

TEST DI SCREENING PER LA DIAGNOSI DELL'IPERADRENOCORTICISMO NEL GATTO E NEL CANE*

CAROLE A. ZERBE, DVM, PhD
University of Pennsylvania

Riassunto

Per confermare la presenza dell'iperadrenocorticismo sono disponibili diversi test di screening, ognuno dei quali valuta un aspetto specifico della funzionalità dell'asse ipofisi-surrene. Il test di stimolazione con corticotropina (ACTH) prende in esame la capacità della ghiandola surrenalica di secernere cortisolo, mentre il test di soppressione con basse dosi di desametasone (LDDS) determina l'integrità del circuito di *feedback* negativo. Il test associato di soppressione con desametasone e stimolazione con ACTH valuta sia la riserva corticosurrenalica che il *feedback* negativo. Il controllo nelle urine del rapporto cortisolo:creatinina misura l'escrezione urinaria di cortisolo in relazione alla creatinina. Inoltre, il test di soppressione con basse dosi di desametasone e quelli ad esso associati consentono di identificare le forme di iperadrenocorticismo ipofisi-dipendente e quindi servono quali test differenziali.

Summary

Several screening tests are available to confirm the presence of hyperadrenocorticism (HAC), each of which evaluates a specific aspect of pituitary-adrenal function. The corticotropin (ACTH) stimulation test assesses the capacity of the adrenal gland to secrete cortisol, whereas the low-dose dexamethasone suppression (LDDS) test determines the integrity of the negative feedback pathway. The combined dexamethasone suppression/ACTH stimulation test evaluates both adrenocortical reserve and negative feedback. The urine cortisol:creatinine ratio test measures urinary cortisol excretion relative to creatinine. In addition, the LDDS and combined tests can also identify the pituitary-dependent form of HAC and thus may function as differentiating tests.

L'approccio alla diagnosi dell'iperadrenocorticismo (talvolta definito *Sindrome di Cushing*) deve dare una risposta a due domande: se il soggetto sia affetto dalla condizione e, in tale caso, da quale forma. La valutazione di segni clinici, dati anamnestici, esame emocromocitometrico completo, analisi delle urine e profilo biochimico permette di formulare il sospetto di iperadrenocorticismo, ma solo il test ormonale consente di confermarne la presenza. Il presente lavoro è il secondo di una serie riguardante la fisiopatologia della condizione e i test ormonali utilizzati per valutarla e verte sugli esami impiegati per confermare la diagnosi dell'endocrinopatia (test di screening). Dopo avere confermato la diagnosi di iperadrenocorticismo, occorre determinarne l'origine surrenalica oppure ipofisaria. I

test che permettono di distinguere una neoplasia surrenalica dalla condizione ipofisi-dipendente vengono definiti *test differenziali* e costituiranno l'argomento dell'ultimo lavoro di questa serie.

TRATTAMENTO DEL CAMPIONE

La valutazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene prevede la raccolta di sangue o urina per la determinazione dei livelli di cortisolo o di corticotropina (ACTH). Nel presente lavoro vengono forniti consigli generali circa il trattamento e la manipolazione dei campioni; tuttavia, si raccomanda caldamente di seguire le istruzioni specifiche fornite dal laboratorio che eseguirà le analisi.

Il cortisolo è un ormone steroideo i cui livelli vengono misurati all'interno di plasma, siero o urina.^{1,2} Generalmente è preferibile utilizzare plasma piuttosto che siero, raccogliendolo in provette contenenti EDTA (con tappo

*Da "The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian" Vol. 22, N. 1, gennaio 2000, 17. Con l'autorizzazione dell'Editore.

di colore lilla).² Nel siero, il cortisolo è sensibile alla temperatura; i campioni devono essere imballati con panetti refrigeranti e inviati al laboratorio mediante servizi di corrieri a consegna rapida.² I campioni di urina devono essere centrifugati per rimuovere i residui e maneggiati come descritto per quelli di siero.¹ Il trattamento dei campioni per la determinazione dei livelli plasