 5 dias, armazenadas em recipientes de plástico em vez de vidro. Estas hormonas são igualmente estáveis congeladas mesmo são sujeitas a repetidas situações de congelamento e descongelamento (Behrend, Kemppainen, Young, 1998).

6.2.1. Concentração de T₄ total

A medição da concentração basal de tT₄ tem sido um pilar no diagnóstico de hipotiroidismo canino, continuando a representar um excelente teste de primeira linha para esta doença. Este teste mede tanto as hormonas T₄ ligadas a proteínas como as hormonas livres que circulam no sangue (Feldman & Nelson, 2004). A medição de tT₄ apresenta uma sensibilidade superior a 95%, o que representa a percentagem de animais afetados com valores inferiores ao normal (Mooney & Shiel, 2012). Vários estudos indicam que menos de 5% dos cães hipotiroideus (Peterson, Melián & Nichols, 1997; Scott-Moncrieff, Bruner, & Williams, 1998; Dixon & Money, 1999b) ou cerca de 10% apresentam valores de tT₄ dentro ou acima do intervalo de referência (Ferguson, 2007). A especificidade deste teste, caracterizada pela capacidade de excluir animais não afetados, é de aproximadamente 75%. Esta é particularmente inferior à sensibilidade devido à diminuição da concentração de tT₄ face à supressão causada pelos efeitos de doenças não tiroideias (NTI), assim com administração de fármacos e ainda por outros fatores fisiológicos (Mooney & Shiel, 2012).

As NTI e vários tipos de fármacos têm a capacidade de originar uma diminuição da tT₄ em animais eutiroideus. Para além da influência das NTI e dos fármacos, há mecanismos fisiológicos que também podem causar concentrações de tT₄ diminuídas, nomeadamente:

- A variação durante o dia - os cães saudáveis exibem flutuações dos valores de tT₄ com o aparecimento diário de concentrações abaixo dos valores de referência (Miller, Nelson, Scott-Moncrieff, Neal & Bottom, 1992). Hoh e Oh (2006) encontraram flutuações diárias destas hormonas em cães saudáveis, ocorrendo períodos do dia em que as concentrações basais são inferiores e outros que são superiores.

- A estatura do animal - as raças grandes e médias têm geralmente valores fisiológicos menores de tT₄ comparativamente com raças pequenas (Reimers, Lawler, Sutaria, Corea & Erb, 1990). No entanto, cães obesos têm valores de tT₄ significativamente maiores que cães não obesos da mesma raça (Mooney & Shiel, 2012).

- As raças de cães - ocorrem diferenças na concentração de tT₄ entre as diferentes raças, como por exemplo, em cães da família dos galgos e em cães de trenó (Lee, Hinchcliff, Piercy, Schmidt, & Nelson, 2004; Shiel, Sist, Nachreiner, Ehrlich & Mooney, 2010)

- A idade - a concentração de tT₄ diminui progressivamente desde o valor normal em cães de média idade, a valores baixos normais em pacientes mais velhos. Esta

característica fisiológica é comum e importante devido à percentagem de cães velhos avaliados para o hipotiroidismo (Mooney & Shiel, 2012).

Para além das concentrações diminuídas de tT_4 , em animais eutiroideos, podem também surgir valores dentro do intervalo de referência ou valores de tT_4 aumentados em cães hipotiroideos. Este facto é associado à presença de autoanticorpos em circulação em cães que pode interferir com as medições de tT_4 da maioria dos métodos comerciais (Mooney & Shiel, 2012). Uma percentagem de cães com tiroidite linfocítica desenvolve estes autoanticorpos contra epítomos correspondentes a locais homogénicos da molécula de tiroglobulina. Assim os anticorpos são dirigidos contra os fragmentos de tiroglobulina que contêm a T_4 e a T_3 , e designam-se respetivamente anticorpos anti- T_4 (T_4AA) e anti- T_3 (T_3AA). Estes anticorpos fazem uma reação cruzada contra as hormonas que não estão ligadas à tiroglobulina, uma vez que nem a T_4 nem T_3 são moléculas suficientemente grandes para iniciarem a produção de anticorpos (Graham *et al*, 2007). Nachreiner, Refsal, Graham e Bowman (2002) encontraram uma percentagem de 5,67% de T_3AA e de 1,66% de T_4AA numa amostra 287948 cães com sinais consistente com hipotiroidismo. Mais recentemente, Graham e colaboradores (2007) verificaram uma prevalência de 8% de T_4AA e de 18% de T_3AA em 11606 cães hipotiroideos.

Devido à pequena percentagem de IT_4 e IT_3 , os T_4AA e T_3AA não têm nenhum efeito clínico. No entanto, são importantes devido à sua capacidade de interferir com a medição da concentração de hormonas (Graham *et al*, 2007). O impacto destes anticorpos anti hormonas tiroideas (THAA) nos testes de função tiroidea depende do método utilizado. No que diz respeito à maioria dos testes comerciais disponíveis de avaliação de T_4 , a presença de THAA adultera a concentração de T_4 (Nachreiner *et al*, 2002). Assim, os animais hipotiroideos podem surgir com concentrações de tT_4 dentro do intervalo de referência, o que constitui um grande desafio no diagnóstico. Este facto faz com que a sensibilidade da medição tT_4 não seja perfeita relativamente ao diagnóstico de hipotiroidismo.

Uma vez que há uma quantidade de fatores que podem conduzir a valores inferiores de T_4 , este teste não pode, isoladamente, confirmar a presença de hipotiroidismo. Porém, serve para incluir o hipotiroidismo como hipótese. Salvo algumas exceções, a medição de tT_4 é, portanto, mais útil para excluir o diagnóstico de hipotiroidismo em animais com suspeitas desta doença (Kemppainen & Behrend, 2001).

6.2.2. Concentração de T_4 livre

A T_4 livre é a fração de T_4 metabolicamente ativa que está disponível para entrar nos tecidos (Ferguson, 2007). Estas hormonas são menos afetadas por alterações da concentração de proteínas ou por alterações da ligação às mesmas que as hormonas totais. Com efeito, as proteínas de ligação às hormonas atuam como um reservatório que mantém a concentração

de hormonas livre no plasma independentemente de flutuações na libertação e metabolismo da T_4 e T_3 e da concentração de proteínas plasmáticas. Na medida em que as hormonas livres são as únicas que entram nas células e se ligam aos recetores, as medições de IT_4 dão teoricamente uma representação mais precisa da função tiroideia (Scott-Moncrieff, 2010; Mooney & Shiel, 2012).

O método usado para medir as concentrações de IT_4 é importante. Apenas o método que aplica a diálise de equilíbrio (ED) é considerado ser capaz de medir a verdadeira concentração da hormona livre. Esta técnica de medição de IT_4 é um procedimento de 2 passos. O primeiro passo envolve a diálise da amostra testada através de uma membrana impermeável às proteínas de ligação da T_4 e aos T_4AA . Desta forma, apenas as hormonas livres atravessam a membrana para o dialisado, que é posteriormente sujeito a um radioensaio ultrasensível da T_4 . Este teste demora muito tempo a realizar, cerca de 24 a 48 horas, e é muito mais caro que o método de medição da tT_4 (Mooney & Shiel, 2012). A maioria dos métodos alternativos à diálise não testam a verdadeira concentração das hormonas livres, mas estimam indiretamente a concentração das hormonas livres. O método mais comum é o imunoensaio realizado pela técnica de “análogo da T_4 ” que não obtém mais informação que a medição da tT_4 (Fritz, Wilcox & Nelson, 2007). Estes testes estão desenhados para o soro humano e são baseados em técnicas de separação dependentes da presença de proteínas de ligação de hormonas tiroideias de alta afinidade. No entanto, no cão comparativamente ao homem, as proteínas de ligação a hormonas da tiroide têm menor afinidade para a T_4 e estão também presentes em menores concentrações. Assim, este método é duvidoso em cães, particularmente na presença de fatores adicionais como as NTI e fármacos que diminuem adicionalmente a afinidade de ligação a hormonas tiroideias (Peterson *et al*, 1997; Dixon & Money, 1999b; Schachter *et al*, 2004; Mooney & Shiel, 2012).

A IT_4 é teoricamente menos afetada pela variedade de fatores que afetam a tT_4 , incluindo as NTI e T_4AAs . A especificidade do diagnóstico da IT_4 é superior a 90% (Dixon & Mooney, 1999b), o que é significativamente melhor que a tT_4 , ou seja, é menos provável que resulte num diagnóstico falso positivo de hipotiroidismo. No entanto, dois estudos realizados em cães com doença não tiroideia verificaram uma diminuição da concentração de IT_4 numa percentagem dos animais com doenças graves (Kantrowitz, Peterson, Melián & Nichols, 2001; Mooney, Shiel & Dixon, 2008).

A sensibilidade da IT_4 para o hipotiroidismo é aproximadamente 80%, o que é menor que o valor correspondente para tT_4 . Este facto pode ser justificado pela presença de uma pequena percentagem de cães hipotiroideus que mantem a IT_4 dentro dos intervalos de referência, embora no limite inferior. Esta situação pode estar associada a uma tentativa de manutenção de concentrações adequadas de IT_4 numa fase inicial do hipotiroidismo (Mooney & Shiel, 2012).

Geralmente, este teste é o mais preciso no hipotiroidismo. No entanto, é mais caro, tem uma fraca disponibilidade, está sujeito a erros experimentais e é pouco sensível, o que exclui o uso deste teste como de primeira linha de diagnóstico. Quando é usado como um teste de segunda linha, a sua sensibilidade reduzida não apresenta grande importância. A medição de IT_4 é particularmente útil nos casos em que a tT_4 está diminuída e a cTSH permanece dentro dos intervalos de referência. Nestes casos, a IT_4 tem capacidade de diferenciar o hipotiroidismo verdadeiro, a partir de valores baixos de IT_4 , da síndrome do eutiroideu doente, mediante a apresentação de valores de IT_4 dentro do intervalo de referência (Mooney & Shiel, 2012).

6.2.3. Concentração total de T_3

Embora seja a hormona tiroideia mais potente a nível celular, cerca de 40-50% da tT_3 no cão não é produzida pela glândula tiroide. A tT_3 também não é a hormona tiroideia predominante em circulação (Ferguson, 2007). A medição da concentração de tT_3 é, então, menos precisa que a medição de tT_4 e, como tal, não oferece nenhuma vantagem real. A fraca eficiência no diagnóstico de tT_3 pode dever-se, em parte, a uma maior conversão periférica de T_4 para T_3 metabolicamente ativa. Assim, numa fase inicial do hipotiroidismo, a concentração de tT_3 em circulação mantém-se dentro dos intervalos de referência (Mooney & Shiel, 2012). No hipotiroidismo há ainda uma maior prevalência de T_3 AAs do que T_4 AAs, o que confere um grande potencial para interferir também na medição de tT_3 (Graham *et al*, 2007). Consequentemente, e por a tT_3 ser mais afetada por doenças não tiroideias que a tT_4 , a medição de tT_3 não é recomendado (Mooney & Shiel, 2012).

6.2.4. Concentração de T_3 livre

A medição da concentração no soro de IT_3 livre está limitada aos reduzidos laboratórios endócrinos comerciais. Para além do mais o seu uso no diagnóstico de hipotiroidismo ainda não foi avaliado. Como tal, a sua medição tem pouca utilidade na determinação da função tiroideia (Mooney & Shiel, 2012).

6.2.5. Concentração de tirotrofina basal (TSH)

O desenvolvimento de um imunoensaio comercial específico canino para a TSH em 1997, permitiu conhecer, em melhor pormenor, o eixo hipófise-tiroide canino (Ferguson, 2007). Assim, no hipotiroidismo primário, devido à diminuição das hormonas tiroideias, há uma perda da retroalimentação normal regulatória na síntese e produção de TSH pela hipófise. Se existirem valores de TSH aumentados, as concentrações rondam entre 1 a 3 $\mu\text{g/l}$ e ocasionalmente, verifica-se concentrações de TSH muito aumentadas ($> 10 \mu\text{g/l}$). A razão para este aumento dramático é desconhecida, mas tem sido sugerido que pode ser particularmente proeminente nas fases iniciais da alteração da função tiroideia (Mooney &

Shiel, 2012). Em animais com hipotiroidismo experimentalmente induzido, há um aumento marcado da concentração de TSH nos primeiros dois a quatro meses seguido de um declínio gradual nos dois a três anos seguintes (Diaz-Espiñeira *et al*, 2008).

A medição isolada da cTSH não é recomendada, uma vez que tem uma sensibilidade de 75% e uma especificidade de 80% (Peterson *et al*, 1997; Scott-Moncrieff *et al*, 1998; Dixon & Money, 1999b). Desta forma, é recomendada como primeira linha de diagnóstico juntamente com a medição da concentração de tT₄. A concentração diminuída de tT₄ em combinação com um aumento da TSH tem uma especificidade que ultrapassa os 90%. Esta combinação tornou-se o “*gold standart*” do diagnóstico laboratorial inicial do hipotiroidismo. Estes métodos aliados a uma segunda bateria de testes, tais como a medição da concentração de IT₄ e de TgAA, permitem diferenciar com um elevado grau de confiança cães hipotiroideus de eutiroideus (Mooney & Shiel, 2012).

A presença de valores de TSH aumentados em cães eutiroideus não é tão preocupante como a presença de valores de referência em cães hipotiroideus. A cTSH pode estar aumentada nas fases iniciais da doença tiroideia durante algum tempo antes dos valores de T₄ diminuírem e do aparecimento de sinais clínicos. Esta fase é chamada de hipotiroidismo compensatório e pode explicar a presença de TSH aumentada em cães eutiroideus. O aumento de TSH em cães sem alteração da função da tiroide pode estar associado a NTI e fármacos (Mooney & Shiel, 2012).

Embora a maioria dos cães com hipotiroidismo apresente concentrações de cTSH acima dos intervalos de referência, uma percentagem significativa (13-38%) manifesta concentrações de TSH dentro do intervalo de referência (Peterson *et al*, 1997; Ramsey *et al*, 1997; Scott-Moncrieff *et al*, 1998; Dixon & Money, 1999b). Estes valores normais de TSH em cães hipotiroideus podem estar associados a diversos fatores que abaixo são mencionados:

- À doença não-tiroideia - em alguns estudos, existem evidências que a presença de NTI concorrente com o hipotiroidismo diminui as concentrações de cTSH para valores dentro dos intervalos de referência. Com o intuito de se evitar qualquer interferência, a NTI concorrente deve ser tratada, ou pelo menos estabilizada, antes de se realizarem medições de TSH (Mooney & Shiel, 2012).

- À utilização de fármacos em simultâneo, particularmente glucocorticoides, suprime os valores de cTSH, e podem reduzir as concentrações de cTSH para valores dentro do intervalo de referência (Mooney & Shiel, 2012).

- À libertação pulsátil de TSH – existe a potencial flutuação de cTSH para valores de referência em cães hipotiroideus com valores de cTSH ligeiramente aumentados. Tal é suportado pela dinâmica ultradiana da excreção pulsátil de cTSH em hipotiroidismo experimental (Kooistra, Diaz-Espiñeira, Mol, van den Brom & Rijnberk, 2000).

- À presença de isoformas - também tem sido postulado a existência de várias isoformas de cTSH para explicar os valores inapropriadamente normais de cTSH em cães com hipotireoidismo, no entanto, tal ainda não foi documentado em cães (Mooney & Shiel, 2012).

- Ao esgotamento da hipófise - nos casos de hipotireoidismo de longa duração, é também sugerido o esgotamento da hipófise, com consequente redução da produção de cTSH. Diaz-Espiñeira e colaboradores (2008) demonstram que com o decorrer do tempo, as concentrações de cTSH também diminuem, assim como a resposta à TRH.

Desta forma, em contraste com o que se verifica no Homem, a medição da TSH não pode ser utilizada como um teste *screening* de hipotireoidismo canino, uma vez que a sua sensibilidade não está próxima dos 100% (Ferguson, 2007).

6.2.6. Efeito de doenças sistémicas na concentração de hormonas tiroideias

No cão, a doença não-tiroideia (NTI – *nonthyroidal illness*) conhecida como a síndrome do eutiroideu doente está associada à diminuição das hormonas tiroideias por vários autores (Mooney & Shiel, 2012). Esta diminuição é provavelmente multifatorial, mas está associada à supressão da TSH, à diminuição da atividade de sintetização da tiroide, à alteração das ligações às proteínas de ligação a hormonas tiroideias (por exemplo, diminuição da concentração de proteínas, diminuição da afinidade da ligação, inibidores da ligação em circulação) e à alteração da distribuição e do metabolismo periférico hormona (por exemplo, diminuição da atividade de 5'-desiodinase) (Scott-Moncrieff, 2010; Mooney & Shiel, 2012). A presença de glucocorticoides e citocinas em circulação, incluindo IL e TNF- α , representam um papel preponderante no desenvolvimento de alguma das alterações descritas (Panciera, Helfand & Soergel, 1995; Mooney & Shiel, 2012). A doença sistémica não-tiroideia é também complicada pelos efeitos a vários níveis do eixo hipotálamo-hipófise-tiroide (Wartofsky & Burman, 1982).

Vários autores reconheceram a síndrome do eutiroideu doente em cães diagnosticados com hiperadrenocorticismismo (Ferguson & Peterson, 1992), neoplasias (Vail, Panciera & Ogilvie, 1994), diabetes mellitus, hipoadrenocorticismismo, insuficiência renal, insuficiência cardíaca congestiva (Panciera & Refsal, 1994), doença hepática, piodermite (Hall, Campbell, Chambers & Davis, 1993), neuropatia periférica e megaesófago (Nelson, Ihle, Feldman & Bottoms, 1991) doenças infecciosas como a parvovirose e a babesiose (Schoeman, Goddard & Herrtage, 2007; Schoeman, Rees & Herrtage, 2007) e outras doenças médicas que necessitem de cuidados intensivos (Elliott, King & Zerbe, 1995). Mooney *et al* (2008) numa investigação em animais com NTI relataram que a diminuição da concentração da tT_3 pode ocorrer isoladamente ou em associação a uma diminuição de tT_4 . Neste estudo, a quantidade de animais com diminuição da tT_3 diminuída foi maior que a percentagem de cães com valores reduzidos de tT_4 (Mooney *et al*, 2008). O grau de supressão das

hormonas reflete a gravidade da doença e o seu prognóstico. Assim, nas doenças não tiroideias moderadas a graves há uma menor de concentração das hormonas tT_4 , IT_4 e tT_3 . Da mesma forma, as doenças metabolicamente menos complicadas, provocam um menor impacto na função da tiroide (Kantrowitz *et al*, 2001). Mooney *et al* (2008) descreveram ainda que a capacidade de recuperação dos animais com NTI é menor em pacientes com concentrações diminuídas de tT_4 , IT_4 e tT_3 .

A fase de recuperação de NTI está também associada a aumentos de concentração de TSH tanto em cães como no Homem. Tal deve-se, presumivelmente, à necessidade de aumento de produção de hormonas tiroideias para que haja um retorno ao eutiroidismo (Mooney & Shiel, 2012).

6.2.7. Efeito de fármacos na concentração das hormonas tiroideias

Vários tipos de fármacos são capazes de provocar uma alteração da função tiroideia. Estas substâncias podem alterar a síntese, a secreção ou ainda o transporte e o metabolismo das hormonas tiroideias. Alguns fármacos à semelhança do que ocorre na NTI afetam diretamente o eixo hipotálamo-hipófise-tiroide (Daminet & Ferguson, 2003). Os glucocorticoides, os anticonvulsivos, os anti-inflamatórios não-esteroides (AINES) (Daminet *et al*, 2003; Panciera, Refsal, Sennello & Ward, 2006) e as sulfonamidas potenciadas (Seelig, Whittemore, Lappin, Myers & Avery, 2008; Brenner, Harkin & Schermerhorn, 2009) são fármacos que têm o potencial de induzir alterações da função da tiroide.

As sulfonamidas inibem a tiroperoxidase, o que resulta na diminuição da secreção de hormonas tiroideias (Hall *et al*, 1993). Os tirotrópos da hipófise respondem a esta diminuição através da redução de mecanismos de retroalimentação negativa e, assim, existe um aumento da produção de TSH (Gulikers & Panciera, 2002). Esta supressão da função da tiroide depende da especificidade, da preparação, da dose e da duração da terapêutica. Vários estudos, descrevem que uma administração de doses elevadas de trimetoprim-sulfametoxazol durante três semanas ou mais, tem capacidade para induzir o hipotiroidismo clínico (Williamson, Frank & Keith, 2002; Frank, Hnilica, May, Sargent & Davis, 2005; Seelig *et al*, 2008). Brenner *et al* (2009) revelam que existe hipotiroidismo com o tratamento com trimetoprim-sulfametoxazol numa dose de 40mg/kg PO q 12h. Para além dos sinais clínicos, ocorre diminuição das concentrações de tT_4 , tT_3 e IT_4 e aumento da concentração de TSH. Os efeitos são reversíveis após 2 semanas ou mais da interrupção do tratamento (Williamson *et al*, 2002; Frank *et al*, 2005).

Os glucocorticoides influenciam o metabolismo periférico de hormonas tiroideias e inibem diretamente a secreção de TSH. Uma das principais ações destes fármacos é a inibição da enzima 5'-monodesiosinase, o que dá origem a uma diminuição da conversão de T_4 em T_3 e a uma diminuição do metabolismo da rT_3 . O efeito dos glucocorticoides é dependente da dose, da preparação específica, da duração do tratamento e da via de administração

(Gulikers & Panciera, 2002; Daminet & Ferguson, 2003). A administração de doses imunossupressoras de prednisona (1,2-2 mg/kg, PO, q 12 horas durante 3 semanas) resulta numa diminuição de tT_4 e IT_4 mas sem alterações da concentração de TSH (Daminet, Paradis, Refsal & Price, 1999). Num estudo recente, cães hipotiroideus foram submetidos a uma dose não-inflamatória de prednisona (1,0 mg/Kg, PO, q 24h, 7 dias e q 48 durante 14 dias) apresentaram diminuição de tT_4 após 7 dias. No entanto, as concentrações de tT_4 e a TSH mantiveram-se inalteradas (O'Neill, Frank & Reynolds, 2011). A aplicação tópica de dexametasona em cães durante 21 dias, através da aplicação de uma loção para a pele, provoca uma diminuição das concentrações de tT_3 e de tT_4 . A aplicação de dexametasona em gotas oculares provoca uma diminuição gradual de tT_4 , com menor influência na concentração de tT_3 (Gottschalk, Einspanier, Ungemach & Abraham, 2011). A administração de prednisona não provoca um efeito substancial na concentração de TSH em cães eutiroideus e hipotiroideus. Porém, como este fármaco diminui os níveis de tT_4 e IT_4 o resultado esperado seria um aumento de concentração de TSH devido à diminuição da retroalimentação negativa destas hormonas na hipófise. Assim, o não aumento da concentração de TSH pode indicar uma alteração da função da hipófise (Gulikers & Panciera, 2002). Quando um tratamento com glucocorticoides termina, pode ainda surgir um período de transição em que a TSH está temporariamente aumentada. Em cães com hiperadrenocorticismo que iniciaram o tratamento com trilostano verificou-se um aumento significativo da TSH, o que reforça a hipótese da supressão da TSH como um dos efeitos dos glucocorticoides no eixo hipotálamo-hipófise-tiroide (Kenefick & Neiger, 2008).

Os AINES alteram a função da tiroide em ratos e no Homem, através da alteração da ligação das hormonas plasmáticas às proteínas de transporte plasmáticas. Nos cães, os estudos sobre AINES são limitados. Vários estudos realizados nos AINES - deracoxib, cetoprofeno, meloxicam e carprofeno - não encontraram qualquer associação entre a administração destes fármacos e alterações da função da tiroide (Daminet *et al*, 2002; Sauvé *et al*, 2003; Panciera *et al*, 2006). Relativamente à administração de ácido acetilsalicílico (AAS) em cães, dois estudos depararam-se com alterações da função da tiroide. Panciera *et al* (2006), descreveram uma diminuição de tT_4 , tT_3 e IT_4 em animais aos quais foram administrados uma dose analgésica e anti-inflamatória. Por sua vez, Daminet e colaboradores (2002) verificaram uma diminuição de tT_4 de tT_3 associada a doses terapêuticas de ácido acetilsalicílico, sem alterações da IT_4 . Embora não se tenha verificado um aumento de IT_4 , este estudo compactua com a hipótese do ácido acetilsalicílico competir com as ligações da T_4 às proteínas de transporte, aumentando a percentagem de T_4 livre. Em ambos os artigos não se registaram alterações da TSH. Em consequência, embora alguns AINES diminuam a concentração de tT_4 no Homem e em cães, a magnitude desta alteração é reduzida, pelo que não há casos descritos de hipotiroidismo induzido por estes fármacos (Gulikers & Panciera, 2002).

O fenobarbital é um fármaco anticonvulsivo que diminui as concentrações das hormonas tiroideias através do aumento do metabolismo hepático de T₄ secundário a uma indução da enzima microsossomal hepática, do aumento do *clearance* biliar e do aumento da excreção fecal (Kantrowitz, Peterson, Trepanier, Melián & Nichols, 1999; Daminet & Ferguson, 2003). A administração de fenobarbital causa uma diminuição de tT₄ e de IT₄ e um aumento moderado da concentração de TSH sem evidências clínicas de hipotiroidismo (Gaskill *et al*, 2000).

Assim, os testes de hipotiroidismo devem ser adiados até à remoção destes fármacos. No entanto, dada a natureza dos casos que necessitam deste testes, a remoção completa destes fármacos é muitas vezes inatingível. Por prevenção, deve considerar-se que qualquer fármaco é capaz de suprimir a função tiroideia e portanto influenciar o diagnóstico de hipotiroidismo (Mooney & Shiel, 2012).

6.2.8. Testes dinâmicos de função tiroideia

Antigamente eram usados uma variedade de testes dinâmicos de função tiroideia. No entanto, o desenvolvimento de testes como a cTSH, IT₄ e TgAA reduziu a necessidade do uso destes testes na rotina geral da prática veterinária. Estes estão normalmente reservados a situações cujo diagnóstico não pode ser obtido de outra forma (Mooney & Shiel, 2012).

6.2.8.1. Teste de resposta à TSH

Em 1984, o teste de resposta à TSH era o método definitivo para o diagnóstico de hipotiroidismo canino (Ferguson, 2007). Este teste baseia-se na avaliação da “reserva funcional” da tiroide através da interpretação do aumento de tT₄ após a administração por via intravenosa de uma dose suprafisiológica de TSH exógena. Esperando-se no caso de hipotiroidismo uma estimulação mínima (Scott-Moncrieff, 2010). Caso a concentração de tT₄, antes e após a administração de TSH, esteja abaixo dos valores de referência para tT₄ basal (<1,5 µg/dL) o animal é considerado hipotiroideu. Se após a administração de TSH, a concentração de tT₄ for maior que 2,5 µg/dL ou apresentar um aumento de pelo menos 1,5 vezes da concentração basal, é indicativo de eutiroidismo (Diaz Espineira *et al*, 2007). A interpretação de resultados intermédios é mais difícil e deve ser realizada em concordância com os sinais clínicos e a gravidade de doenças sistémicas concorrentes. Com efeito, alguns cães com NTI grave e outros tratados com medicamentos que afetam a função da tiroide podem apresentar resultados equívocos (Borreti *et al*, 2006).

O produto farmacêutico de TSH de origem bovina foi substituído pelo protocolo com TSH recombinante humana (rhTSH). Este consiste na administração de rhTSH intravenosa (IV) seguida da recolha de sangue para medição de tT₄ após 4 a 6 horas (Sauve & Paradis, 2000; Borreti *et al*, 2006; Daminet, Fifle, Paradis, Duchateau & Moreau, 2007). Ao contrário da TSH bovina, não foram encontradas reações adversas após administrações de rhTSH

em cães (Borreti *et al*, 2006; Daminet *et al*, 2007). No entanto, o uso clínico deste teste é limitado pelo preço elevado da rhTSH. Adicionalmente, o teste de resposta à TSH não pode ser usado para avaliar a função tiroideia em cães tratados com *l*-tiroxina porque o tratamento causa atrofia da tiroide. Para o efeito, a suplementação deve ser descontinuada seis a oito semanas antes do teste (Scott-Moncrieff, 2010). Este teste, embora já não seja tão usado, é isoladamente considerado o mais fiável no diagnóstico desta doença (Mooney & Shiel, 2012).

6.2.8.2. Teste de resposta à TRH

O teste de resposta à TRH, usado em alternativa ao teste de resposta à TSH, mede a concentração de tT_4 antes e depois da administração de TRH. Infelizmente, este teste é considerado menos fiável comparativamente ao uso combinado dos testes básicos presentemente disponíveis, não sendo já recomendado (Mooney & Shiel, 2012). O diagnóstico de hipotiroidismo é possível se a concentração de tT_4 após-TRH seja $<1,5$ $\mu\text{g/dL}$. No entanto, a ausência de uma resposta de tT_4 não confirma a 100% a presença hipotiroidismo, uma vez que esta resposta é comum numa variedade de NTI e em cães medicados com certos fármacos (Frank, 1996). No melhor panorama, uma boa resposta à TRH pode excluir o hipotiroidismo. Assim o teste de resposta à TRH é menos fiável que o teste de resposta à TSH no diagnóstico de hipotiroidismo canino (Scott-Moncrieff, 2010).

6.3. Diagnóstico de tiroidite

Muito do que se conhece relativamente à tiroidite linfocítica está centrado na deteção de anticorpos no soro, que funcionam como um marcador de alterações patológicas inflamatórias da glândula tiroide. Em medicina veterinária, o diagnóstico definitivo não é muitas vezes possível, uma vez que a recolha de material por biopsia não é realizada rotineiramente numa doença que é relativamente benigna e facilmente tratável (Graham *et al*, 2001b).

6.3.1. Anticorpos antitiroglobulina

Devido ao tamanho e à complexidade da molécula de tiroglobulina, os anticorpos que se formam contra ela representam um grupo heterógeno dirigido a vários epítomos. Assim, quando um epítomo inclui um local hormogénico, o anticorpo pode ser dirigido contra um fragmento que contenha T_4 e T_3 (Graham *et al*, 2007). A maioria dos cães que tem $T_4\text{AA}$ também possui $T_3\text{AA}$, e aproximadamente 50% das amostras com $T_g\text{AA}$ não reagem contra as hormonas tiroideias. É fulcral reconhecer os diferentes estadios da progressão da doença na escolha do método de diagnóstico mais apropriado.

Os $T_g\text{AAs}$, embora não sejam os únicos anticorpos presentes na tiroidite, são os mais importantes devido à presença de um método confiável canino específico de medição

comercialmente disponível (Mooney & Shiel, 2012). Estão disponíveis uma variedade de testes de TgAA, incluindo a hemaglutinação passiva, a fixação do complemento, a imunofluorescência, a ELISA e o teste de radioimunoprecipitação. O ELISA para TgAAs é um indicador sensível e específico de tiroidite, com a ocorrência de resultados falsos positivos em menos de 5% dos cães com outras doenças endócrinas (Nachreiner, Refsal, Graham, Hauptman & Watson, 1998). A principal limitação da medição de TgAAs é que nem todos os cães com hipotiroidismo têm tiroidite linfocítica, e os que têm, com o decorrer do tempo podem passar de TgAAs positivo para negativo. Assim, enquanto a presença de TgAAs representa uma forte evidência de doença tiroideia, um resultado negativo não pode excluir a presença de tiroidite ou de hipotiroidismo (Mooney & Shiel, 2012). Adicionalmente, um título positivo de TgAAs não é indicador de alterações da função tiroideia, na medida em que a tiroidite subclínica pode estar presente por longos períodos de tempo antes da evolução para um estadió de hipotiroidismo clínico (Scott-Moncrieff, 2010). Assim, o teste não é recomendado isoladamente, mas tem grande valor quando é utilizado juntamente com outros testes, tais como a tT_4 ou IT_4 e cTSH. A medição de TgAAs é particularmente útil em casos em que os resultados de T_4 e cTSH são discordantes. Uma vez que a presença de TgAAs é altamente específica de tiroidite linfocítica, deste modo um resultado positivo é útil, particularmente, nos casos em que há uma diminuição espectável de tT_4 ou IT_4 mas os valores de cTSH mantêm-se dentro intervalos de referência. Uma outra vantagem da medição de TgAAs é esta não ser afetada por fármacos. Assim, esta medição é usada como teste de segunda linha em ambas as situações (Mooney & Shiel, 2012).

Os TgAAs são encontrados em 36% a 50% dos cães com hipotiroidismo (Nachreiner *et al*, 1998; Graham *et al*, 2007). No entanto, a contribuição da tiroidite linfocítica para o hipotiroidismo varia consoante as raças. Assim, os cães hipotiroideus da raça Setter Inglês parecem ter uma maior tendência para a tiroidite linfocítica, uma vez que apresentam mais de 80% TgAAs. Ao passo que, apenas 30% dos cães hipotiroideus da raça Dobermann, apresentam estes anticorpos, os quais sugerem que estes cães têm uma maior tendência para atrofia idiopática da tiroide. Esta particularidade sugere uma diferente ocorrência ou tipo de progressão da tiroidite entre raças ou uma predisposição de algumas raças para a forma não inflamatória da doença da tiroide (Graham *et al*, 2007). Foram ainda encontradas variações na distribuição da idade consoante raças específicas que sugerem diferentes níveis de progressão da tiroidite entre raças. Regra geral, os animais que possuem TgAAs atingem o pico por volta dos 4 a 6 anos, com uma conseqüente diminuição atribuída à destruição da tiroide. Assim, cães velhos com mais de 10 anos têm muito menos probabilidade de ser TgAAs positivos, fazendo com que o teste tenha menos valor em animais da faixa etária sénior (Graham *et al*, 2007). A probabilidade de se identificar um resultado positivo aumenta significativamente quando se testa uma raça predisposta com o intervalo de idade apropriado (Mooney & Shiel, 2012). A época do ano pode representar

também uma pequena contribuição na ocorrência de evidências precoces de tiroidite (Graham *et al*, 2007).

A presença de resultados falsos positivos em animais eutiroideus pode ser resultado de um aumento de anticorpos após vacinação. Estes autores descrevem que as imunizações repetidas originam anticorpos contra os antígenos heterogêneos da vacina que podem reagir cruzadamente com antígenos caninos homólogos. É desconhecido se estes TgAAs induzem ou não alterações da função da tiroide (Scott-Moncrieff *et al*, 2002). Ainda relativamente a resultados de TgAAs positivos, em animais eutiroideus, sabe-se que nem todos os animais com anticorpos progridem para o hipotiroidismo. Foi realizado um estudo que acompanhou durante um ano cães eutiroideus com presença de TgAAs. Neste estudo, aproximadamente, um de cinco cães desenvolveram alterações da tiroide que sugerem redução da função tiroideia e um de 20 cães tornaram-se hipotiroideus (Graham, Lundquist, Refsal, Nachreiner e Provencher, 2001a).

Por fim, cada vez mais as medições de TgAAs são também usadas como um marcador de tiroidite em cães clinicamente saudáveis. Esta aplicação é aceite como útil para uma grande quantidade de criadores, com o intuito de identificarem uma predisposição dos animais para a tiroidite linfocítica antes da reprodução. Assim, embora sejam necessários mais estudos, os TgAAs parecem ser um marcador útil do desenvolvimento subclínico de disfunção tiroideia (Mooney & Shiel, 2012).

6.3.2. Biopsia de tiroide

A biopsia à tiroide é o teste mais definitivo e sensível para identificação de lesões na tiroide, tal como de tiroidite linfocítica. No entanto, a presença de lesões não significa necessariamente a presença de anomalias funcionais. A biopsia de tiroide é raramente indicada para diagnóstico clínico de disfunção de tiroide em cães (Scott-Moncrieff, 2010).

6.4. Diagnóstico imagiológico

O acesso à imagem da tiroide tem sido usado na investigação de massas no Homem, nos cães e nos gatos. Recentemente tem ocorrido um interesse crescente em usar as técnicas de imagem no diagnóstico de hipotiroidismo canino. As alterações imagiológicas são menos afetados pelas NTI e pelos fármacos do que as concentrações basais das hormonas tiroideias. No entanto, embora as técnicas imagiológicas representem um grande valor na investigação de casos de hipotiroidismo complexos, são necessários mais estudos para serem recomendadas numa abordagem clinica geral (Mooney & Shiel, 2012).

6.4.1. Ultrassonografia da tiroide

A ultrassonografia é útil na avaliação de cães com suspeita de hipotiroidismo, uma vez que esta descreve o aspeto ecográfico de cães saudáveis/eutiroideos e hipotiroideos (Brömel *et al*, 2005; Taeymans, Daminet, Duchateau & Saunders, 2007). Brömel e outros colaboradores (2005) constataram que os animais saudáveis e os animais eutiroideos com NTI apresentam uma imagem ecográfica semelhante. Nestes animais, os lobos individuais da tiroide são descritos como fusiformes em corte longitudinal e triangulares em corte transversal, com uma cápsula lisa e o parênquima com um padrão ecogénico homogénico normalmente híper ou isoecóico comparativamente à musculatura circundante.

O volume da tiroide pode ser medido aplicando a fórmula elipsoide - $vol (ml) = \pi/6 \times comprimento (cm) \times largura (cm) \times altura (cm)$. Por comparação, os cães hipotiroideos apresentam lobos da tiroide mais redondos ou ovais, com diminuição do tamanho e volume dos lobos e conseqüente diminuição do volume total da glândula e hipoecogenecidade do parênquima em relação ao músculo que o rodeia (Brömel *et al*, 2005). Destas alterações, o volume da tiroide é o parâmetro com maior especificidade na diferenciação entre indivíduos hipotiroideos e eutiroideos (Reese, Breyer, Deeg, Kraft & Kaspers, 2005).

6.4.2. Tomografia computadorizada e ressonância magnética (RM)

Tal como na ultrassonografia, estão descritas as características da tiroide de animais saudáveis por TC e RM (Taeymans, Dennis & Saunders, 2008; Taeymans *et al*, 2008). Teoricamente, a presença de alterações do tamanho e do parênquima da glândula tiroide permitem diferenciar indivíduos eutiroideos de hipotiroideos, como descrito em medicina humana. Na TC de cães com hipotiroidismo experimental, pode ser detetado o aumento da hipófise secundário à hiperplasia tirotrópica e à deficiência das células da tiroide. No entanto, estas alterações não são específicas de hipotiroidismo (Diaz-Espineira *et al.*, 2008). Assim sendo, dado o custo elevado destes procedimentos e à necessidade de se proceder à anestesia geral, é improvável que representem um papel significativo no diagnóstico de hipotiroidismo primário (Mooney & Shiel, 2012).

6.4.3. Cintigrafia

O uso de técnicas médicas nucleares, para conhecer a função da tiroide, foi descrito durante muitos anos, antes da introdução dos imunoensaio. Estes procedimentos envolvem a administração de pertecnetato radioativo ($^{99m}\text{TcO}_4^-$) ou iodo radioativo (^{123}I ou ^{131}I) que entram dentro da glândula tiroide pelo co-transportador de Na/I (Peremans, 2012). Posteriormente, quantifica-se a captação de pertecnetato ou iodo radioativo da tiroide, a qual emite radiações gama, através de uma camara ou contador de cintilação (Peremans, 2012). O uso do pertecnetato é preferível ao iodo radioativo, devido ao tempo de semivida mais curto, à captação mais rápida e à dose de radiação (Mooney & Shiel, 2012).

Embora tenha um grande valor na investigação de massas na tiroide, diversos estudos têm sido realizados com o intuito de diferenciar, através da cintigrafia, cães hipotiroideus de eutiroideus (Mooney & Shiel, 2012). O cálculo da captação de $^{99m}\text{TcO}_4^-$, permite diferencial animais hipotiroideus de animais eutiroideus, principalmente em raças de cães específicas, nas quais o diagnóstico de doença da tiroide é complicado (Pinilla, Shiel, Brennan, McAllister & Mooney, 2009). No homem, registam-se alterações na absorção de radioisótopos associadas a NTI grave e a fármacos, bem como uma variação na aparência da cintigrafia nas doenças inflamatórias da tiroide. No cão foi demonstrado que o excesso de glucocorticoides pode suprimir a captação de pertecnetato pela tiroide (Shiel, Pinnila, McAllister & Mooney, 2012).

Este procedimento exige ainda um equipamento especial e instalações com isolamento de radiação. Assim, embora esta técnica tenha uma utilidade em conhecer a função da tiroide, não é um teste de primeira linha e os resultados devem ser interpretados juntamente com os sinais clínicos e clinicopatológicos (Mooney & Shiel, 2012).

7. Tratamento e monitorização terapêutica

Todos os cães hipotiroídeos necessitam de uma suplementação crónica de hormonas tiroideias (Mooney & Shiel, 2012). O tratamento eleito, independentemente da causa adjacente de hipotiroidismo, é levotiroxina ou *l*-tiroxina sódio sintética. A *l*-tiroxina tem um tempo de semivida de 10 a 14 horas em cães, uma taxa de catabolismo no soro de 6,8 µg/kg/dia e uma biodisponibilidade oral de 10 a 50% (Kaptein, Moore & Ferguson, 1993; Nachreiner *et al*, 1993). Este suplemento hormonal apresenta uma menor biodisponibilidade quando é administrado ao mesmo tempo que o alimento (Le Traon *et al*, 2008). Tratando-se de um análogo da T₄ o principal produto deste fármaco, é o estabelecimento das concentrações de T₄ que vai originar concentrações normais de T₃ (Scott-Moncrieff, 2010).

Estão recomendadas numerosas estratégias terapêuticas para o tratamento de hipotiroidismo. Atualmente, é geralmente aceite uma dose de 20-22 µg/kg cada 24 horas. Esta dose é suficiente na maioria dos casos pelo menos inicialmente (Dixon, Reid & Mooney, 2002; Le Traon *et al*, 2008). A administração diária funciona muito bem, desde que seja alcançado o pico adequado de circulação hormonal (Mooney & Shiel, 2012). Porém, Scott-Moncrieff (2010), recomendam a administração de T₄ duas vezes ao dia, numa fase inicial, para melhorar a probabilidade de resposta ao tratamento. Se os sinais clínicos se resolverem e se a concentração de T₄ estiver dentro dos valores de referência, a frequência de administração pode ser reduzida para uma vez ao dia.

A eficácia do tratamento deve ser verificada por monitorização após 4 a 8 semanas da administração de *l*-tiroxina (Scott-Moncrieff, 2010) ou após duas semanas do início ou da alteração da dosagem (Dixon *et al*, 2002). A concentração de T₄ no soro deve encontrar-se dentro dos intervalos de referência, imediatamente após a administração da dose e no limite superior ou ligeiramente acima dos valores normais 4 a 6 horas após a administração. Esta é uma abordagem clínica eficaz mas pode resultar num excesso de suplementação em alguns cães. Embora os cães sejam relativamente resistentes a desenvolver hipertiroidismo iatrogénico devido ao tempo de semivida curto da T₄, o risco de uma sobredosagem de T₄ durante muito tempo em cães não foi investigado (Scott-Moncrieff, 2010; Mooney & Shiel, 2012). A medição da concentração de TSH permite conhecer se os proprietários do animal estão a administrar corretamente a terapêutica ao paciente, uma vez que demonstra a eficácia a longo prazo do tratamento. A TSH em circulação é altamente sensível aos efeitos supressores da suplementação hormonal, pelo que a sua supressão pode ser obtida mais rapidamente que o desaparecimento dos sinais clínicos (Mooney & Shiel, 2012).

No entanto, a medição da TSH não é suficientemente sensível na distinção de concentrações normais ou diminuídas, razão pela qual não se consegue distinguir entre cães adequadamente suplementados e aqueles que o estão incorretamente (Nachreiner *et al*, 1993)

Para além da monitorização laboratorial do tratamento, a terapêutica deve ser baseada na resposta clínica e na presença ou ausência de doenças concomitantes. Geralmente, as alterações metabólicas como a letargia melhoram após 1 a 2 semanas de tratamento (Scott-Moncrieff, 2010). Nas primeiras 8 semanas após o tratamento devem ocorrer melhorias da função cardiovascular e das alterações do ECG (Mooney & Shiel, 2012). A perda de peso de cerca de 10%, deve ser evidente passadas 8 semanas (Panciera, 1994). As melhorias dermatológicas demoram 1 mês ou mais, porque a pelagem aos donos parece inicialmente pior uma vez que os pelos em telogénese caem (Credille *et al* 2001). O desaparecimento dos sinais neurológicos é variável e provavelmente menos rápido que os sinais clínicos dos outros aparelhos afetados. No entanto, as neuropatias periféricas melhoram após 1-3 meses do início do tratamento e os sinais do SNC podem demorar 6 meses a serem resolvidos (Mooney & Shiel, 2012)

No caso do coma mixedematoso, a T₄ deve ser administrada inicialmente IV, numa dose de 4 a 5 µg/kg q 12h. Outros cuidados de suporte apropriados são a fluidoterapia, aquecimento passivo e ventilador se necessário. A resolução das alterações do estado mental, do estado ambulatorio e da hipotensão sistólica deve ser atingida após 30 horas do começo da terapêutica (Pullen & Hess, 2006).

Em animais que sofram de outras doenças concomitantes, é recomendada a introdução gradual da suplementação de T₄ em animais com diminuição da capacidade metabólica de T₄, como animais que sofram de hipoadrenocorticismo e doença cardíaca (Mooney & Shiel, 2012). Em cães com hipoadrenocorticismo deve ser iniciado primeiro a terapêutica com glucocorticoides, porque o aumento da taxa de metabolismo basal provocada pela suplementação de T₄ pode exacerbar as alterações eletrolíticas atribuídas a esta doença. Uma vez que o hipotiroidismo está associado à resistência à insulina, cães hipotiroideus com diabetes mellitus podem necessitar de uma diminuição da necessidade de insulina ou alterações da dose antes de começarem a ser suplementados (Scott-Moncrieff, 2010; Mooney & Shiel, 2012).

III. Projeto de Investigação – Estudo da prevalência de Hipotiroidismo em cães da raça Rafeiro do Alentejo

Este projeto foi financiado pelo Centro de Investigação Interdisciplinar de Sanidade Animal (CIISA) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa (FMV-UTL).

1. Introdução

O Rafeiro do Alentejo é considerado um cão Molossóide, tipo montanha, que pertence ao Grupo 2 – Cães de tipo Pinscher e Schnauzer, Molossóides, cães de montanha e boieiros suíços – da classificação atribuída pela Federação Cinológica Internacional (CPC, 2008).

Esta raça parece ter origem nos molossos do Médio-Oriente. No começo da transumância, os rebanhos eram acompanhados e protegidos por grande cães, o que fez com que estes animais se expandissem desde as zonas montanhosas às zonas de planícies (CPC, 2008). Estes cães fixaram-se nas planícies alentejanas nos finais do século XIX, dando origem à designação de Rafeiro do Alentejo (Alpoim, 1999). É possível que o Rafeiro do Alentejo tenha como ancestral o Cão Serra da Estrela, assim como o Mastim Espanhol. O Mastim Espanhol foi, também, utilizado para recuperar o Rafeiro do Alentejo quando, na década de 70, esta raça esteve praticamente extinta (Vasconcelos, 1995).

Várias raças específicas apresentam uma predisposição para o hipotiroidismo, embora possa ocorrer em qualquer tipo de cães. Até à data ainda não foi aferida a prevalência desta doença endócrina em cães de raças Portuguesas. Assim, este projeto tem como principal objetivo conhecer a prevalência de hipotiroidismo em cães da raça Rafeiro do Alentejo. Também se pretendeu identificar a presença de tiroidite linfocítica nestes animais. Este objetivo prendeu-se ao facto de a tiroidite linfocítica ser uma das duas principais causas de hipotiroidismo, e de também poder manter um estadio de tiroidite subclínica, que mais tarde pode progredir ou não para o desenvolvimento de hipotiroidismo clínico (Graham *et al*, 2001b).

A maioria dos laboratórios de endocrinologia utiliza intervalos de referência não específicos para raças, na interpretação das concentrações das hormonas tiroideias. Porém, em algumas raças, as concentrações das hormonas tiroideias podem diferir significativamente dos intervalos de referência não específicos (Mooney & Shiel, 2012). As concentrações de tT_4 , são geralmente baixas e muitas vezes inferiores aos valores de referência em cães da família dos Galgos, incluindo o Galgo Inglês, o Whippet, o Saluki e o Sloughis, em cães da raça Basenji, assim como em cães de trenó, como o Malamute do Alasca e o Husky Siberiano (Gaughan & Bruyette, 2001; Hill *et al*, 2001; Lee *et al*, 2004; van Geffen, Bevegems, Duchateau, Roover & Daminet, 2006; Shiel, Brennan, Omodo-Eluk & Mooney, 2007; Panakova, Kock, Kolb & Mueller, 2008; Seavers, Snow, Mason & Malik, 2008; Shiel *et al*, 2010). Nestas raças, surgiu a necessidade de se calcular intervalos de referência

2.2. História Progressiva e Exame clínico

Os criadores/proprietários destes animais foram sujeitos a um breve questionário, com intuito de se conhecer a história progressiva (disponível no anexo 1.). Através deste conjunto de perguntas obtiveram-se as informações da anamnese, como o estado reprodutivo, a administração de fármacos, a atividade e a origem dos cães da amostra. Pretendeu-se, também, conhecer a existência de doenças anteriores ou atuais, bem como a presença anterior ou atual de sinais clínicos compatíveis com hipotireoidismo.

A maioria dos animais e proprietários colaboraram com a realização do exame físico aos primeiros. No entanto, grande parte foi realizada em campo, pelo que não foi possível realizar a pesagem dos cães, uma correta avaliação da função cardíaca através do uso de ECG, bem como um exame minucioso neuromuscular. No exame físico destes animais, atribuiu-se especial atenção à presença de sinais clínicos de hipotireoidismo ou outros sinais presentes em doenças não tiroideias.

2.3. Colheita de sangue e análises sanguíneas

Com o consentimento prévio dos donos, recolheram-se as amostras sanguíneas por venopunção da veia cefálica ou jugular, no período de Fevereiro a Julho de 2012.

Cada amostra de sangue foi dividida por um tubo de EDTA de 2 mL, por um tubo de Heparina de 2 mL e por um tubo seco de plástico de 2 mL. Os tubos foram corretamente identificados e armazenados numa arca refrigerada até serem transportados para o laboratório de análises clínicas Dr. Braço Forte da FMV – UTL. Os tubos de EDTA foram armazenados a 4°C e todos os hemogramas foram realizados num prazo de 12-24 horas após a colheita. Todos os tubos de heparina foram centrifugados a 700 g num prazo de 12-24 horas após a colheita e os soros resultantes foram colocados em *Eppendorfs* de 1,5mL. Estes foram identificados e congelados a - 24°C, para serem processados posteriormente em simultâneo. Os parâmetros bioquímicos analisados foram a ALT, a FAS, o Colesterol e os Triglicéridos.

O sangue em tubo seco, foi centrifugado a 700 g e separado cerca de 12-24 horas após a colheita. Os soros resultantes das amostras foram divididos em dois *Eppendorfs* e congelados a - 24°C. Reservou-se uma parte dos soros para serem realizadas, em simultâneo, todas as análises das hormonas tiroideias e, a outra parte, para serem enviados para a deteção anticorpos TgAAs.

2.4. Critérios de exclusão de animais

Os critérios de exclusão foram definidos com base em várias premissas que podem alterar os resultados das análises das hormonas tiroideias. Outros dados obtidos na altura da recolha sanguínea ou obtidos após os resultados das análises hematológicas e bioquímicas,

foram igualmente considerados impeditivos da inclusão de certos cães neste projeto. Assim, os animais foram filtrados com base nos seguintes critérios de exclusão:

- Presença de NTI diagnosticadas, identificadas através do exame físico ou pela interpretação dos resultados do hemograma e bioquímicas;
- Administração de fármacos como glucocorticoides, sulfonamidas-potenciadas, AINES, fenobarbital, entre outros;
- Fêmeas grávidas ou no período pós-parto;
- Animais com menos de dois anos, salvo aqueles que apresentavam alguma suspeita desta doença endócrina;
- Animais com origem desconhecida ou duvidosa, no que diz respeito aos padrões da raça.

2.5. Análises da tiroide

2.5.1. Medição das concentrações de tT_4 , IT_4 e TSH

As análises das hormonas de tiroide, tT_4 , TSH e IT_4 foram analisadas no Laboratório de Endocrinologia e Reprodução da FMV. As concentrações de tT_4 (*Canine total T_4 , LKCT1*), IT_4 (*Veterinary Free T_4 , LKVF41*) e TSH (*Canine TSH, LKKT1*) foram determinadas por kits comerciais de quimioluminescência imunométrica (*Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd, Llanberis, United Kingdom*), no aparelho IMMULITE® 1000. Realizaram-se previamente as curvas de calibração para cada kit, utilizando para o efeito ajustadores LOW e HIGH. Para a determinação de tT_4 , IT_4 e TSH, utilizou-se 200 μ L de cada amostra, sendo que o volume necessário obrigatório era de 30 μ L, 10 μ L, 25 μ L, respetivamente. Os limites de quantificação para os testes de tT_4 , IT_4 e TSH eram de 0,5 μ g/dL, 0,3 μ g/dL e 0,05ng/mL respetivamente. A todos os valores inferiores aos limites referidos foram atribuídos o valor igual ao limite de quantificação. Nem sempre foi possível, devido ao volume da amostra, obter-se estas três quantificações para cada animal.

2.5.2. Detecção de autoanticorpos antitiroglobulina

Foram selecionados 31 animais, 26 com alterações das hormonas tiroideias e 6 sem alterações, com o intuito de servirem como controlo negativo. Os autoanticorpos antitiroglobulina foram determinados por um teste de ELISA, através de um *kit* de *Thyroglobulin SER (D3212-HR01) (European Veterinary Laboratory (EVL) - diagnostic division, Woerden, The Netherlands)*. Este teste foi processado no laboratório português INNO. Este kit faz a deteção de anticorpos contra a tiroglobulina no soro ou plasma dos cães. Os resultados são obtidos como positivos, positivos fracos ou negativos através da comparação com a intensidade da cor da amostra. Foram realizadas leituras de densidade ótica para cada amostra. Estas foram relacionadas com os títulos de anticorpos, através de uma curva de calibração do lote do kit, facultada pelo EVL. Porém, não foi possível

apresentar esta curva de calibração devido à confidencialidade dos dados do EVL. Consideraram-se positivas as amostras com um título superior a 5, de acordo com o EVL.

2.6. Classificação de cães hipotiroideos clínicos e de cães eutiroideos

Neste trabalho foram considerados hipotiroideos os animais que apresentavam simultaneamente as seguintes alterações:

- Alterações metabólicas, dermatológicas, neuromusculares, reprodutivas, oculares ou outras, compatíveis com hipotiroidismo;
- Concentrações de tT_4 e/ou IT_4 inferiores ou no limite inferior do intervalo de referência, com possível, aumento da concentração TSH.

As alterações do hemograma (anemia ligeira normocítica e normocrômica) e dos parâmetros bioquímicos (aumento da ALT, da FAS, do colesterol, dos triglicéridos) quando presentes, em associação às anteriores, podem sugerir também hipotiroidismo.

A presença ou ausência de TgAAs não determina, respetivamente, a presença ou não de hipotiroidismo, já que a tiroidite linfocítica não constitui a única causa de hipotiroidismo. Assim, um animal que possua as alterações descritas, acima mas que não possua TgAAs, poderá ser considerado hipotiroideu. Os restantes animais que possuam uma a duas das alterações mencionadas (por exemplo, obesidade e tT_4 diminuída), mas não um conjunto das mesmas, serão considerados saudáveis e como tal, eutiroideos.

2.7. Análise Estatística

A análise estatística foi realizada através do programa de análise estatística R (Core team, 2012). Foi realizada uma análise descritiva, com a obtenção de médias, desvio padrão, frequências, percentis 0% (mínimo), 0,25%, 97,5%, 100% (máximo) consoante a necessidade de caracterizar as variáveis. Para comparar variáveis quantitativas entre grupos foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney-Wilcoxon, uma vez que o pressuposto da normalidade das variáveis não se observou com a realização do teste de Shapiro-Wilk. A correlação das variáveis IT_4 , TSH e tT_4 entre elas e com a variável idade foi realizada através do teste de correlação de Spearman. Foram realizadas tabelas de contingência para algumas variáveis qualitativas e a avaliação da associação entre estas variáveis foi realizada através do uso do teste de Fisher. Apenas foram considerados significativos valores de $p < 0,05$.

IV. Resultados

1. Estatística descritiva

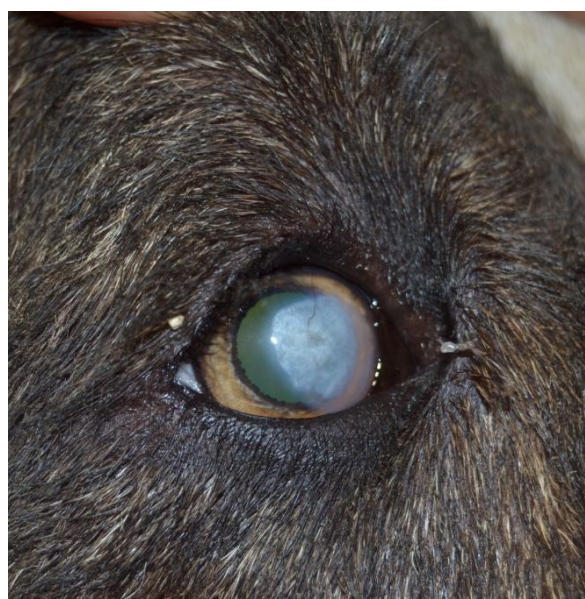
1.1. Caracterização da amostra

Dos 101 cães da raça Rafeiro do Alentejo contactados, 14 não preencheram os critérios de seleção anteriormente mencionados. Assim, este estudo abrangeu 87 animais, dos quais 75 (FR=86,23%) provieram de canis de criadores registados no CPC e 12 (FR=13,79%) pertenciam a proprietários individuais. Esta amostra foi ainda distribuída em 45 (FR=51,72%) fêmeas inteiras, 3 (FR=3,45%) fêmeas esterilizadas e 39 (FR=44,38%) machos inteiros, com uma média de 5,83 ($\pm 2,64$) anos de idade e com um máximo e mínimo de 2 e 12 anos, respetivamente (Anexo 2.).

1.2. Sinais clínicos

Através da história progressa e do exame físico verificou-se a presença de sinais clínicos implicados no hipotireoidismo em 21 cães (FR=24,14%) (Anexo 2.). A presença de alterações dermatológicas foi detetada em cerca de 14 cães (FR=16,09%). Estas incluíram a pododermite (n=5; FR=35,71%), a alopecia (n=5; FR=35,71%), as otites recorrentes (n=4; FR=28,57%), a *facies tragis* (n=2; FR=14,28%) e a pododermatite (n=1; FR=7,14%) (Figura 4). De igual modo, foram identificadas alterações metabólicas em 6 animais (FR=6,9%), com o aparecimento de ganho de peso (n=6; FR=100%), de letargia (n=2; FR=33,33%) e de intolerância ao frio (n=1; FR=16,67%). Já relativamente a alterações reprodutivas estas foram identificadas em apenas 3 animais (FR=3,45%), sendo que uma cadela (FR=33,33%) tinha sofrido aborto e dois cães (FR=66,67%) eram inférteis. Um animal (FR=1,15%) apresentou ainda uma alteração ocular sobre a forma de lipidose da córnea (Figura 5).

Figura 4: Rafeiro do Alentejo com pododermatite. **Figura 5:** Rafeiro do Alentejo com lipidose da córnea (Imagens originais).



1.3. Hemograma e Bioquímicas

No hemograma dos 87 animais, observou-se uma anemia ligeira normocítica e normocrômica em 7 animais (FR=8,05%). Relativamente ao leucograma, sete animais (FR=8,05%) apresentavam neutrofilia por aumento dos neutrófilos não segmentados e um animal (FR=1,15%) apresentava leucopenia. Observou-se ainda eosinopenia em 26 cães (FR=29,89%) e eosinofilia em 5 animais (FR=5,75%) (Anexo 2.).

Dos parâmetros bioquímicos analisados, a ALT encontrou-se diminuída em 28 animais (FR=32,18%) e aumentada em 3 animais (FR=3,45%) e a FAS diminuída em 12 animais (FR=13,79%). Observou-se também 6 animais (FR=6,9%) com colesterol aumentado, 1 animal (FR=1,15%) com colesterol diminuído e 4 animais (FR=4,6%) com triglicéridos aumentados (Anexo 3.).

1.4. Concentração de tT_4 , IT_4 e TSH

A análise da função da tireoide da amostra revelou uma média de tT_4 de $1,37 \pm 0,41 \mu\text{g/dL}$, mínimo de $0,4 \mu\text{g/dL}$ e máximo de $2,4 \mu\text{g/dL}$, de IT_4 de $1,04 \pm 0,41 \text{ ng/dL}$, mínimo de $0,2 \text{ ng/dL}$ e máximo de $2,30 \text{ ng/dL}$, e de TSH de $0,16 \pm 0,15 \text{ ng/mL}$, mínimo de $0,03 \text{ ng/mL}$ e máximo de $0,76 \text{ ng/mL}$. A tT_4 foi medida em 86 animais, verificou-se que 37 animais (FR=43,02%) possuíam concentrações abaixo dos valores de referência. As concentrações de IT_4 medidas em 85 animais, apresentaram-se diminuídas em 12 animais (FR=14,12%). Dos 83 animais a que foram determinadas concentrações de TSH, apenas 2 (FR=2,41%) apresentaram concentrações de TSH aumentadas (Anexo 3.).

2. Deteção de TgAAs

Dos 31 animais analisados, 14 cães (FR=45,16%) possuíam anticorpos antitiroglobulina (Anexo 4.). Na Tabela 2, pode observar-se o perfil dos animais selecionados relativamente ao exame físico, hemograma e bioquímicas, concentração das hormonas tiroideias e consequente presença ou ausência de anticorpos. Na Tabela 3 encontra-se a distribuição da concentração das hormonas tiroideias relativamente à presença ou ausência de anticorpos. Em 78,6% dos animais TgAAs positivos observou-se concentrações de IT_4 dentro dos intervalos de referência ($p = 6.547e^{-07}$). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas nas concentrações de tT_4 e TSH relativamente ao estatuto de TgAA.

Tabela 2: Presença de sinais clínicos, alterações do hemograma e bioquímicas, concentração das hormonas IT_4 , tT_4 e TSH dos animais TgAAs negativos e positivos.

TgAAs	Animais	Sinais Clínicos	Hemograma e Bioquímicas	[IT_4] (ng/dL)	[tT_4] (μ g/dL)	[TSH] (ng/mL)			
Negativo	101	Sim	Sim	0,2 ↓	0,4 ↓	0,76 ↑			
	77			0,2 ↓	0,52 ↓	0,41			
	2			0,58 ↓	1,2 ↓	0,36			
	75			1	1,2 ↓	0,35			
	23			1	1,3	0,05			
	44	Não	Não	0,8	0,88 ↓	0,11			
	79			1,4	1 ↓	0,15			
	8			0,43 ↓	0,82 ↓	0,1			
	34			0,58 ↓	0,86 ↓	0,07			
	72			0,59 ↓	1,2 ↓	0,21			
	96			0,58 ↓	1,1 ↓	0,6			
	29			0,55 ↓	1	0,1			
	39			0,71	0,84 ↓	0,03			
	46			0,62	1,3	0,14			
	65			0,62	1,3	0,31			
	70			1	1,7	0,47			
	99			1,1	1,5	0,08			
	Positivo			26	Sim	Não	1,1	1,1 ↓	0,26
				1			0,89	1,4	0,66 ↑
16		Não	Não	1,2	0,89 ↓	0,53			
3				1,8	1,7	0,35			
49				0,39 ↓	1 ↓	0,16			
58				0,4 ↓	1,1 ↓	0,14			
22				0,58 ↓	0,94 ↓	0,29			
4				0,81	1,2 ↓	0,12			
6				0,79	1 ↓	0,12			
7				0,66	1,2 ↓	0,23			
20				0,79	1,1 ↓	0,04			
32				0,61	0,87 ↓	0,08			
38				1,2	0,7 ↓	0,07			
67				1,1	1,1 ↓	0,24			

Legenda da tabela 2: [] – concentração; ↓ - inferior aos intervalos de referência, ↑ - superior aos intervalos de referência.

Tabela 3: Distribuição das hormonas tT_4 , IT_4 e TSH relativamente à presença ou ausência de TgAAs

TgAA	[tT_4]			[IT_4]			[TSH]		
	Inferior	Normal	Total	Inferior	Normal	Total	Superior	Normal	Total
Positivo	12 (85,7%)	2 (14,3%)	14 (100%)	3 (21,4%)	11 (78,6%)	14 (100%)	1 (7,1%)	13 (92,9%)	14 (100%)
Negativo	12 (70,6%)	5 (29,4%)	17 (100%)	8 (47,1%)	9 (52,9%)	17 (100%)	1 (5,9%)	16 (94,1%)	17 (100%)
Teste de Fisher	$p = 0,176$			$p = 0,019$			$p = 1$		

Legenda da tabelas 3: [] – concentração.

3. Hipotiroidismo clínico em cães da raça Rafeiro do Alentejo

Com base nos critérios necessários para o reconhecimento de hipotiroidismo, foram encontrados dois cães hipotiroideos clínicos (FR=2,3%), tal como pode ser observado na Tabela 4. Estes animais apresentavam 9 e 6 anos e eram, respetivamente, um macho e uma fêmea.

Tabela 4: Animais hipotiroideos e respetivos sinais clínicos, alterações do hemograma, concentração de tT₄, IT₄ e TSH e deteção de TgAAs

Animais Hipotiroideos	Sinais clínicos	Hemograma / Bioquímicas	Hormonas tiroideias			TgAAs
			[tT ₄]	[IT ₄]	[TSH]	
77	Ganho de peso, letargia, dermatites, <i>fácies tragis</i>	Aumento do colesterol e triglicéridos	0,52 ↓	0,2 ↓	0,41	Negativo
101	Ganho de peso, letargia, intolerância ao frio, alopecia, pododermatite, <i>fácies tragis</i> , <i>lipidose da córnea</i>	Anemia ligeira normocítica e normocrômica. Alterações do leucograma	0,4 ↓	0,2 ↓	0,76 ↑	Negativo

4. Animais eutiroideos

No que diz respeito aos 85 animais eutiroideos, 45 (FR=52,94%) eram fêmeas, 3 eram fêmeas castradas (FR=3,53%) e 37 (43,53%) eram machos, com um intervalo de idades entre os 2 e os 12 anos com uma média de 5,79 ± 2,65 anos. Os valores de tT₄, IT₄, TSH estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5: Valores de TSH, IT₄ e tT₄ em animais eutiroideos.

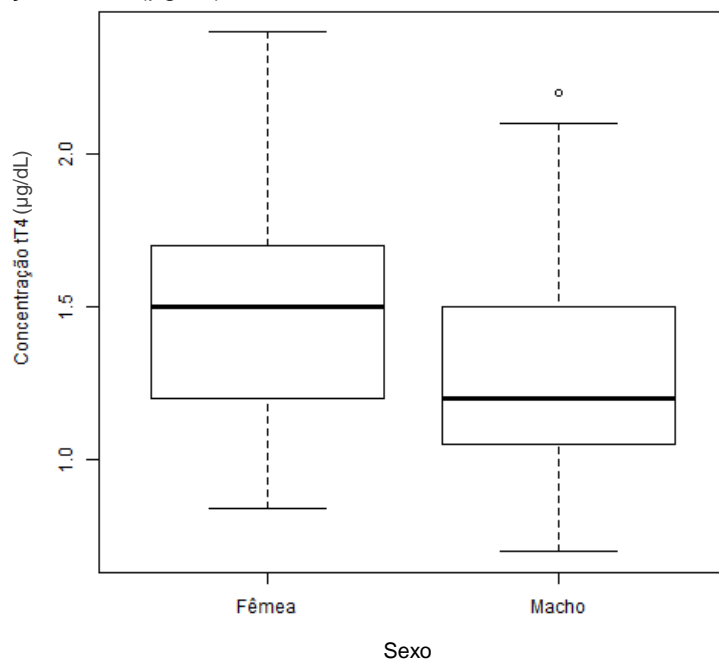
Hormonas tiroideias	Nº animais testados	Média (Desvio Padrão)	Percentil				Intervalo de referência
			0	2,5	97,5	100	
TSH (ng/mL)	81	0,15 (±0,13)	0,03	0,03	0,36	0,66	0,0 – 0,65
tT ₄ (µg/dL)	84	1,39 (±0,39)	0,70	0,84	2,10	2,4	1,3 – 2,9
IT ₄ (ng/dL)	83	1,06 (±0,40)	0,39	0,43	1,79	2,3	0,6 – 3,0

4.1. Relação dos resultados das hormonas tiroideias com o sexo e correlação com a idade

Avaliou-se a relação entre as concentrações das hormonas tiroideias e o sexo e a idade dos animais. Verificou-se uma diferença significativa ($p = 0,049$) das concentrações de tT₄ em função do sexo (Gráfico 1), com uma concentração média de tT₄ superior para as fêmeas (1,5 ± 0,40 µg/dL) comparativamente aos machos (1,2 ± 0,40 µg/dL). Para as concentrações

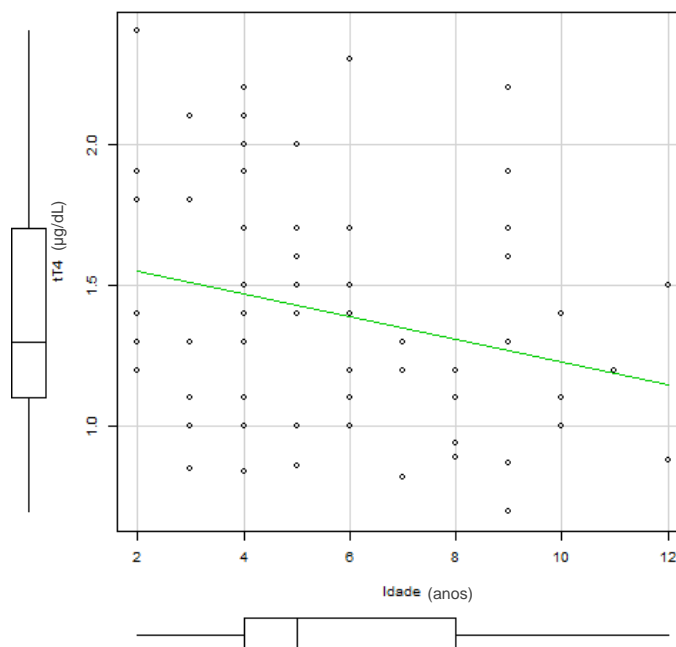
de IT_4 e TSH, não se registou nenhuma diferença estatisticamente significativa em função do sexo dos animais ($p=0,076$ e $p=0,763$, respetivamente).

Gráfico 1: Concentração de tT_4 ($\mu\text{g/dL}$) dos cães eutiroideos relativamente as fêmeas e aos machos



Verificou-se ainda uma correlação negativa ligeira (-0,24) entre a idade e os valores de tT_4 ($p = 0,026$) (Gráfico 2). Por sua vez, não se verificou uma correlação significativa entre a idade e as concentrações de IT_4 e TSH ($p=0,207$ e $p=0,753$, respetivamente).

Gráfico 2: Variação da concentração de tT_4 em relação à idade da amostra

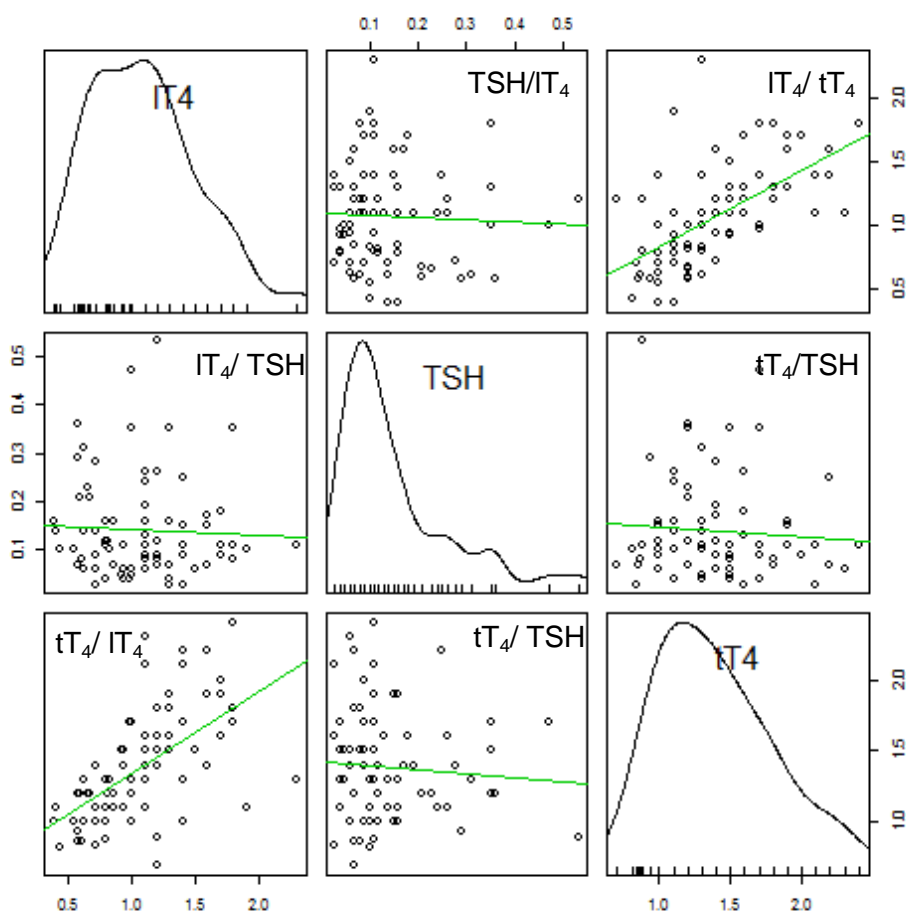


4.2. Avaliação das concentrações de tT_4 , IT_4 e TSH em animais eutiroideos

Relativamente à correlação entre as hormonas tiroideias verificou-se uma forte correlação (0,66) entre os valores da tT_4 e IT_4 ($p < 0,001$). Não se registou mais nenhuma correlação

estatisticamente significativa, relativamente aos valores de tT_4 e TSH, bem como de IT_4 e TSH, tal como se pode observar no **Gráfico 3**.

Gráfico 3: Correlação entre as concentrações de tT_4 ($\mu\text{g/dL}$), IT_4 (ng/dL) e TSH (ng/mL) da amostra de animais eutiroideus



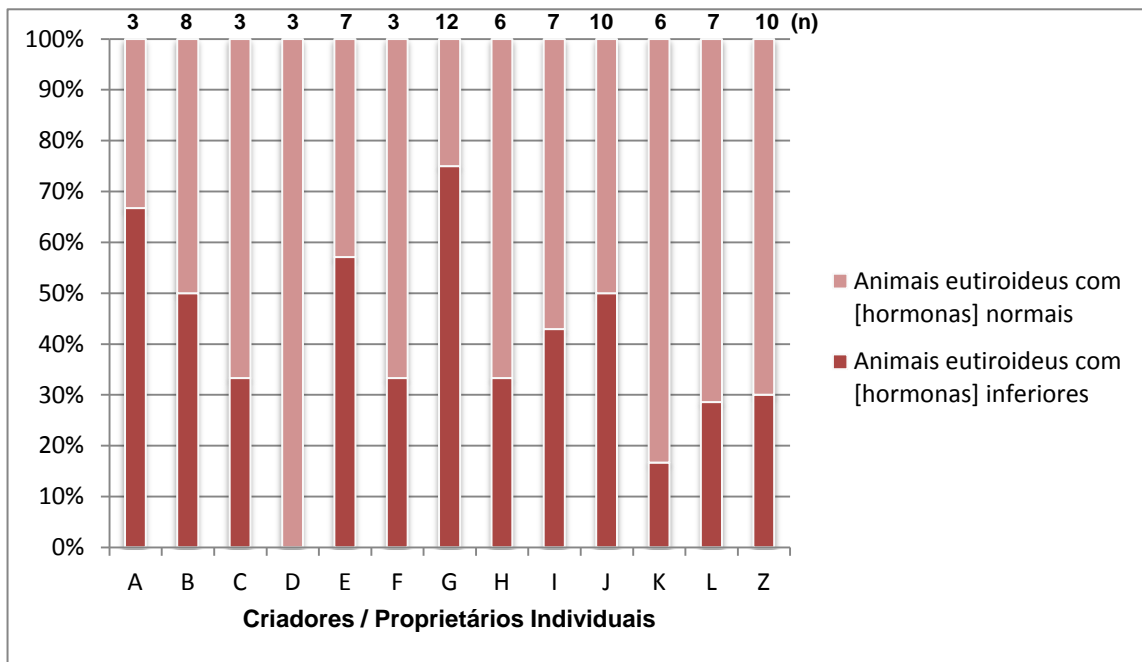
Relativamente à concentração das hormonas tiroideias obtida para os 85 cães, 35 (FR=41,67%) e 10 (FR=12,05%) cães apresentaram, respetivamente, valores de tT_4 e IT_4 inferiores aos intervalos de referência correspondentes. Apenas um cão (FR=1,23%) apresentou uma concentração de TSH superior ao intervalo de referência.

4.3. Diferença entre as concentrações de tT_4 e IT_4 e os resultados das análises clínicas, idade e origem dos animais

Os cães eutiroideus com concentrações hormonais inferiores aos intervalos de referência foram comparados com os outros animais saudáveis com concentrações hormonais dentro dos parâmetros, relativamente aos resultados do hemograma e análises bioquímicas. Não se verificou nenhuma diferença estatisticamente significativa, à exceção de uma diferença significativa entre os valores de colesterol entre os dois grupos ($p = 0,011$). O grupo dos animais eutiroideus, com concentrações normais de tT_4 e IT_4 , apresentou uma concentração média de colesterol de $226,13 \pm 69,72$ mg/dL, enquanto os animais com concentrações hormonais inferiores de tT_4 e IT_4 apresentaram uma concentração média de colesterol de $187,56 \pm 42,95$ mg/dL. Também se verificou uma diferença estatisticamente significativa ($p =$

0,017) relativamente à idade, sendo que os animais com concentrações inferiores são mais velhos, média de $6,57 \pm 2,52$ anos, que os animais com concentrações normais, média de $5,29 \pm 2,63$ anos. Comparou-se, ainda, a distribuição do número de animais com concentrações hormonais normais ou inferiores relativamente ao local de proveniência, isto é, aos canis e aos proprietários individuais (Gráfico 4). Esta análise não foi estatisticamente significativa ($p=0,453$).

Gráfico 4: Animais com concentrações de tT4 e IT4 diminuídas ou normais relativamente ao local de origem



Legenda: [] – concentração; A,B,C,D,E,F;G,H,I,J,K,L – criadores de Rafeiro do Alentejo; Z – animais pertencentes a proprietários individuais

V. Discussão

A prevalência de hipotiroidismo clínico neste estudo é de cerca 2,3%, numa amostra de 87 cães da raça Rafeiro do Alentejo. Esta amostra apresenta um intervalo de idades de 2 a 12 anos, e aproximadamente 75% da amostra encontra-se entre os 3 anos (percentil 12,5%) e os 9 anos (percentil 87,5%). Assim, tendo em conta os livros de registos da raça Rafeiro do Alentejo do CPC dos anos 2003 ao 2009, foram registados 2012 cães (CPC, 1999-2011). Desta forma, a amostra deste estudo representa cerca de 3% da população total de cães da raça Rafeiro do Alentejo registada no CPC, no referido espaço de tempo. É provável que a amostra deste estudo possa ser mais representativa, uma vez que apenas se contabilizou os animais registados sem excluir o número de óbitos.

Estes dados são inferiores aos obtidos por Ferm *et al* (2009), num estudo realizado em Schnauzeres Gigantes e Hovawarts, em que apresentaram uma prevalência de hipotiroidismo de 7,2% e 3,2%, respetivamente. Já Panciera (1994) encontrou, num estudo que englobava 66 cães hipotiroideus, um risco significativamente maior de desenvolver hipotiroidismo em cães das raças Dobermann e Golden Retrievers.

1. Sinais clínicos de hipotiroidismo e diagnósticos diferenciais em animais eutiroides

O hipotiroidismo origina sinais clínicos muito abrangentes e não patognomónicos (Scott-Moncrieff, 2007). Como tal, os sinais clínicos identificados na presente amostra podem sugerir a presença desta doença endócrina ou de outras afeções. As alterações clínicas identificadas neste estudo poderão estar sobrevalorizadas, uma vez que são aquelas mais dignas de registo para os proprietários. Não se pode esquecer que, o exame físico realizado à grande maioria destes animais, fora nas propriedades privadas, pelo que o mesmo não foi minucioso e não se pode recorrer a meios de diagnóstico complementares.

1.1. Alterações dermatológicas

A alopecia associada ao hipotiroidismo tem várias apresentações consoante as raças, devido a diferenças no ciclo do pelo e da morfologia folicular (Feldman & Nelson, 2004). Neste trabalho, um dos dois cães hipotiroideus não apresentou sinais de alopecia e o outro cão apresentou apenas alopecia nas zonas de fricção, como na zona de contacto da coleira e nas virilhas, bem como na ponta da cauda (“cauda de rato”). Este perfil sugere que estes cães, à semelhança dos cães da raça Beagle, realizem uma retenção dos pelos na fase telogénica, tal como relatado por Credille *et al* (2001). Assim, nos Rafeiros do Alentejo hipotiroideus não ocorre alopecia do tronco, mas a queda de pelos nas zonas de fricção origina alopecia. A *facies tragis* verificada nestes cães hipotiroideus (n=2) surgiu em consequência do mixedema verificado nesta doença endócrina, tal como observado por Doliger *et al* (1995).

A alopecia na base da cauda e no tronco, observada ou referida pelos proprietários dos animais (n=4) eutiroideos, pode estar relacionada com outras causas para além do hipotiroidismo. Aliás, a presença de ectoparasitas nos animais que apresentavam zonas de alopecia, devido ao ambiente que habitam, sugeriu a possibilidade da existência de dermatite alérgica à picada de pulga. Outras causas de alopecia secundária ao prurido são as infeções foliculares causadas por foliculite bacteriana, demodecose ou dermatofitose (Gough, 2007). A ocorrência de piodermites superficiais que se encontrou no cão hipotiroideu, teve como causa mais provável o *Staphylococcus pseudintermedius*, na medida em que é o agente bacteriano mais frequentemente identificado nesta doença (Feldman & Nelson, 2004). O outro animal hipotiroideu apresentou alterações compatíveis com pododermatite, pelo que esta afeção está habitualmente relacionada com outras afeções dermatológicas, as quais podem estar relacionados com o hipotiroidismo (Breathnach, Fanning, Mulcahy, Bassett & Jones, 2008). Nos restantes animais eutiroideos (n=4), a piodermite pode ter sido causada, para além de doenças endócrinas como a diabetes *mellitus*, o hipotiroidismo e o hiperadrenocorticism, por ectoparasitas, hipersensibilidade e por alterações de queratinização (Jackson & Marsella, 2012). O aparecimento de otites recorrentes (n=4) em animais eutiroideos pode estar relacionado com as mesmas causas que provocam a piodermite ou pela piodermite em si, uma vez que há lesões da epiderme com acumulação de humidade causada pela inflamação (Jackson & Marsella, 2012).

1.2. Alterações metabólicas

O ganho de peso observado em 6 cães, é uma alteração metabólica frequente no hipotiroidismo, ocorrendo em 40% dos casos meses antes da apresentação inicial da doença (Scott-Moncrieff, 2010; Mooney & Shiel, 2012). No entanto, a obesidade é cada vez mais muito comum em cães. Neste estudo, é provável que nos animais eutiroideos o ganho de peso (n=4) tenha sido devido a excesso de alimento, quer por um apetite excessivo que por um sobrealimentação (Gough, 2007; Scott-Moncrieff, 2007). A letargia e a intolerância ao frio foram duas alterações metabólicas também registadas nos cães com hipotiroidismo. Estas alterações estão associadas à diminuição da taxa metabólica que ocorre no hipotiroidismo e foram encontradas por Panciera (1994) e por Dixon *et al* (1999) em diferentes percentagens de animais, podendo este facto estar associado à gravidade da doença quando os animais foram diagnosticados (Scott-Moncrieff, 2007).

1.3. Alterações reprodutivas e alterações oculares

O aborto é uma alteração que, embora pouco documentada, já foi associada ao hipotiroidismo (Mooney & Shiel, 2012). Esta alteração, assim como a infertilidade em cadelas, está pouco descrita. Tal pode dever-se, parcialmente, à existência de uma grande

percentagem de animais castrados. Adicionalmente, em países como os Estados Unidos, as fêmeas reprodutoras são frequentemente testadas e tratadas para o hipotiroidismo numa fase jovem, prévia ao desenvolvimento de sinais clínicos de alteração da função tiroideia (Scott-Moncrieff, 2007). Porém, num estudo recente de Panciera *et al* (2012), não se verificou infertilidade nem ocorrência de aborto em cadelas com hipotiroidismo induzido. No presente estudo, encontrou-se uma cadela Rafeira do Alentejo eutiroideia com história de aborto e, como tal, é mais provável que este episódio tenha sido provocado ou por uma infeção, ou por alterações do ambiente uterino ou por uma função lútea fraca (Gough, 2007). Também se encontrou dois cães machos inférteis, os quais não apresentavam falta de libido sexual no ato. Fritz *et al* (1976) encontraram uma tendência, em animais com orquite, para apresentarem tiroidite linfocítica, sendo que estes cães eram estéreis ou tinham uma diminuição da fertilidade. Apesar de um destes animais apresentar diminuições das concentrações de tT_4 e IT_4 e uma concentração de TSH próxima do limite superior, este não apresentava um aumento de TgAAs em circulação. Assim esta apresentação não está de acordo com Fritz *et al* (1976), pelo que, outro processo para além do hipotiroidismo poderá ser a causa desta alteração. Assim, nestes casos, a diminuição da fertilidade pode dever-se a uma falha na ejaculação completa, por desconforto ou stress durante a cobrição ou por um “nó” inadequado. Embora o exame andrológico e microscópico do esperma não fossem conhecidos, devido ao grau de parentesco entre estes dois cães, poderá estar também na origem deste processo uma anomalia genética na espermatogénese (Gough, 2007). O aparecimento de lipidose córnea num dos cães hipotiroideus (nº101) apresenta-se em concordância com os 5 casos encontrados em animais hipotiroideus, em consequência da infiltração de material lipídico nas zonas periféricas da córnea e perilimbar (Crispin & Barnett, 1978).

2. Alterações laboratoriais em cães hipotiroideus e eutiroideus

Foi encontrada a presença de anemia normocítica e normocrómica em 6 animais eutiroideus, a qual é indicativa de anemia não-regenerativa ou pré-regenerativa (Duncan, Prase & Mahaffey, 1994). Estes animais, embora eutiroideus, apresentavam todos diminuição da concentração de tT_4 , mas sem alterações das concentrações de IT_4 ou de TSH. Uma vez que não foram encontradas indicações de hemorragia aguda ou hemólise, é pouco provável que estas anemias sejam pré-regenerativas (Duncan, Prase & Mahaffey, 1994). Um dos dois cães hipotiroideus apresentou uma anemia não regenerativa, o que corrobora com a teoria da falta de estimulação da medula óssea provocada pela deficiência em hormonas tiroideias de animais hipotiroideus (Green & Ng, 1988; Sainteny *et al*, 1990). Tal como verificado por Panciera (1994) e por Dixon *et al* (1999) em 32% e em 44% dos cães hipotiroideus, respetivamente.

Relativamente à neutrofilia observada em 7 animais eutiroideus, esta pode estar relacionada com o *stress* a que estes animais foram submetidos durante a manipulação. No entanto, apesar destes cães não apresentarem mais nenhuma alteração digna de registo, esta neutrofilia pode também ter como causas principais as afeções inflamatórias ou as afeções neoplásicas (Nelson & Couto, 1998). De igual modo, o *stress* pode também justificar a eosinopenia registada nos 26 animais, podendo esta alteração estar também relacionada com outras causas como a infeção ou a inflamação aguda (Gough, 2007). Nos 5 animais que apresentavam eosinofilia, as causas mais prováveis devido ao habitat em que a maioria dos animais estava inserido, são a infeção por parasitas ou a reação imunomediadas por atopia, por alergia à picada de pulga ou por alergia alimentar (Gough, 2007). Uma vez que os animais com eosinofilia não apresentavam alterações dermatológicas, considerou-se a infeção parasitária a causa mais provável.

No que diz respeito ao perfil bioquímico, dever-se-ia ter utilizado o doseamento de CK e de frutossamina (Reusch *et al*, 2002; Mooney & Shiel, 2012). No entanto, por motivos financeiros, apenas foi possível analisar a ALT, a FAS, o colesterol e os triglicéridos. As medições da ALT e da FAS, embora sejam importantes indicadores de lesão hepática, têm uma utilidade limitada no diagnóstico de hipotiroidismo, porque podem ser encontradas em variadas doenças não tiroideias (Feldman & Nelson, 2004; Mooney & Shiel, 2012). A diminuição de ALT e de FAS, em 28 e 12 animais respetivamente, pode dever-se a variações normais da raça, uma vez que estes animais não apresentavam outros sinais de doença hepática crónica ou de deficiência nutricional (Gough, 2007). Os 3 animais nos quais se observou uma concentração aumentada de ALT não apresentavam mais nenhuma alteração hematológica e bioquímica. Por esta razão, este aumento pode dever-se a artefactos, como a hemólise que poderá ter ocorrido no processo de transporte, de centrifugação, de congelação e de descongelação. Esta alteração, porém, pode estar também relacionada a doenças hepáticas, pelo que seria aconselhável repetir-se este parâmetro nestes animais. Nos dois animais com hipotiroidismo apenas se verificou um aumento da concentração de colesterol e triglicéridos num dos cães. Dois estudos observaram uma maior prevalência de hipotiroidismo em cães com aterosclerose (Liu, Tilley, Tappe & Fox, 1986; Hess *et al*, 2003). Panciera (1994) e Dixon *et al* (1999) verificaram que 88% dos cães hipotiroideus apresentavam aumento de triglicéridos e 73-78% um aumento de concentração de colesterol. Nos restantes animais que apresentavam aumento do colesterol (n=5) e de triglicéridos (n=3), para além das doenças que provocam hiperlipidémia secundária, é possível tratar-se de uma alteração pós-prandial (Gough, 2007).

3. Diagnóstico de hipotiroidismo

A realização de testes de diagnóstico da tiroide, nem sempre resulta num diagnóstico definitivo. Os estados iniciais da alteração da função da tiroide podem resultar em resultados

discordantes e confusos. Para além do mais, embora não estejam disponíveis, os testes laboratoriais deviam ser, idealmente, interpretados com intervalos normais específicos para cada raça (Ferguson, 2007).

No presente trabalho, utilizou-se para diagnóstico de hipotiroidismo a combinação da medição de tT_4 e TSH, que têm conjuntamente uma sensibilidade de 75% e uma especificidade de mais de 90% (Mooney & Shiel, 2012). Também se determinaram as concentrações de IT_4 , que é menos afetado que a tT_4 pelas doenças não tiroideias e por fármacos, sendo por isso mais específica. No entanto, devido a limitações financeiras, não foi possível realizar a medição através do método de diálise de equilíbrio. De acordo com os autores Mooney e Shiel (2012), os métodos de medição de IT_4 que não usam diálise, não medem diretamente a fração livre de T_4 . Por este motivo, neste estudo, a medição de IT_4 pode ter sido influenciada pela presença de TgAAs, uma vez em 78,6% dos animais TgAAs positivos se observou concentrações de IT_4 dentro dos intervalos de referência.

4. Concentrações diminuídas de tT_4 e IT_4 em Rafeiros do Alentejo clinicamente eutiroideus

À exceção dos dois animais considerados hipotiroideus, os restantes 85, foram considerados eutiroideus, dos quais 35 (41,67 %) animais apresentavam uma diminuição das concentrações de tT_4 . Estes últimos foram assim classificados, uma vez que não apresentavam sintomatologia clínica, alterações do hemograma e perfil bioquímico e aumento da concentração de TSH. Embora todos os animais da amostra cumprissem os critérios de inclusão, não se deve excluir a possibilidade da ocultação, pela parte dos proprietários, da administração de determinados fármacos. Como se referiu anteriormente, a utilização de certos fármacos tem potencial de induzir alterações nos resultados dos testes de função da tiroide (Mooney & Shiel, 2012). Esta hipótese deve ser tida em consideração na obtenção de valores de concentração de tT_4 diminuídos em animais desta amostra, supostamente, saudáveis. Neste estudo, não foi também possível avaliar-se a nutrição dos animais, que pode influenciar igualmente a concentração de hormonas tiroideias nos animais (Castillo *et al*, 2001; Johansson, 2011).

Não se verificou diferenças dignas de registo relativamente aos sinais clínicos e a alterações do hemograma e do perfil bioquímico entre os animais eutiroideus com concentrações hormonais normais e os animais eutiroideus com diminuição das concentrações de tT_4 . Apesar destes animais apresentarem diminuição da concentração de tT_4 , não manifestaram sinais de hipotiroidismo clínico, o que sugere uma alteração fisiológica, uma vez que esta diminuição não parece influenciar os múltiplos processos metabólicos controlados pelas hormonas tiroideias (Mooney & Shiel, 2012). Apenas se observou em 10 (12,05%) animais uma diminuição da concentração de IT_4 a abaixo dos níveis de referência e, todos estes apresentavam igualmente uma diminuição da concentração de tT_4 . A diminuição da

concentração de tT_4 relativamente a grupos controlo de animais de outras raças ou mesmo aos intervalos de referência, foi também verificada em cães da família dos Galgos, incluindo o Galgo Inglês, o Whippet, o Saluki e o Sloughis, cães da raça Basenji, assim como em cães de trenós, Malamute do Alasca e Husky Siberiano (Gaughan & Bruyette, 2001; Hill *et al*, 2001; Lee *et al*, 2004; van Geffen *et al*, 2006; Shiel *et al*, 2007; Panakova *et al*, 2008; Seavers *et al*, 2008; Shiel *et al*, 2010). Porém, só em Galgos Ingleses e em Salukis foram encontradas, à semelhança deste estudo, uma diminuição da concentração de IT_4 , embora em menor dimensão que a diminuição de tT_4 (Gaughan & Bruyette, 2001; Shiel *et al*, 2010). Estes autores referem também, que as concentrações de TSH permanecem inalteradas nestas raças, pelo que nos Rafeiros do Alentejo também não se verificou aumento das concentrações de TSH, à exceção de um cão. A presença de diferenças nas concentrações das proteínas plasmáticas, bem como uma maior eficiência na conversão de T_4 em T_3 ou uma maior sensibilidade do mecanismo retroalimentação negativo, que resulta na diminuição das concentrações basais tT_4 e IT_4 , podem estar na génese destes valores (Gaughan & Bruyette, 2001). Porém, neste estudo não foram medidas as concentrações de proteínas plasmáticas. A possibilidade de uma maior conversão de T_4 em T_3 no Rafeiro do Alentejo, não pode também ser avaliada, uma vez que não se realizou medição da T_3 .

Nos cães de trenó, a diminuição das concentrações de tT_4 e IT_4 são, normalmente, respostas fisiológicas ao aumento da taxa metabólica associada à corrida. Assim, a redução das concentrações destas hormonas está possivelmente relacionada a alterações fisiológicas associadas ao exercício prolongado e repetitivo, à exposição ao frio e aos fatores dietéticos (Lee *et al*, 2004). No presente estudo em Rafeiros do Alentejo, os cães não estavam sujeitos a estas condições físicas.

Conhece-se também que os cães de raças grandes e médias têm geralmente valores fisiológicos menores de tT_4 comparativamente com os de raças pequenas (Reimers *et al*, 1990). Os cães da raça Rafeiro do Alentejo atingem pesos na ordem dos 45 a 60 kg nos machos e dos 35 a 50 kg nas fêmeas (CPC, 2008). Assim, devido a serem cães de grande estatura, esta raça pode apresentar valores fisiologicamente inferiores de hormonas tiroideias. Com efeito, encontrou-se, nesta raça, concentrações médias de $1,39 \pm 0,39 \mu\text{g/dL}$ de tT_4 , de $1,06 \pm 0,40 \text{ ng/dL}$ de IT_4 e de $0,15 \pm 0,13 \text{ ng/mL}$ de TSH, sendo que os intervalos de referência são 1,3 – 2,9, 0,6 – 3,0, 0,0 – 0,65, respetivamente

A idade é também considerada um fator não-patológico capaz de influenciar a concentração de tT_4 , pelo que Reimers *et al* (1990) encontraram em cães com mais de 6 anos valores médios significativamente inferiores aos cães com menos de um ano de idade. Assim, com o intuito de eliminar a influência da idade e de criar um estudo populacional em que os testes de função da tiroide fossem clinicamente relevantes, neste projeto só foram incluídos animais com mais de 2 anos. Porém, à semelhança do estudo de Reimers e colaboradores

(1990), no presente trabalho, verificou-se uma diminuição estatisticamente significativa da concentração de tT_4 com o aumento da idade.

A fase do ciclo éstrico pode igualmente influenciar os valores de tT_4 . A concentração de tT_4 é superior em fêmeas no diestro ou grávidas, comparativamente às fêmeas noutras fases do ciclo reprodutivo como o anestro, o pro-éstro e no período pós-parto e aos machos inteiros (Reimers, Mummery, Mc Cann, Cowan & Concannon, 1984). No presente estudo, apesar de não terem sido incluídas fêmeas grávidas, não foi analisado o estado do ciclo reprodutivo em que as fêmeas se encontravam. Em consequência, nesta amostra é possível que a concentração média superior de tT_4 registada nas fêmeas comparativamente aos machos possa estar relacionada, em parte, com a presença hipotética de fêmeas em diestro. Um estudo desenvolvido em cães saudáveis da raça Saluki, em que não foi controlado a fase do ciclo éstrico das fêmeas, registou também um aumento de concentração de tT_4 em fêmeas relativamente aos valores dos machos, o que está de acordo com os resultados obtidos para os Rafeiros do Alentejo (Shiel *et al*, 2010).

Assim, este fenómeno, possivelmente fisiológico, das concentrações de T_4 em cães Rafeiros do Alentejo, pode induzir um diagnóstico equívoco de hipotiroidismo, caso não seja realizado mais nenhum teste diagnóstico. Em consequência, existe a possibilidade destes animais serem erradamente suplementados com terapêutica hormonal ou serem excluídos como reprodutores. Desta forma, como estes animais não mostravam sinais clínicos de doença tiroideia, assim como não apresentavam alterações da concentração de TSH, propõe-se, à semelhança de outras raças, intervalos de referência específicos para esta raça. Estes valores foram obtidos a partir dos percentis 2,5th e 97,5th, com base na distribuição dos animais saudáveis deste estudo e encontram-se descritos na Tabela 6.

Tabela 6: Intervalos de referência de tT_4 , IT_4 e de TSH para cães da raça Rafeiro do Alentejo

Hormonas tiroideias	Nº animais testados	Média (Desvio Padrão)	Intervalo de referência Rafeiros do Alentejo	Intervalo de referência laboratoriais
TSH (ng/mL)	79	0,14 (0,10)	0,03 – 0,37	0,0 – 0,65
tT_4 (μ g/dL)	82	1,39 (0,39)	0,84 – 2,2	1,3 – 2,9
IT_4 (ng/dL)	81	1,06 (0,40)	0,43 – 1,8	0,6 – 3,0

Idealmente, as concentrações hormonais destes animais deveriam ter sido comparadas com os valores obtidos para um conjunto de animais saudáveis de outras raças e com os intervalos de referência já estabelecidos. Devido a limitações orçamentais, neste projeto os resultados obtidos foram apenas comparados com os intervalos de referência atribuídos pelo laboratório de endocrinologia e reprodução da FMV-UTL.

5. Frequência de TgAAs em Rafeiros do Alentejo

Embora o teste de ELISA para detecção de TgAAs utilizado seja altamente sensível e específico, a verdadeira sensibilidade e especificidade deste teste está dependente de uma comparação dos resultados com biópsias de cães saudáveis e com doença da tireoide (Graham *et al*, 2001b). Neste trabalho, não foi possível realizar biópsias aos cães testados para TgAAs, devido à relutância dos proprietários em realizar um procedimento desnecessário aos seus animais, maior parte deles reprodutores e de exposição.

Vários estudos analisados por Graham e colaboradores (2001b) indicam que aproximadamente 50% dos cães hipotiroideos têm TgAAs. É baseado nestes resultados, que se afirma que a tiroidite linfocítica ocorre em 50% ou mais dos cães hipotiroideos. Porém, a contribuição da tiroidite linfocítica no desenvolvimento do hipotiroidismo varia de raça para raça. Num estudo com 29 cães hipotiroideos da raça Boxer, 79% apresentaram anticorpos, mas em apenas 27% de 47 cães da raça Dobermann foram detetados TgAAs (Graham *et al*, 2001b). Dos dois Rafeiros do Alentejo com hipotiroidismo, não se observou em nenhum deles (0%) a presença de TgAAs.

A presença de TgAAs em animais eutiroideos clínicos também varia de acordo com as raças, o que suporta a natureza familiar genética da tiroidite linfocítica. Estes autores, apresentaram os resultados de medições de TgAAs em 51201 animais, registando uma frequência média de 7,9%, sendo que a raça com maior frequência é o Setter Inglês (26%) e a terceira com menor frequência o Schnauzer Miniatura (1,2%) (Graham *et al*, 2001b). Ferm *et al* (2009) encontrou em cães Schnauzer Gigante e Hovawarts uma frequência de TgAAs de 9,1% e 3,3%, respetivamente.

A frequência de THAA é maior em cães hipotiroideos com TgAAs do que em cães normais que apresentam TgAAs. Este fator pode sugerir que cães com THAAs e, conseqüentemente, com TgAAs, apresentam um risco ligeiramente maior de desenvolver hipotiroidismo do que os cães com apenas TgAA (Graham *et al*, 2001b). No presente estudo, a presença ou ausência de THAAs não foi testada.

A frequência de TgAAs obtida para 31 cães da raça Rafeiro do Alentejo foi de 45,16%, valor este muito superior em relação aos descritos por Graham *et al* (2001b) e Ferm *et al* (2009). A frequência obtida de TgAAs pode não ser representativa e extrapolada a toda a amostra, devido ao enviesamento das amostras. Partindo do pressuposto que os restantes 56 animais, não analisados, não apresentassem anticorpos, a frequência hipotética de TgAAs nesta amostra seria de cerca de 16%. Desta forma, comparando a frequência calculada ou a frequência hipotética do atual trabalho com os resultados apresentados por Graham e colaboradores (2001b) e Ferm *et al* (2009), o Rafeiro do Alentejo encontra-se entre as raças com maior frequência de TgAAs. Estes resultados teriam maior credibilidade e significado se tivesse sido possível realizar a detecção de TgAAs em todos os cães da amostra.

Desde o começo da tiroidite linfocítica até ao aparecimento de hipotiroidismo clínico, os animais progridem por vários estádios (Graham *et al*, 2001b). Como tal, de acordo com os resultados analisados juntamente com a presença de sinais clínicos, alterações do hemograma e parâmetros bioquímicos, bem como concentrações de tT_4 , IT_4 e TSH, pretendeu-se verificar em que estadio se encontravam os animais avaliados. No entanto, deve ser tida em consideração a possível tendência fisiológica do Rafeiro do Alentejo possuir concentrações de tT_4 e IT_4 inferiores aos parâmetros normais, na inserção destes animais nos seguintes estádios que seguidamente se descrevem:

- Tiroidite subclínica ou silenciosa: propõe-se que 13 dos 14 animais com TgAAs se encontrem neste estadio. No entanto, nesta fase as hormonas tiroideias deveriam estar dentro dos intervalos de referência. A diminuição da concentração de tT_4 e IT_4 na maioria destes animais poderá, assim, estar associada a uma situação fisiológica do Rafeiro do Alentejo.
- Hipotiroidismo subclínico anticorpos-positivo: apenas um animal (nº 1) parece corresponder a este estadio, uma vez que apresentava TgAAs, aumento da concentração da TSH, sem alterações da concentração de tT_4 e IT_4 .
- Hipotiroidismo anticorpos-positivo: nenhum animal apresenta resultados compatíveis com este estadio, no qual se espera uma presença de TgAAs com diminuição de tT_4 , aumento da TSH e presença de sinais clínicos de hipotiroidismo.
- Hipotiroidismo não inflamatório atrófico: dois animais (nº 77 e 101) apresentam-se, possivelmente, nesta fase, caracterizada por uma ausência de TgAAs e um perfil laboratorial hipotiroideu. Embora o animal nº77 não apresente um aumento de TSH, de acordo com os intervalos de referência não específicos, tal pode estar relacionado com a presença prolongada desta doença, uma vez que este animal apresentou sintomatologia clínica de hipotiroidismo, bem como uma forte diminuição das concentrações de tT_4 e IT_4 . Embora, se tenha inserido estes animais no último estadio do desenvolvimento de tiroidite linfocítica, há uma probabilidade idêntica deste animais apresentarem atrofia idiopática da tiroide. Porém, a certeza deste diagnóstico só pode ser alcançada através da realização de biópsia.

É necessário reconhecer que nem todos os animais com TgAAs vão progredir para o desenvolvimento de hipotiroidismo clínico, mantendo-se num estado de tiroidite subclínica (Graham *et al*, 2001b). Graham *et al* (2001a) verificaram que cerca de 57% dos animais se mantiveram num estadio de tiroidite subclínica e que uma pequena percentagem dos animais com TgAAs podem, posteriormente, deixar de apresentar estes anticorpos. Esta situação pode estar associada à presença de uma fase de tiroidite transitória, que ocorre no Homem, mas que ainda não foi determinada no Cão. Como tal, enquanto não for definida a presença de tiroidite transitória no cão, estes resultados podem estar associados a resultados iniciais falsos-positivos. Assim, a presença de resultados de TgAAs transitórios

dificulta a interpretação deste teste, principalmente quando são usados para rastreio genético (Graham *et al*, 2001b).

Graham e colaboradores (2001a) verificaram que aproximadamente 20% dos animais, que apresentavam evidências laboratoriais de tiroidite subclínica, desenvolveram alterações da função da tiroide após 1 ano. Um estudo realizado em cães da raça Borzoi registou a progressão de 2 em 10 cães para um estadio de hipotiroidismo passados 2 anos (Conaway *et al*, 1985). Desta forma, no presente trabalho, seria aconselhável repetir os testes realizados após 1-2 anos, com o intuito de se verificar uma progressão ou não dos estadios onde os animais foram inseridos.

À semelhança de outros estudos em populações de cães saudáveis, este trabalho sugere que a tiroidite linfocítica é uma afeção comum em cães. Num estudo em animais saudáveis identificou-se mais de 2% de animais com TgAAs (Nachreiner *et al*, 1998), enquanto outro verificou uma frequência de 2,8% (Dixon & Mooney, 1999a). Porém, no presente estudo, os cães saudáveis Rafeiro do Alentejo apresentam uma frequência pelo menos 5 vezes superior, ainda que hipotética, sugerindo que uma predisposição genética da raça para a tiroidite linfocítica.

A predisposição dos cães da raça Rafeiro do Alentejo para a tiroidite linfocítica pode estar associada a homozigotia causada pela endogamia presente na criação de animais de raça pura (Karlsson & Lindbland-Toh, 2008; Wilbe *et al*, 2010). Embora se tenham comparado os cães eutiroideos Rafeiros do Alentejo com concentrações de tT_4 e IT_4 normais e diminuídas em relação ao local de origem, não foi possível encontrar uma diferença estatisticamente significativa, possivelmente devido ao reduzido número de animais para cada canil.

Na história desta raça, é reconhecido um período em que esta esteve praticamente extinta, podendo ter contribuído para a endogamia (Vasconcelos, 1995). Esta raça pode ter tido como ancestrais o Cão Serra da Estrela e o Mastim Espanhol, e fenotipicamente é muito semelhante ao Cão de Gado Transmontano. Um estudo genético revelou que não existe diferenciação genética entre o Rafeiro do Alentejo e o Cão Serra da Estrela, o que reforça o facto de estas raças partilharem um mesmo *pool* genético. Relativamente a uma relação genética com o Cão de Gado Transmontano, embora seja morfológicamente idêntico ao Rafeiro do Alentejo, são raças geneticamente distintas (Pires *et al*, 2009). Desta forma, seria interessante transpor este estudo para a raça Serra da Estrela, com o intuito de se verificar ou não as mesmas alterações que se registaram neste trabalho.

Cada vez mais, principalmente em Países como os Estados Unidos e o Reino Unido, os criadores testam precocemente possíveis reprodutores com base na possível hereditariedade desta doença. Porém, como verificado no cão Rafeiro do Alentejo, a verificação de resultados anormais, baseados na interpretação de parâmetros de referência inapropriados que não têm em consideração a raça do animal, podem conduzir à exclusão desnecessária de animais saudáveis (Ferguson, 2007).

VI. Conclusão

O diagnóstico de hipotireoidismo em cães é difícil e pouco objetivo. Em consequência, ao longo deste estudo, a escolha dos métodos de diagnóstico representou um desafio, bem como a interpretação dos resultados dos mesmos.

A determinação da prevalência de hipotireoidismo em cães da raça Rafeiro do Alentejo foi o principal objetivo deste trabalho, pelo que, se verificou que 2,3% da amostra estudada apresentam hipotireoidismo. Nesta raça observou-se ainda uma grande percentagem de 41,67% e 12,05% de animais eutiroideus com diminuições, possivelmente fisiológicas, das concentrações das hormonas tT_4 e IT_4 , respetivamente. Assim, à semelhança de outras raças, os intervalos específicos determinados para o Rafeiro do Alentejo foram de 0,84-2,2 $\mu\text{g/dL}$ para a tT_4 , de 0,43-1,8 ng/dL para a IT_4 e de 0,03 – 0,37 ng/mL para a TSH. Observou-se, igualmente, uma influência, estatisticamente significativa, da concentração de tT_4 em função da idade e do sexo destes animais. Porém, os resultados mais expressivos deste trabalho foram no âmbito da deteção de TgAAs em cães considerados eutiroideus, em que 45,16% dos 31 animais analisados eram TgAAs positivos.

Embora a extrapolação dos resultados, para a amostra deste estudo e posteriormente para a raça no geral, não seja perfeita, este trabalho apresentou resultados cientificamente relevantes, que deveriam ter continuação. Assim, na sequência deste trabalho para perspetivas futuras, propõe-se:

- A deteção de TgAAs para os restantes 56 animais, com vista a uma relação entre a origem dos animais e possível endogamia
- A avaliação dos haplótipos mais frequentemente associados a hipotireoidismo dos genes DLA-DRB1, - DQA1 e - DQB1, tanto nos dois animais hipotiroideus como nos 14 que apresentaram TgAAs
- A realização de um estudo semelhante em cães da raça Serra da Estrela, devido à partilha de um passado ancestral com o Rafeiro do Alentejo e às semelhanças genéticas registadas entre as duas raças.

Por fim, distingue-se a realização de estudos como este em raças nacionais, no sentido de um melhor conhecimento científico destas raças e de uma contribuição para o desenvolvimento e criação de cães de raças nacionais.

VIII. Bibliografia

- Alpoim, J.A. (1999). *O Rafeiro do Alentejo, Monografia da Raça*. Monforte: Câmara Municipal de Monforte.
- Angles, J.M., Kennedy, L.J. & Pedersen, N.C. (2005). Frequency and distribution of alleles of canine MHC-II DLA-DQB1, DLA-DQA1 and DLA-DRB1 in 25 representative American Kennel Club breeds. *Tissue Antigens*, 66, 173-184
- Armengol, M. P., Juan, M., Lucas-Martín, A., Fernández-Figueras, M. T., Jaraquemada, D., Gallart, T., & Pujol-Borrell, R. (2001). Thyroid Autoimmune Disease. *Am J Pathol*, 159 (3), 861–873.
- Avgeris, S., Lothrop Jr, C.D. & McDonald, T.P. (1990). Plasma von Willebrand factor concentration and thyroid function in dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 196 (6), 921-924.
- Beghi, E., Delodovici, M.L., Bogliun, G., Crespi, V., Paleari, F., Gamba, P., Capra, M. & Zarrelli, M. (1989). Hypothyroidism and polyneuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 52, 1420-1423.
- Behrend, E. N., Kemppainen, R. J., & Young, D. W. (1998). Effect of storage conditions on cortisol, total thyroxine, and free thyroxine concentrations in serum and plasma of dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 212 (10), 1564–1568.
- Benjamin, S.A., Stephens, L.C., Hamilton, B.F., Saunders, W.J., Lee, A.C., Angleton, G.M. & Mallinckrodt, C. H. (1996). Associations between lymphocytic thyroiditis, hypothyroidism, and thyroid neoplasia in beagles. *Vet Pahtol*, 33 (5), 486-494.
- Betterle, C. & Zanchetta, R. (2003). Update on autoimmune polyendocrine syndrome (APS). *Acta Bio Medica*, 74, 9-33.
- Blanchin, S., Estienne, V., Durand-Gorde, J-M., Carayon, P., Ruf, J. (2003). Complement activation by direct C4 binding to thyroperoxidase in Hashimoto's Thyroiditis. *Endocrinology*, 144 (12), 5422-5429.
- Blois, S.L., Dickie, E., Kruth, S.A. & Allen, D.G. (2011). Multiple endocrine diseases in dogs: 35 cases (1996-2009). *J Am Vet Med Assoc*, 238 (12), 1616-1621.
- Boretti, F. S., Sieber-Ruckstuhl, N. S., Favrot, C., Lutz, H., Hofmann-Lehmann, R., & Reusch, C. E. (2006). Evaluation of recombinant human thyroid-stimulating hormone to test thyroid function in dogs suspected of having hypothyroidism. *Am J Vet Res*, 67 (12), 2012–2016.
- Breathnach, R. M., Fanning, S., Mulcahy, G., Bassett, H. F., & Jones, B. R. (2008). Canine pododermatitis and idiopathic disease. *Vet J*, 176 (2), 146–157.
- Brenner, K., Harkin, K. & Schermerhorn, T. (2009). Iatrogenic, sulphonamide-induced hypothyroidism crisis in a Labrador Retriever. *Aust Vet J*, 87 (12), 503-505.
- Brix, T.H., Kyvik, K.O. & Hegedüs, L. (2000). A population-based study of chronic autoimmune hypothyroidism in Danish twins. *J Clin Endocrinol Metab*, 85 (2), 536-539.
- Brömel, C., Pollard, R. E., Kass, P. H., Samii, V. F., Davidson, A. P., & Nelson, R. W. (2005). Ultrasonographic evaluation of the thyroid gland in healthy, hypothyroid, and euthyroid Golden Retrievers with nonthyroidal illness. *J Vet Int Med*, 19 (4), 499–506.

- Brown, T.R., Sundick, R.S., Dhar, A., Sheth, D. & Bagchi, N. (1991). Uptake and metabolism of iodine is crucial for the development of thyroiditis in obese strain chickens. *J Clin Invest*, 88 (1), 106-111.
- Burek, C.L. & Talor, M.V. (2009). Environmental triggers of autoimmune thyroiditis. *J Autoimmun*, 33 (3-4), 183-189.
- Calvert, C. A., Jacobs, G. J., Medleau, L., Pickus, C. W., Brown, J., & McDermott, M. (1998). Thyroid-Stimulating Hormone Stimulation Tests in Cardiomyopathic Doberman Pinschers: A Retrospective Study. *J Vet Intern Med*, 12 (5), 343-348.
- Cambell, K.I. & Davis, C.A. (1990). Effects of thyroid hormones on serum and cutaneous fatty acid concentrations in dogs. *Am J Vet Res*, 51 (5), 752.
- Carter, G.R., Scott-Moncrieff, J.C., Luescher, A.U. & Moore, G. (2009). Serum total thyroxine and thyroid stimulating hormone concentrations in dogs with behavior problems. *J Vet Behavior*, 4 (6), 230-236.
- Castillo, V.A., Lalia, J.C., Junco, M., Sartorio, G., Márquez, A., Rodriguez & M.S., Pisarev, M.A. (2001). Changes in thyroid function in puppies fed a high iodine commercial diet. *Vet J*, 161 (1), 80-84.
- Chiovato, L., Bassi, P., Santini, F., Mammoli, C., Lapi, P., Carayon, P. & Pinchera, A. (1993). Antibodies producing complement-mediated thyroid cytotoxicity in patients with atrophic or goitrous autoimmune thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab*, 77 (6), 1700-1705.
- Choi, E.W., Shin, I.S., Bhang, D.H., Lee, D.H., Bae, B.K., Kang, M.S., Kim, D.Y., Hwang, C.Y., Lee, C.W. & Youn, H.Y. (2006). Hormonal change and cytokine mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells during the development of canine autoimmune thyroiditis. *Clin Exp Immunol*, 146, 101-108.
- Conaway, D.H., Padgett, G.A., Bunton, T.E., Nachreiner, R. & Hauptman, J. (1985). Clinical and histological features of primary progressive, familial thyroiditis in a colony of Borzoi dogs. *Vet Pathol*, 22, 439-446.
- CPC (1999-2011). *Registos individuais por raça*. Acedido em 5 Agosto, 2012, disponível em: <http://www.cpc.pt/?registos/estatisticas,pt>
- CPC (2008). *Rafeiro do Alentejo*. Acedido em 25 Janeiro, 2012, disponível em: <http://racas.cpc.pt/pt/cur/raf.pdf>
- Credille, K.M., Lupton, C.J., Kennis, R.A., Maier, R.L., Dziezyc, J., Castle, S., Reinhart, G.A., Davenport, G.M., Dunstan, R.W. (2000). The role of nutrition on the canine hair follicle: a preliminary report. In: Reinhart, G.A., Carey, D.P. *Recent advances in canine and feline nutrition* (Volume III, 37-54). Wilmington, OH: Orange Frazer Press. 37-54. Acedido em 3 de Abril, 2012, disponível em: <http://sanangelo.tamu.edu/files/2011/11/R144-The-Role-of-Nutrition-on-the-Canine-Hair-Follicle-A-Preliminary-Report.pdf>
- Credille, K.M., Slater, M.R., Moriello, K.A., Nachreiner, R.F., Tucker, K.A. & Dunstan, R.W. (2001). The effects of thyroid hormones on the skin of beagle dogs. *J Vet Intern Med*, 15 (6), 539-546.
- Crispin, S. M., & Barnett, K. C. (1978). Arcus lipoides corneae secondary to hypothyroidism in the Alsatian. *J Small Anim Prac*, 19(1-12), 127-142.

- Cunningham, J.G. (2002). *Tratado de Fisiologia Veterinária* (3ª edição). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Daminet, S. (2010). Canine hypothyroidism: update on diagnosis and treatment. *Eur J Comp Anim Pract*, 20 (2), 193-197. Acedido em 3 de Setembro 2012, disponível em: http://www.fecava.org/sites/default/files/ejcap_20_2.pdf#page=86
- Daminet, S., & Ferguson, D. C. (2003). Influence of drugs on thyroid function in dogs. *J Vet Intern Med*, 17 (4), 463–472.
- Daminet, S., Fifle, L., Paradis, M., Duchateau, L., & Moreau, M. (2007). Use of recombinant human thyroid-stimulating hormone for thyrotropin stimulation test in healthy, hypothyroid and euthyroid sick dogs. *Can Vet J*. 48 (12), 1273–1279.
- Daminet, S., Paradis, M., Refsal, K.R. & Price, C. (1999). Short term influence of prednisone and Phenobarbital on thyroid fuction in euthyroid dogs. *Can Vet J*, 40 (6), 411-415.
- Daminet, S.C., Duchateau, L., Debunne, A., van Geffen, C., Hoybergs, Y., van Bree, H. & Rick, A. (2003). Influence of acetylsalicylic acid and ketoprofen on canine thyroid function tests. *Vet J*, 166 (3), 224-232
- Davies, T.F. (2008). Infection and Autoimmune Thyroid Disease. *J Clin Endocrinol Metab*, 93 (3), 674-676.
- Day, M.J. (2012) The Basis of Immune-mediated disease. In: M.J., Day. *Clinical Immunology of Dog and Cat* (2ª edição), 75-93. London: Manson Publishing. Acedido em 13 de Julho, 2012, disponível em: <http://www.google.pt/books?id=m79t6Xioa20C&pg=PP1&lpg=PP1&ots=oX25ch1EMR&dq=clinical+immunology+of+dog+and+cat&lr=&hl=pt-PT>
- Dayan, C.M. & Daniels, G. H. (1996). Chronic Autoimmune Thyroiditis. *N Eng J Med*, 335 (2), 99-107.
- Diaz Espineira, M. M., Mol, J. A., Peeters, M. E., Pollak, Y. W. E. A., Iversen, L., Van Dijk, J. E., Rijnberk, A. & Kooistra, H. S. (2007). Assessment of thyroid function in dogs with low plasma thyroxine concentration. *J Vet Int Med*, 21(1), 25–32.
- Diaz-Espiñeira, M.M., Mol, J.A., Rijnberk, A. & Kooistra, H.S. (2009). Adenohypophyseal function in dogs with primary hypothyroidism and nonthyroidal illness. *Domestic J Vet Intern Med*, 23 (1), 100-107.
- Diaz-Espiñeira, M.M., Mol, J.A., van den Ingh, T.S.G.A.M., van der Vlugt-Meijer, R.H., Rijnberk, A. & Kooistra, H.S. (2008). Functional and morphological changes in the adenohypophysis of dog with induced primary hypothyroidism: Loss of TSH hypersecretion, hypersomatotropism, hypoprolactinemia, and pituitary enlargement with transdifferentiation. *Domest Anim Endocrinol*, 35 (1), 98-111.
- Dixon, R. M., & Mooney, C. T. (1999b). Evaluation of serum free thyroxine and thyrotropin concentrations in the diagnosis of canine hypothyroidism. *J Small Anim Pract*, 40(2), 72–78.
- Dixon, R. M., Reid, S. W. J., & Mooney, C. T. (2002). Treatment and therapeutic monitoring of canine hypothyroidism. *J Small Anim Pract*, 43 (8), 334–340.
- Dixon, R.M. & Mooney, C.T. (1999a). Canine serum thyroglobulin autoantibodies in health, hypothyroidism and non-thyroidal illness. *Res Vet Sci*, 66 (3), 243-6.

- Dixon, R.M. (2004). Canine hypothyroidism. In: C.T., Mooney & M.E., Peterson (Eds), *BSAVA manual of Canine and Feline Endocrinology* (3ª edição), pp. 76-94. Gloucester: BSAVA.
- Dixon, R.M., Reid, S.W.J. & Mooney, C.T. (1999). Epidemiological, clinical, haematological and biochemical characteristics of canine hypothyroidism. *Vet Rec*, 145 (17), 481-487.
- Doliger, S., Delverdier, M., Moré, J., Longeart, L., Régnier, A., & Magnol, J. P. (1995). Histochemical Study of Cutaneous Mucins in Hypothyroid Dogs. *Vet Pathol Online*, 32 (6), 628–634.
- Duncan, J.R., Prasse, K.W. & Mahaffey, E.A. (1994). *Veterinary Laboratory Medicine – Clinical Pathology* (3ª edição). Ames, Iowa: Iowa State University Press.
- Elliott, D. A., King, L. G., & Zerbe, C. A. (1995). Thyroid Hormone Concentrations In Critically Ill Canine Intensive Care Patients. *J Vet Emerg Crit Care*, 5 (1), 17–23.
- Evason, M.D., Carr, A.P., Taylor, S.M. & Waldener, C.L. (2004). Alterations in thyroid hormone concentrations in healthy sled dogs before and after athletic conditioning. *Am J Vet Res*, 65 (3), 333-337.
- Feldman, E., & Nelson, R. (2004). Hypothyroidism. In E. Feldman, & R. Nelson, *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction* (3ª Edição), pp. 86-151. Missouri: Saunders.
- Ferguson, D. C. (2007). Testing for Hypothyroidism in Dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 37(4), 647–669.
- Ferguson, D.C. & Peterson, M.E. (1992). Serum free and total iodothyronine concentrations in dogs with hyperadrenocorticism. *Am J Vet Res*, 53 (9), 1636.
- Ferm, K., Björnerfeldt, S., Karlsson, Å., Andersson, G., Nachreiner, R., & Hedhammar & Å. (2009). Prevalence of diagnostic characteristics indicating canine autoimmune lymphocytic thyroiditis in giant schnauzer and hovawart dogs. *J Small Anim Pract*, 50(4), 176–179.
- Figueroa-Veja, N., Alfonso-Pérez, M., Benedicto, I., Sánchez-Madrid, F., González-Amaro R. & Marazuela, M. (2010). Increased Circulating Pro-Inflammatory Cytokines and Th17 Lymphocytes in Hashimoto's Thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab*, 95 (2), 953–962.
- Frank, L.A. (2006). Comparative dermatology – canine endocrine dermatoses. *Clin Dermatol*, 24 (4), 317-325.
- Frank, L.A., Hnilica, K.A., May, E., Sargent, S.J. & Davis, J.A. (2005). Effects of sulfamethoxazole-trimethoprim on thyroid function in dogs. *Am J Vet Res*, 66 (2), 256-259.
- Fritz, K. S., Wilcox, R. B., & Nelson, J. C. (2007). A direct free thyroxine (T4) immunoassay with the characteristics of a total T4 immunoassay. *Clin Chem*, 53 (5), 911–915.
- Fritz, T. E., Lombard, L. S., Tyler, S. A., & Norris, W. P. (1976). Pathology and familial incidence of orchitis and its relation to thyroiditis in a closed beagle colony. *Exp Mol Pathol*, 24 (2), 142–158.
- Gaskill, C.L., Burton, S.A., Gelens, H.C.J., Ihle, S.L., Miller, J.B., Swan, D.H., Brimacombe, M.B. & Cribb, A.E. (2000). Changes in serum thyroxine and thyroid-stimulating

- hormone concentrations in epileptic dogs receiving phenobarbital for one year. *J Vet Pharmacol Ther*, 23 (4), 243-249.
- Gaughan, K.R. & Bruyette, D.S. (2001). Thyroid function testing in Greyhounds. *Am J Vet Res*, 62 (7), 1130-1133.
- Gershwin, L.J. (2010). Autoimmune diseases in small animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 40 (3), 439-457.
- Gosselin, S., Capen, C.C. & Martin, S.L. (1978). Lymphocytic thyroiditis in the dog. *Am J Pathol*, 90 (1), 285-288.
- Gosselin, S., Capen, C.C. & Martin, S.L. (1981). Histologic and ultrastructural evaluation of thyroid lesions associated with hypothyroidism in dogs. *Vet Pathol*, 18, 299-309.
- Gottschalk, J., Einspanier, A., Ungemach, F.R. & Abraham, G. (2011). Influence of topical dexamethasone applications on insulin, glucose, thyroid hormone and cortisol levels in dogs. *Res Vet Sci*, 90 (3), 491-497.
- Gough, A. (2007). *Differential diagnosis in small animal medicine*. Oxford: Blackwell Publishing.
- Graham P.A., Lundquist R.B., Refsal K.R., Nachreiner R.F. & Provencher A.L. (2001a). 12-month prospective study of 234 thyroglobulin antibody positive dogs which had no laboratory evidence of thyroid dysfunction [Abstract]. *J Vet Intern Med*, 14, 298.
- Graham, P.A., Nachreiner, N.F. & Refsal, K.R., Provencher-Bolliger, A.L. (2001b). Lymphocytic thyroiditis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 31 (5), 915-33.
- Graham, P.A., Refsal, K.R. & Nachreiner, N.F. (2007). Etiopathologic findings of canine hypothyroidism. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 37, 617-631.
- Green, S. T., & Ng, J. P. (1986). Hypothyroidism and anaemia. *Biomed Pharmacother*, 40 (9), 326–331.
- Greer, L.G., Casey, B.M., Halvorson, L.M., Spong, C.Y., McIntire, D.D. & Cunningham, M.D. (2011). Antithyroid antibodies and parity: further evidence for microchimerism in autoimmune thyroid disease. *Am J Obstet Gynecol*, 205 (5), 471.e1-e4.
- Gulikers, K.P. & Panciera, D.L. (2002). Influence of various medications on canine thyroid function. *Compendium*, 24 (7), 511-523. Acedido em 4 de Setembro 2012, disponível em: http://cp.vetlearn.com/Media/PublicationsArticle/PV_24_07_511.pdf
- Hall, I. A., Campbell, K. L., Chambers, M. D., & Davis, C. N. (1993). Effect of trimethoprim/sulfamethoxazole on thyroid function in dogs with pyoderma. *J Am Vet Med Assoc*, 202 (12), 1959–1962.
- Happ, G. M. (1995). Thyroiditis--a model canine autoimmune disease. *Adv Vet Sci Comp Med*, 39, 97–139.
- Hawthorn, M. H., Gengo, P., Wei, X.-Y., Rutledge, A., Moran, J. F., Gallant, S., & Triggle, D. J. (1988). Effect of thyroid status on β -adrenoceptors and calcium channels in rat cardiac and vascular tissue. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 337(5), 539–544.

- Heseltine, J.C., Panciera, D.L., Troy, G.C., Monroe, W.E., Brooks, M.B. & Feldman, B.F. (2005). Effect of levothyroxine administration on hemostatic analytes in Doberman pinchers with von Willebrand disease. *J Vet Intern Med*, 19 (4), 523-527.
- Hess, R. S., Kass, P. H., & Van Winkle, T. J. (2003). Association between Diabetes Mellitus, Hypothyroidism or Hyperadrenocorticism, and Atherosclerosis in Dogs. *J Vet Intern Med*, 17(4), 489–494.
- Heuer, M., Aust, G., Ode-Hakim & S., Scherbaum, W.A. (1996). Different cytokine mRNA profile in Grave's disease, Hashimoto's thyroiditis, and non autoimmune thyroid disorders determined by quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). *Thyroid*, 6, 97-105.
- Higgins, M.A., Rossmesl Jr, J.H. & Panciera, D.L. (2006). Hypothyroid-associated central vestibular disease in 10 dogs: 1999-2005. *J Vet Intern Med*, 20 (6), 1363-1369.
- Hill, R.C., Fox, L.E., Lewis, D.D., Beale, K.M., Nachreiner, R.F., Scott, K.C., Sundstrom, D.A., Jones, G.L. & Butterwick, R.F. (2001). Effects of racing and training on serum thyroid hormone concentrations in racing Greyhounds. *Am J Vet Res*, 62 (12), 1969 – 1972.
- Hoh, W.P. & Oh, T.H. (2006). Circadian variations of serum thyroxine, free thyroxine and 3,5,3' triiodothyronine concentrations in healthy dogs. *J Vet Sci*, 7 (1), 25-29.
- Jackson, H., & Marsella, R. (Eds.). (2012). *BSAVA Manual of Canine and Feline Dermatology*. (3ª edição). New Jersey: John Wiley & Sons.
- Johansson (2011). *Review of the literature and an attempt to evaluate intake levels of iodine and selenium in dogs with and without lymphocytic thyroiditis*. Master's Thesis. Uppsala: Department of Animal Breeding and Genetics, Department of clinical Sciences, Swedish University of Agricultural Sciences.
- Johnson, C., Olivier, N.B., Nachreiner, R. & Mullaney, T. (1999). Effect of ¹³¹I-Induced hypothyroidism on indices of reproductive function in adult male dogs. *J Vet Intern Med*, 13 (2), 104-110.
- Junqueira, L.C. & Carneiro, J. (2008). *Histologia Básica* (11ª edição). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Kantrowitz, L.B., Peterson, M.E., Melián C. & Nichols, R. (2001). Serum total thyroxine, total triiodothyronine, free thyroxine, and thyrotropin concentrations in dogs with nonthyroidal disease. *J Am Vet Med Assoc*, 219, 765-769.
- Kantrowitz, L.B., Peterson, M.E., Trepanier, L.A., Melián C. & Nichols, R. (1999). Serum total thyroxine, total triiodothyronine, free thyroxine, and thyrotropin concentrations in epileptic dogs treated with anticonvulsants. *J Am Vet Med Assoc*, 214 (12), 765-769.
- Kaptein, E. M., Moore, G. E., Ferguson, D. C., & Hoenig, M. (1993). Thyroxine and triiodothyronine distribution and metabolism in thyroxine-replaced athyreotic dogs and normal humans. *Am J Physiol*, 264, E90–100.
- Karlsson, E.K. & Lindblad-Toh (2008). Leader of the pack: gene mapping in dogs and other model organisms. *Nat Rev Genet*, 9, 713:725.
- Kehrl, J.H. (1991). Transforming Growth Factor-β: An Important Mediator of Immunoregulation. *Int J Cell Cloning*, 9, 438-450.

- Kemppainen, R. J., & Behrend, E. N. (2001). Diagnosis of canine hypothyroidism. Perspectives from a testing laboratory. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 31(5), 951–962.
- Kenefick, S.L. & Neiger, R. (2008). The effect of trilostane treatment on circulating thyroid hormone concentrations in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J Small Anim Pract*, 49 (3), 139-143.
- Kennedy, L. J., Barnes, A., Short, A., Brown, J. J., Lester, S., Seddon, J., Ollier, W. E. R. (2007). Canine DLA diversity: 1. New alleles and haplotypes. *Tissue Antigens*, 69, 272–288.
- Kennedy, L.J. (2012). Genetic markers for canine immune-mediated diseases. In *Proceedings of the British small veterinary congress* (pp 335-337), Birmingham, 11-15 April, 2012. Gloucester: BSAVA.
- Kennedy, L.J., Huson, H.J., Leonard, J., Angles, J.M., Fox, L.E., Wojciechowski, J.W., Yuncker, C. & Happ, G.M. (2006). Association of hypothyroid disease in Doberman dogs with a rare major histocompatibility complex DLA class II haplotype. *Tissue Antigens*, 67, 53-56.
- Kern, T. J., & Riis, R. C. (1980). Ocular manifestations of secondary hyperlipidemia associated with hypothyroidism and uveitis in a dog. *J Am Anim Hosp Assoc*, 16 (6), 907-914. Acedido em: <http://agris.fao.org/agris-search/search/display>.
- Klopmann, T. von, Boettcher, I.C., Rotermund, A., Rohn, K. & Tipold, A. (2006). Euthyroid sick syndrome in dogs with idiopathic epilepsy before treatment with anticomvulsant drugs. *J Vet Intern Med*, 20 (3), 516-522.
- Kooistra, H. S., Diaz-Espineira, M., Mol, J. A., Van den Brom, W. E., & Rijnberk, A. (2000). Secretion pattern of thyroid-stimulating hormone in dogs during euthyroidism and hypothyroidism. *Domest Anim Endocrinol*, 18(1), 19–29.
- Kooistra, H.S., Rijnberk, A. & van den Ingh, Th.S.G.A.M. (1995). Polyglandular deficiency syndrome in a boxer dog: thyroid hormone and glucocorticoid deficiency. *Vet Q*, 17 (2), 59-63.
- Le Traon, G., Burgaud, S., & Horspool, L. J. I. (2008). Pharmacokinetics of total thyroxine in dogs after administration of an oral solution of levothyroxine sodium. *J Vet Pharmacol Therap*, 31 (2), 95–101.
- Lee, J.A., Hinchcliff, K.W., Piercy, R.J., Schmidt, K.E. & Nelson Jr, S. (2004). Effects of racing and nontraining on plasma thyroid hormone concentrations in sled dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 244 (2), 226-231
- Lindblad-Toh, K., Wade, C. M., Mikkelsen, T. S., Karlsson, E. K., Jaffe, D. B., Kamal, M., ... Zody, M. C. (2005). Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature*, 438 (7069), 803–819.
- Liu, S. K., Tilley, L. P., Tappe, J. P., & Fox, P. R. (1986). Clinical and pathologic findings in dogs with atherosclerosis: 21 cases (1970-1983) [Abstract]. *J Am Vet Medic Assoc*, 189 (2), 227–232. Acedido em 7 de Setembro, 2012, disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Liu%2C%20Tilley%2C%20Tappe%20%26%20Fox%2C%201986>
- MacGregor, J. M., Rozanski, E. A., McCarthy, R. J., Sharkey, L. C., Winter, M. D., Brown, D. J., & Rush, J. E. (2004). Cholesterol-Based Pericardial Effusion and Aortic

- Thromboembolism in a 9-Year-Old Mixed-Breed Dog with Hypothyroidism. *J Vet Intern Med*, 18 (3), 354–358.
- Marks, S.L., Koblik, P.D., Hornof, W.J. & Feldman, E.C. (1994). ^{99m}Tc-pertechnetate imaging of thyroid tumors in dogs: 29 cases (1980-1992). *J Am Vet Med Assoc*, 204 (5), 756-760.
- McCombe, P., Greer, J., & Mackay, I. (2009). Sexual Dimorphism in Autoimmune Disease. *Curr Mol Med*, 9 (9), 1058–1079.
- Meier, C. & Bischoff, A. (1977). Polyneuropathy in hypothyroidism: clinical and nerve biopsy study of 4 cases. *J Neurol*, 215 (2), 103-114.
- Melo, M. (2006). Tiroidites autoimunes. *Acta Med Port*, 19 (5), 387-394.
- Miller, A. B., Nelson, R. W. & Scott-Moncrieff, J. C., Neal, L., & Bottoms, G. D. (1992). Serial thyroid hormone concentrations in healthy euthyroid dogs, dogs with hypothyroidism, and euthyroid dogs with atopic dermatitis. *Br Vet J*, 148(5), 451–458.
- Mitsiades, N., Poulaki, V., Mitsiades, C.S., Koutras, D.A. & Chrousos, G.P. (2001). Apoptosis induced by FasL and TRAIL/Apo2L in the pathogenesis of thyroid diseases. *Trends Endocrinol Metab*, 12 (9), 384-390.
- Mooney, C.T. & Shiel, R.E. (2012). Canine Hypothyroidism. In: C.T., Mooney & M.E., Peterson (Eds), *BSAVA manual of Canine and Feline Endocrinology* (4ª edição), pp. 63-85. Gloucester: BSAVA.
- Mooney, C.T., Shiel, R.E. & Dixon, R.M. (2008). Thyroid hormone abnormalities and outcome in dogs with non-thyroidal illness. *J Small Anim Pract*, 49 (1), 11-16.
- Mori, K., Munakata, Y., Saito, T., Tani, J., Nakagawa, Y., Hoshikawa, S., Ozaki, H., Ito, S. & Yoshida, K. (2007). Intrathyroidal persistence of human parvovirus B19 DNA in a patient with Hashimoto's thyroiditis. *J Infect*, 55 (2), e29–e31.
- Nachreiner, R. F., Refsal, K. R., Graham, P. A., Hauptman, J., & Watson, G. L. (1998). Prevalence of autoantibodies to thyroglobulin in dogs with nonthyroidal illness. *Am J Vet Res*, 59 (8), 951–955.
- Nachreiner, R. F., Refsal, K. R., Ravis, W. R., Hauptman, J., Rosser, E. J., & Pedersoli, W. M. (1993). Pharmacokinetics of L-thyroxine after its oral administration in dogs. *Am J Vet Res*, 54 (12), 2091–2098.
- Nachreiner, R.F., Refsal, K.R., Graham, P.A. & Bowman, M.M. (2002). Prevalence of serum thyroid hormone autoantibodies in dogs with clinical signs of hypothyroidism. *J Am Vet Assoc*, 229 (4), 466-471.
- Nelson, R. W., Ihle, S. L., Feldman, E. C., & Bottoms, G. D. (1991). Serum free thyroxine concentration in healthy dogs, dogs with hypothyroidism, and euthyroid dogs with concurrent illness. *J Am Vet Med Assoc*, 198 (8), 1401–1407.
- Nelson, R.W. & Couto, G.C. (1998). *Medicina Interna de Animales Pequeños* (2ª edição). Buenos Aires: Editorial Inter-Médica.
- Neufeld, M., Maclaren, N., & Blizzard, R. (1980). Autoimmune polyglandular syndromes. *Pediatric annals*, 9 (4), 154–162.

- O'Neill, S.H., Frank, L.A. & Reynolds, L.M. (2011). Effect of an anti-inflammatory dose of prednisone on thyroid hormone monitoring in hypothyroid dogs. *Vet Dermatol*, 22 (2), 202-205.
- Panakova, L., Kock, H., Kolb, S. & Mueller, R.S. (2008). Thyroid testing in Sloughis. *J Vet Intern Med*, 22 (5), 1144-1148.
- Pancierera, D. L., & Refsal, K. R. (1994). Thyroid function in dogs with spontaneous and induced congestive heart failure. *Can J Vet Res*, 58(3), 157–162.
- Pancierera, D. L., Helfand, S. C., & Soergel, S. A. (1995). Acute effects of continuous infusions of human recombinant interleukin-2 on serum thyroid hormone concentrations in dogs. *Res Vet Sci*, 58(1), 96–97.
- Pancierera, D.L. (1994). Hypothyroidism in dogs: 66 cases (1987-1992). *J Am Vet Med Assoc*, 204 (5), 761.
- Pancierera, D.L. (2001). Conditions associated with canine hypothyroidism. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 31 (5), 935-950.
- Pancierera, D.L. & Johnson, G.S. (1994). Plasma von Willebrand factor antigen concentration in dogs with hypothyroidism. *J Am Vet Med Assoc*, 205 (11), 1550-1553.
- Pancierera, D.L. & Johnson, G.S. (1996). Plasma von Willebrand factor antigen concentration and buccal mucosal bleeding time in dogs with experimental hypothyroidism. *J Vet Intern Med*, 10 (2), 60-64.
- Pancierera, D.L., Purswell, B.J. & Kolster, K.A. (2007). Effect of short-term hypothyroidism on reproduction in bitches. *Theriogenology*, 68 (3), 316-321.
- Pancierera, D.L., Purswell, B.J., Kolster, K.A., Werre, S.R. & Trout, S.W. (2012). Reproductive effect of prolonged experimentally induced hypothyroidism in bitches. *J Vet Intern Med*, 26 (2), 326-333.
- Pancierera, D.L., Refsal, K.R., Sennelo, K.A. & Ward, D.L. (2006). Effects of deracoxib and aspirin on serum concentrations of thyroxine, 3,5,3'-triiodothyronine, free thyroxine, and thyroid-stimulating hormone in healthy dogs. *Am J Vet Res*, 67 (4), 599-603.
- Pancotto, T., Rossmesl Jr, J.H., Panciera, D.L & Zimmerman, K.L. (2010). Blood-brain-barrier disruption in chronic canine hypothyroidism. *Vet Clin Pathol*, 39 (4), 485-493.
- Peremans, K. (2012). Scintigraphy and the Thyroid: a great alliance. In *Proceedings of the British small veterinary congress* (pp 157-158), Birmingham, 11-15 April, 2012. Gloucester: BSAVA.
- Peterson, M. E., Melián, C., & Nichols, R. (1997). Measurement of serum total thyroxine, triiodothyronine, free thyroxine, and thyrotropin concentrations for diagnosis of hypothyroidism in dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 211(11), 1396–1402.
- Pikula, J., Pikulova, J., Bandouchova, H., Hajkova, P. & Faldyna, M. (2007). Shmidt's syndrome in a dog: a case report. *Vet Med*, 52 (9), 419-422.
- Pinilla, M., Shiel, R. E., Brennan, S. F., McAllister, H., & Mooney, C. T. (2009). Quantitative thyroid scintigraphy in greyhounds suspected of primary hypothyroidism. *Vet Rad Ultrasound*, 50 (2), 224–229.

- Pires, A. E., Amorim, I. R., Ginja, C., Gomes, M., Godinho, I., Simões, F., Oom, M., Petrucci-Fonseca, F., Matos, J. & Bruford, M. W. (2009). Molecular structure in peripheral dog breeds: Portuguese native breeds as a case study. *Anim Genet*, 40(4), 383–392.
- Prummel, M.F., Strieder, T. & Wiersinga, W.M. (2004). The environment and autoimmune thyroid diseases. *Eur J Endocrinol*, 150, 605-618.
- Pullen, W. H., & Hess, R. S. (2006). Hypothyroid dogs treated with intravenous levothyroxine. *J Vet Intern Med*, 20 (1), 32–37.
- R Core Team (2012). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. Vienna: Austria. Acedido a 5 de Agosto, 2012, disponível em: <http://www.R-project.org/>
- Radosta, L.A., Shofer, F.S. & Reisner, I.R. (2012). Comparison of thyroid analytes in dogs aggressive to familiar people and in non-aggressive dogs. *Vet J*, 192 (3), 472-475.
- Reese, S., Breyer, U., Deeg, C., Kraft, W., & Kaspers, B. (2005). Thyroid sonography as an effective tool to discriminate between euthyroid sick and hypothyroid dogs. *J Vet Intern Med*, 19 (4), 491–498.
- 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. *Am J Vet Res*, 51(3), 454–457.
- Reimers, T.J., Mummery, L.K., Mc Cann, J., Cowan, R.G. & Concannon, P.W. (1984). Effects of reproductive state on concentrations of thyroxine, 3,5,3'-Triiodothyronine and Cortisol in serum of dogs. *Biol Reprod*, 31 (1), 148-154.
- Reusch, C. E., Gerber, B., & Boretti, F. S. (2002). Serum Fructosamine Concentrations in Dogs with Hypothyroidism. *Vet Res Commun*, 26 (7), 531–536.
- Rijnberk, A., & Kooistra, H. (2010). Thyroids. In A. Rijnberk, & H. Kooistra, *Clinical Endocrinology of dogs and cats* (2ª Edição), pp. 57-89. Hanover: Schluetersche.
- Rossmeisl Jr, J.H. (2010). Resistance of the Peripheral Nervous System to the Effects of Chronic Canine Hypothyroidism. *J Vet Inter Med*, 24 (4), 875–881.
- Rossmeisl Jr, J.H., Duncan, R.B., Inzana, K.D., Panciera, D.L. & Shelton, G.D. (2009). Longitudinal study of the effects of chronic hypothyroidism on skeletal muscle in dogs. *Am J Vet Res*, 70 (7), 879-889.
- Rotondi, M., Chiovato, L., Romagnani, S., Serio, M., & Romagnani, P. (2007). Role of chemokines in endocrine autoimmune diseases. *Endocr Rev*, 28 (5), 492-520.
- Sainteny, F., Larras-Regard, E., & Frindel, E. (1990). Thyroid hormones induce hemopoietic pluripotent stem cell differentiation toward erythropoiesis through the production of pluripoietin-like factors. *Exp Cell Res*, 187 (1), 174–176.
- Sakaguchi, S., Yamaguchi, T., Nomura, T., & Ono, M. (2008). Regulatory T Cells and Immune Tolerance. *Cell*, 133 (5), 775–787.
- Sauvé, F., & Paradis, M. (2000). Use of recombinant human thyroid-stimulating hormone for thyrotropin stimulation test in euthyroid dogs. *Can Vet J*, 41 (3), 215–219.

- Sauvé, F., Paradis, M., Refsal, K.R., Moreau, K., Beauchamp, G. & Dupuis J. (2003). Effects of oral administration of meloxicam, carprofen, and a nutraceutical on thyroid function in dogs with osteoarthritis. *Can Vet J*, 44 (6), 474-479.
- Schaafsma, I.A., van Emst, M.G., Kooistra, H.S., Verkleij, C.B., Peeters, M.E., Boer, P., Rijnberk, A. & Everts, M.E. (2002). Exercise-induced hyperkalemia in hypothyroid dogs. *Domest Anim Endocrinol*, 22 (2), 113-124.
- Schachter, S., Nelson, R. W., Scott-Moncrieff, C., Ferguson, D.C., Montgomery, T., Feldman, E. Montgomery, T., Feldman, E.C., Neal, L., Kass, P. H. (2004). Comparison of serum-free thyroxine concentrations determined by standard equilibrium dialysis, modified equilibrium dialysis, and 5 radioimmunoassays in dogs. *J Vet Intern Med*, 18(3), 259–264.
- Schoeman, J. P., Goddard, A., & Herrtage, M. E. (2007). Serum cortisol and thyroxine concentrations as predictors of death in critically ill puppies with parvoviral diarrhea. *J Am Vet Med Assoc*, 231 (10), 1534–1539.
- Schoeman, J. P., Rees, P. & Herrtage, M. E. (2007). Endocrine predictors of mortality in canine babesiosis caused by *Babesia canis rossi*. *Vet Parasitol*, 148(2), 75–82. doi:10.1016/j.vetpar.2007.06.010.
- Scott-Moncrieff, J.C. (2007). Clinical signs and concurrent diseases of hypothyroidism in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Ani Pract*, 37 (4), 709-722.
- Scott-Moncrieff, J.C. (2010). Hypothyroidism. In S.J., Ettinger & C.F., Feldman (Eds). *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (7th ed.). Missouri: Saunders Elsevier.
- Scott-Moncrieff, J. C., Azcona-Olivera, J., Glickman, N. W., Glickman, L. T., & HogenEsch, H. (2002). Evaluation of antithyroglobulin antibodies after routine vaccination in pet and research dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 221(4), 515–521.
- Scott-Moncrieff, J. C., Glickman, N. W., Glickman, L. T., & HogenEsch, H. (2006). Lack of Association between Repeated Vaccination and Thyroiditis in Laboratory Beagles. *J Vet Intern Med*, 20(4), 818–821.
- Scott-Moncrieff, J. C., Nelson, R. W., Bruner, J. M., & Williams, D. A. (1998). Comparison of serum concentrations of thyroid-stimulating hormone in healthy dogs, hypothyroid dogs, and euthyroid dogs with concurrent disease. *J Am Vet Med Assoc*, 212(3), 387–391.
- Seavers, A., Snow, D.H., Mason, K.V. & Malik, R. (2008). Evaluation of the thyroid status of Basenji dogs in Australia. *Aust Vet J*, 86 (11), 429-434.
- Seelig, D.M., Whittemore, J.C., Lappin, M.R., Myers, A.M. & Avery, P.R. (2008). Goitrous hypothyroidism associated with treatment with trimethoprim-sulfamethoxazole in a young dog. *J Am Vet Med Assoc*, 232 (8), 1181-1185.
- Sgarbi, J. A., & Maciel, R. M. B. (2009). Pathogenesis of autoimmune thyroid diseases. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 53 (1), 5–14.
- Shiel, R.E., Brennan, S.F., Omodo-Eluk, A.J. & Mooney, C.T. (2007). Thyroid hormone concentrations in young, healthy, pretraining greyhounds. *Vet Rec*, 161 (18), 616-619.

- Shiel, R. E., Pinilla, M., McAllister, H., & Mooney, C. T. (2012). Assessment of the value of quantitative thyroid scintigraphy for determination of thyroid function in dogs. *J Small Anim Pract*, 53 (5), 278–285.
- Shiel, R.E., Sist, M., Nachreiner, R.F., Ehrlich, C.P. & Mooney, C.T. (2010). Assessment of criteria used by veterinary practitioners to diagnose hypothyroidism in sighthounds and investigation of serum thyroid hormone concentrations in healthy Salukis. *J Am Vet Med Assoc*, 236 (3), 302-308.
- Skopek, E., Patzl, M. & Nachreiner, R. F. (2006). Detection of autoantibodies against thyroid peroxidase in serum samples of hypothyroid dogs. *Am J Vet Res*, 67 (5), 809-814.
- Soundberg, K. (2012). *Unraveling the genetics of lymphocytic thyroiditis: using the dog as a model*. Ph.D. Thesis. Uppsala: Department of Animal Breeding and Genetics, Swedish University of Agricultural Sciences.
- Sullivan, P. S., Gompf, R. E., Schmeitzel, L., Clift, R., Cottrell, M., & McDonald, R. P. (1993). Altered platelet indices in dogs with hypothyroidism and cats with hyperthyroidism. *Am J Vet Res*, 54 (12), 2004–2009.
- Sundick, R.S., Bagchi, N. & Brown, T.R. (1992). The role of iodine in thyroid autoimmunity: from chickens to humans: a review. *Autoimmunity*, 13 (1), 61-68.
- Taeymans, O., Daminet, S., Duchateau, L., & Saunders, J. H. (2007). Pre- and post-treatment ultrasonography in hypothyroid dogs. *Vet Rad Ultrasound*, 48 (3), 262–269.
- Taeymans, O., Dennis, R., & Saunders, J. H. (2008). Magnetic resonance imaging of the normal canine thyroid gland. *Vet Radiol Ultrasound*, 49 (3), 238–242.
- Taeymans, O., Schwarz, T., Duchateau, L., Barberet, V., Gielen, I., Haskins, M., VanBree, H., Saunders & J. H. (2008). Computed tomographic features of the normal canine thyroid gland. *Vet Radiol Ultrasound*, 49 (1), 13–19.
- Thacker, E.L., Davis, J.M, Refsal, K.R. & Bull, R.W. (1995). Isolation of thyroid peroxidase and lack of autoantibodies to the enzyme in dogs with autoimmune thyroid disease. *Am J Vet Res*, 56 (1), 34-38.
- Thomas, D., Liakos, V., Michou, V., Kapranos, N., Kaltsas, G., Tsilivakos, V. & Tsatsoulis, A. (2008). Detection of herpes virus DNA in post-operative thyroid tissue specimens of patients with autoimmune thyroid disease. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 116 (1), 35-39.
- Tomer, Y. (2010). Interferon induced thyroiditis. *J Autoimmun*, 34 (3), 322-326
- Tozzoli, R., Barzilai, O., Ram, M., Villalta, D., Bizzaro, N., Sherer, Y. & Shoenfeld, Y., (2008). Infections and autoimmune thyroid diseases: Parallel detection of antibodies against pathogens with proteomic technology. *Autoimmun Rev*, 8, 112-115.
- Vail, D. M., Panciera, D. L., & Ogilvie, G. K. (1994). Thyroid hormone concentrations in dogs with chronic weight loss, with special reference to cancer cachexia. *J Vet Intern Med*, 8 (2), 122–127.
- Van Geffen, G., Bevegems, V., Duchateau, L., De Roover, K. & Daminet, S. (2006). Serum thyroid hormone concentrations and thyroglobulin autoantibodies in trained and non-trained healthy whippets. *Vet J*, 172 (1), 135-140.

- Vasconcelos, R.C. (1995). *Raças de Cães Portugueses*. (2ª edição). Lisboa: Editorial Presença.
- Vitale, C.L. & Olby, N.J. (2007). Neurologic dysfunction in hypothyroid, hyperlipidemic labrador retrievers. *J Vet Intern Med*, 21 (6), 1316-1322.
- Wang, S.H., Bretz, J.D., Phelps, E., Mezosi, E., Arscott, P.L., Utsugi, S. & Baker, J.R. Jr. (2002). A unique combination of inflammatory cytokines enhances apoptosis of thyroid follicular cells and transforms nondestructive to destructive thyroiditis in experimental autoimmune thyroiditis. *J Immunol*, 168, 2470-2474.
- Wang, S.H. & Baker Jr, J.R. (2007). The role of apoptosis in thyroid autoimmunity. *Thyroid*, 17 (10), 975-979.
- Wartofsky, L., & Burman, K. D. (1982). Alterations in thyroid function in patients with systemic illness: the "euthyroid sick syndrome". *Endocr Rev*, 3(2), 164–217.
- Wasserman, E.E., Nelson, K., Rose, N.R., Rhode, C., Pillion, J.P., Seaberg, E., Talor, M.V., Burek, L., Eaton, W., Duggan, A. & Yolken, R.H. (2009). Infection and thyroid autoimmunity: A seroepidemiologic study of TPOaAb. *Autoimmunity*, 42 (5), 439-446.
- Weetman, A.P. (2004). Cellular immune responses in autoimmune thyroid disease. *Clin Endocrinol*, 61, 405-413.
- Wilbe, M., Sundberg, K., Hansen, I.R., Strandberg, E., Nachreiner, R.F., Hedhammar, Å, Kennedy, L.J., Andersson, G. & Björnerfeldt, S. (2010). Increased genetic risk or protection for canine autoimmune lymphocytic thyroiditis in Giant Schnauzers depends on DLA class II genotype. *Tissue antigens*, 75 (6), 712-719.
- Williamson, N.L., Frank, L.A. & Keith, A.H. (2002). Effects of short-term trimethoprim-sulfamethoxazole administration on thyroid function in dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 221 (6), 802-806.
- Williams, D.L., Pierce, V., Mellor, P. & Heath M.F. (2007). Reduced tear production in three canine endocrinopathies. *J Small Anim Pract*, 48 (5), 252-256.
- Zaletel, K. & Gaberšček, S. (2011). *Hashimoto's Thyroiditis: From genes to the disease*. *Curr Genomics*, 12 (8), 576-588.

IX. Anexos

1. Material e Métodos - Questionário

Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa - UTL

Projeto CIISA (Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal)

“Estudo da Prevalência de Hipotireoidismo em cães de raça Rafeiro Alentejano”

PROPRIETÁRIO

Nome:

Telefone:

Morada:

EXEMPLARES

Nome:

Idade:

Sexo:

LOP/RI:

Nº CHIP:

Anamnese:

1. Doenças prévias ou atuais?

Hiperadrenocorticismo	<input type="checkbox"/>	Doença hepática	<input type="checkbox"/>
Neoplasias	<input type="checkbox"/>	Piodermite	<input type="checkbox"/>
Diabetes mellitus	<input type="checkbox"/>	Neuropatia periférica	<input type="checkbox"/>
Hipoadrenocorticismo	<input type="checkbox"/>	Megaesófago	<input type="checkbox"/>
Insuficiência renal	<input type="checkbox"/>	Doenças infecciosas	<input type="checkbox"/>
Insuficiência cardíaca congestiva	<input type="checkbox"/>	Outras: _____	

2. Terapêutica corrente (nos últimos 3 meses):

Glucocorticoides	<input type="checkbox"/>	Anticonvulsivos	<input type="checkbox"/>
AINES	<input type="checkbox"/>	Outros: _____	
Sulfonamidas potenciadas	<input type="checkbox"/>		

3. Presença de algum dos seguintes sinais clínicos:

Alterações dermatológicas:

Mudanças na qualidade e coloração do pelo	<input type="checkbox"/>	Formação de comedões	<input type="checkbox"/>
Alopécia	<input type="checkbox"/>	Hipertricose	<input type="checkbox"/>
Seborreia	<input type="checkbox"/>	Otite ceruminosa	<input type="checkbox"/>
Piodermite superficial	<input type="checkbox"/>	Má cicatrização de feridas	<input type="checkbox"/>
Hiperqueratose	<input type="checkbox"/>	Mixedema	<input type="checkbox"/>
Hiperpigmentação	<input type="checkbox"/>	Outras: _____	

2. Resultados – Animais, Anamnese, Exame físico, Hemograma

Nº	Idd	Sexo	Sx	Erit	Hb	Ht	VCM	HCM	CHCM	Leuc	Neut n seg	Neut seg	Linf	Mon	Eos	Bas	Plaq
1	8	F	GP	6,64	14,4	46	69,2	21,7	31,4	8,05	0	4750	2415	242	644	0	NA
2	7	M	GP; Otite	7,31	16,2	51,2	70	22,1	31,6	8,24	0	5850	2060	165	165	0	231
3	6	F		7,51	16,4	54,1	72	21,9	30,4	6,99	0	4404	2237	280	70	0	243
4	2	F		6,33	15	46,9	74,1	23,7	32	9,43	0	7073	1980	189	189	0	254
6	6	M		6,17	14,9	45,4	73,6	24,2	32,9	2	0	6593	1758	264	176	0	234
7	7	F	GP; Piodermite	6,81	15,8	49,4	72,5	23,2	32	7,78	0	4668	2567	467	78	0	248
8	5	F		5,7	13,7	42,2	74,1	24,1	32,5	7,2	0	5256	1584	360	0	0	271
9	10	F	Piodermite	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
10	5	M		6,71	15,7	48,3	72,1	23,4	32,5	10,8	0	6480	3240	864	216	0	279
12	3	F		6,39	15,4	48,1	75,4	24,1	32	10,3	0	6426	2448	306	1020	0	341
13	8	F	Alopécia	4,58	11,2	34,9	76,2	24,5	32,1	9,84	0	6790	2362	689	0	0	329
14	4	M		7,39	16,8	52,5	71	22,8	32,1	10,2	0	7752	1734	510	204	0	NA
15	4	F		5,85	13,5	41,6	71,1	23	32,4	8,96	0	5824	1792	717	627	0	NA
16	7	M		6,88	15,9	49,1	71,4	23,2	32,4	8,77	0	6227	1666	526	351	0	231
17	2	FC		5,97	14,2	43,9	73,5	23,8	32,3	10,3	0	8034	1751	515	0	0	208
18	2	M		5,3	11,7	38,3	72,3	22,1	30,5	11,9	0	8806	2380	714	0	0	NA
19	4	F		4,93	11,9	37	75	24,1	32,2	7,14	0	5641	1142	357	0	0	333
20	4	M		6,96	15,7	48	68,9	22,5	32,7	8,33	0	5748	1749	666	167	0	276
21	5	F	Piodermite	6,3	14,4	44	69,8	22,9	32,8	12,2	0	10736	1098	366	0	0	354
22	8	M		6,65	15,1	46,3	69,6	22,7	32,6	10,7	0	7383	2140	642	535	0	311
23	7	F	Otite	6,29	14,1	44	70,2	22,5	32	8,76	0	5168	2628	701	263	0	252
24	6	M		5,85	12,6	38,8	66,3	21,6	32,6	10,5	0	6510	1995	1260	735	0	264
25	6	M	Otite	7,24	16,4	49,8	68,7	22,6	32,9	11,9	0	9639	1547	714	0	0	300
26	3	M	Alopécia	6,35	14,3	45,1	71	22,5	31,7	12,1	0	8833	2541	484	242	0	229

Nº	Idd	Sexo	Sx	Erit	Hb	Ht	VCM	HCM	CHCM	Leuc	Neut n seg	Neut seg	Linf	Mon	Eos	Bas	Plaq
29	5	M		6,18	14	43,7	70,8	22,7	32,1	10,9	0	9156	1635	109	0	0	NA
30	5	M		7,55	16,5	50,6	67	21,8	32,6	8,65	0	6315	1817	346	173	0	NA
31	2	F	Aborto	6,59	16,2	48,3	73,3	24,5	33,5	10,5	0	8400	1260	315	525	0	230
32	9	F		5,37	13,3	40,4	75,2	24,9	33	7,48	0	5834	898	150	598	0	383
33	4	F		6,15	14,3	43,5	70,6	23,2	32,9	6,56	0	4723	1050	394	394	0	NA
34	5	F		5,46	12,9	40	73,3	23,6	32,2	9,94	0	7157	2187	298	199	0	247
35	9	F		5,35	13,6	41	76,6	25,4	33,1	10,9	0	6649	1744	109	2398	0	357
36	8	M		6,53	15,7	47,5	72,7	24	33,1	9,5	0	6460	2280	570	190	0	262
37	10	M	Alopécia	4,81	11,2	34,3	71,4	23,3	32,7	11,7	0	9594	1521	351	234	0	381
38	9	F		5,93	12,7	39,5	66,7	21,5	32,2	16	0	12800	1600	1280	320	0	197
39	4	F		5,22	12,5	38,4	73,5	24	32,6	7,37	0	5159	1769	147	295	0	NA
40	8	F		5,88	14,2	43,5	73,9	24,2	32,8	14,3	0	8723	2717	143	2717	0	246
41	9	M		6,55	14,2	44,1	67,5	21,7	32,2	7,27	0	5525	1454	73	218	0	NA
43	10	F		6,47	14,1	43,6	67,3	21,7	32,3	9,82	0	6972	1964	491	393	0	242
44	12	M		4,76	10,6	32,8	68,9	22,4	32,5	10,6	0	8586	1272	424	318	0	493
46	3	F		5,79	13,3	40,6	70,1	22,9	32,7	8,64	0	6048	2074	173	346	0	207
47	5	F		5,44	12,2	37,8	69,5	22,4	32,3	8,58	0	4976	1973	257	1373	0	275
48	5	M		6,13	14,3	44,5	72,6	23,3	32,1	10,3	0	6283	3090	412	515	0	291
49	5	F		5,57	12,6	38	68,2	22,6	33,2	7,11	0	4664	1422	213	711	0	290
50	4	F		6,47	14,8	45,6	70,4	22,9	32,5	7,48	0	6059	1122	224	75	0	NA
52	3	M		NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
53	8	M		5,04	11,9	36,9	73,2	23,7	32,4	13,9	0	3614	9591	695	0	0	34,8
54	4	F		5,73	13,7	42	73,3	24	32,7	10,5	0	7245	1575	0	1680	0	249
55	5	F		4	9,34	28,6	71,5	23,3	32,7	16	0	12160	2560	1120	320	0	438
56	8	F		7,73	16,7	51,3	66,4	21,6	32,5	12,5	0	8125	3250	750	375	0	NA
57	7	M		6,28	14,4	43,5	69,3	23	33,1	23,4	0	17784	4446	702	468	0	NA
58	3	M		6,73	16,5	50,8	75,5	23,5	32,5	10,3	0	6901	2575	309	515	0	327
59	5	M		6,72	16	49,6	73,8	23,7	32,2	16,1	0	12397	805	1610	1288	0	374

Nº	Idd	Sexo	Sx	Erit	Hb	Ht	VCM	HCM	CHCM	Leuc	Neut n seg	Neut seg	Linf	Mon	Eos	Bas	Plaq
60	4	M		5,02	11,2	35,3	70,2	22,3	31,7	8,79	0	6856	1055	615	264	0	NA
61	2	M		6,17	14,1	44,1	71,6	22,9	32	14,5	0	12180	1015	870	435	0	NA
62	2	M		6,43	15	46,1	71,8	23,4	32,6	9,35	0	5517	3366	374	94	0	220
64	8	M		6,38	14,6	44,8	70,3	22,9	32,6	6,38	0	4275	1148	574	383	0	287
65	2	M		6,36	14,6	44,8	70,4	22,9	32,5	11,8	0	8614	2478	236	472	0	295
66	3	M		7,08	15,5	47,5	67,1	21,8	32,6	11	0	8690	1870	220	220	0	213
67	6	F		6,22	14,6	45,2	72,7	23,5	32,3	6,46	0	5362	452	129	517	0	NA
68	2	F		6,27	14,3	44,6	71,2	22,9	32,2	11,8	0	9086	1298	236	1180	0	255
69	4	M	Alopécia	6,93	15,8	48,6	70,1	22,8	32,5	9,72	0	7679	1555	292	194	0	NA
70	6	F		6,54	15,4	46,5	71	23,5	33,1	9,35	0	7480	1403	374	94	0	256
72	6	M		6,07	14,3	45,3	68,9	21,8	31,7	6,07	0	4431	1214	243	182	0	NA
73	3	F		6,31	14,7	44	69,7	23,3	33,5	11,5	0	8280	2530	575	115	0	571
74	6	F	Otite	7,26	15,9	48,5	66,7	21,8	32,7	7,9	0	5846	1422	316	316	0	NA
75	6	M		6,95	15,4	47,2	67,9	22,1	32,6	6,41	0	4487	1282	321	321	0	290
77	9	M	GP; Letargia; Piodermite; Facies T.	6,45	14,1	44,5	69,1	21,9	31,8	9,74	0	7792	1266	682	0	0	283
79	4	FC		6,74	16,2	48,9	72	23,9	32,1	6,93	0	4227	2010	485	208	0	200
80	3	F		5,68	14,1	43,8	77,1	24,8	32,1	8,65	0	6315	1471	692	173	0	NA
81	6	F		5,85	13,5	40,9	69,8	23	33	7,74	0	6037	1238	464	0	0	449
83	4	F		7,01	16,3	49,8	71,1	23,3	32,8	6,31	0	4859	947	505	0	0	264
84	2	F		5,84	13,4	41,4	70,9	22,9	32,3	10,8	0	6912	3456	324	108	0	252
85	6	F		5,39	12,6	39,3	73	23,4	32,1	11,9	0	10234	1071	595	0	0	NA
86	12	M		5,77	13,7	41	71	23,8	33,5	11,8	0	10030	826	708	236	0	295
87	11	M		5,92	14,4	44,4	75,1	24,3	32,3	11,5	0	8625	1725	1150	0	0	NA
88	12	F		6,46	14,6	44,3	68,6	22,5	32,8	6,03	0	4523	1085	362	60	0	NA
89	9	F	Piodermite	6,34	14,3	44	69,4	22,6	32,6	11,7	0	9009	1872	585	234	0	278

Nº	Idd	Sexo	Sx	Erit	Hb	Ht	VCM	HCM	CHCM	Leuc	Neut n seg	Neut seg	Linf	Mon	Eos	Bas	Plaq
90	4	F		7	16	50	71,4	22,8	32	6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	251
91	10	FC		6,5	15,3	45,4	69,8	23,6	33,8	4,82	0	3519	1157	96	48	0	NA
92	10	F		6,4	15,8	46,8	73,2	24,6	33,6	6,75	0	5063	1553	135	0	0	419
93	5	M	Infértil	5,56	14,2	40,7	73,2	25,5	34,9	11,1	0	7770	2886	333	111	0	347
95	10	F		5,96	14,7	42,8	71,9	24,6	34,3	9,52	0	7330	1714	476	0	0	347
96	6	M	Infértil	6,75	16,6	49	72,7	24,6	33,8	17,2	0	14448	1892	860	0	0	221
98	5	M	GP	6,87	16,3	47,1	68,6	23,7	34,6	9,69	0	5330	2907	678	775	0	280
99	5	F		6,79	16,3	48,5	71,4	24,1	33,7	10,5	0	8505	1575	420	0	0	NA
100	5	F		6,27	15,7	46	73,4	25	34	5,63	0	3040	2139	282	169	0	NA
101	6	F	GP; Letargia; Intol. Frio; Pododermite; Alopecia; Facies T.; Lipid. Corn.	4,59	10,5	30,8	67,1	22,8	34	13,2	0	11880	528	792	0	0	425

Legenda Anexo 2:

Idd – Idade (Anos); F – Fêmea; FC – Fêmea Castrada; M – Macho; NA – indeterminado

Sx – Sinais clínicos

GP – Ganho de Peso; Intol. Frio – Intolerância ao frio; Facies T. – *Facies Tragus*; Lipid. Corn. - Lipidose da córnea

Parâmetros	Abreviatura	Valores de referência
Leucócitos	Leu	6 – 17 x 10 ³ /µL
Eritrócitos	Erit	5,5 – 8,5 x 10 ⁶ /µL
Plaquetas	Plaq	200 – 500 x 10 ³ /µL
Hemoglobina	Hg	12 – 18 g/dL
Hematócrito	Ht	37 – 55 %
VCM	VCM	60 – 77 fL
HCM	HCM	19,5 – 24,5 pg
CHCM	CHCM	32 – 36 g/dL
Neutrófilos não segmentados	Neu Nseg	0 – 300/µL
Neutrófilos segmentados	Neu seg	3000 – 11500/µL
Linfócitos	Linf	1000 – 4800/µL
Monócitos	Mon	150 – 1350/µL
Eosinófilos	Eos	100 - 1250/µL
Basófilos	Bas	raros

3. Resultados – Animais, Parâmetros Bioquímicos e Concentrações de IT₄, tT₄ e TSH

Nº	ALT (10-100 U/L 37°C)	Colesterol (110-320 mg/dL)	FAS (23-212 U/L 37°C)	Triglicéridos (10-100 mg/dL)	IT ₄ (0,6-3,0 ng/dL)	tT ₄ (1,3-2,9 µg/dL)	TSH (0,0-0,65 ng/mL)
1	14	196	47	93	0,89	1,4	0,66
2	9	243	46	62	0,58	1,2	0,36
3	9	376	36	42	1,8	1,7	0,35
4	9	155	33	84	0,81	1,2	0,12
6	24	229	33	35	0,79	1	0,12
7	9	258	40	77	0,66	1,2	0,23
8	30	199	32	33	1,5	1,5	0,06
9	22	312	135	52	1,1	1,4	0,09
10	51	236	46	88	0,87	1,6	NA
12	9	216	62	131	1,2	1,8	0,08
13	35	182	75	31	1,2	0,89	0,53
14	NA	NA	NA	NA	1,4	1,3	0,11
15	12	294	24	46	1,6	2,2	0,07
16	15	231	34	41	0,43	0,82	0,1
17	37	171	35	34	1,7	1,9	0,11
18	51	205	33	31	1,3	1,8	0,07
19	31	216	33	32	1,3	1,9	0,16
20	42	153	29	45	0,79	1,1	0,04
21	9	186	21	36	1,1	1,4	0,19
22	14	152	26	39	0,58	0,94	0,29
23	9	184	23	30	1	1,3	0,05
24	11	229	15	45	1,2	1,5	0,09
25	248	178	54	44	1	1	0,06
26	59	217	39	43	1,1	1,1	0,26
29	24	144	30	40	0,55	1	0,1
30	9	109	17	26	1,4	1,7	0,09
31	87	129	33	42	2,3	1,3	0,11
32	9	205	NA	47	0,61	0,87	0,08
33	27	183	64	53	1,3	1,7	NA
34	17	205	71	48	0,58	0,86	0,07
35	9	142	23	44	1,3	1,6	0,03
36	9	216	29	44	0,93	1,1	0,04
37	9	136	34	36	1,9	1,1	0,1
38	9	142	71	38	1,2	0,7	0,07
39	9	132	33	43	0,71	0,84	0,03
40	11	168	26	51	0,85	1,2	0,07
41	223	159	43	42	1,4	1,7	0,11
43	9	195	53	57	0,63	1	0,06
44	29	128	61	40	0,8	0,88	0,11
46	9	230	20	52	0,62	1,3	0,14
47	9	276	34	52	0,72	1,4	0,28
48	453	277	86	46	1,7	2	0,09
49	19	159	28	29	0,39	1	0,16

Nº	ALT (U/L 37°C)	Chol (mg/dL)	FAS U/L 37°C)	Trig (mg/dL)	IT ₄ (ng/dL)	tT ₄ (µg/dL)	TSH (ng/mL)
50	9	163	31	49	1,4	2,1	0,03
52	NA	NA	NA	NA	0,49	NA	0,07
53	51	129	61	58	0,71	1	0,06
54	16	186	52	73	0,98	1,7	0,04
55	9	213	63	58	0,71	1,1	0,14
56	9	187	21	58	0,94	1,5	0,11
57	28	185	79	40	0,83	1,3	0,1
58	22	138	34	30	0,4	1,1	0,14
59	48	181	26	38	0,92	1,5	0,05
60	15	169	57	40	0,79	1	0,16
61	22	149	34	31	0,94	1,4	0,06
62	11	162	21	35	1,1	1,3	0,16
64	18	231	25	33	0,85	1,1	0,16
65	24	191	26	34	0,62	1,3	0,31
66	39	204	16	51	1,1	2,1	0,11
67	27	235	33	53	1,1	1,1	0,24
68	10	239	25	64	1,2	1,8	0,08
69	9	176	9	51	1	1,5	NA
70	9	308	26	46	1	1,7	0,47
72	17	203	22	41	0,59	1,2	0,21
73	68	226	55	52	0,81	0,85	NA
74	21	159	32	44	0,71	1	0,09
75	16	154	9	48	1	1,2	0,35
77	65	421	36	217	0,2	0,52	0,41
79	11	205	29	103	1,4	1	0,15
80	21	416	56	21	1,8	1,8	0,08
81	9	254	26	45	1,1	2,3	0,06
83	20	194	34	37	1,6	1,4	0,17
84	19	291	46	29	1,8	2,4	0,11
85	25	328	44	28	NA	2	0,08
86	50	182	27	48	NA	1,2	0,04
87	31	155	15	54	1,4	2,2	0,25
88	74	287	25	72	1,3	1,5	0,04
89	25	229	49	129	1,1	1,6	0,13
90	37	284	73	34	1,3	1,5	0,35
91	9	349	36	58	1,6	1,9	0,15
92	9	367	84	30	0,8	1,3	0,04
93	24	211	32	45	1,2	1,4	0,12
95	9	305	64	37	0,67	1,2	0,21
96	12	227	26	44	0,58	1,1	0,6
98	9	235	46	52	1,7	1,6	0,18
99	58	143	20	53	1,1	1,5	0,08
100	9	255	82	65	1,2	1,6	0,26
101	27	189	71	87	0,2	0,4	0,76

Legenda Anexo 3:

NA – indeterminado

4. Resultados – Animais, TgAAs, Densidade óptica e Título de anticorpos

Animais	Densidade óptica	Título de anticorpos	TgAAs
1	0,795	122,3	Positivo
2	0,521	<5	Negativo
3	0,672	43,9	Positivo
4	1,239	405,1	Positivo
6	0,615	7,6	Positivo
7	0,736	84,7	Positivo
13	1,004	255,4	Positivo
16	0,323	0	Negativo
20	0,876	173,9	Positivo
22	0,797	123,5	Positivo
23	0,543	<5	Negativo
29	0,271	0	Negativo
26	0,709	67,5	Positivo
32	0,663	38,2	Positivo
34	0,519	<5	Negativo
38	0,613	6,3	Positivo
39	0,258	0	Negativo
44	0,486	<5	Negativo
46	0,56	<5	Negativo
49	0,679	48,4	Positivo
58	0,715	71,3	Positivo
65	0,59	<5	Negativo
67	0,636	21	Positivo
70	0,504	<5	Negativo
72	0,473	<5	Negativo
75	0,484	<5	Negativo
77	0,492	<5	Negativo
79	0,514	<5	Negativo
96	0,467	<5	Negativo
99	0,562	<5	Negativo
101	0,359	0	Negativo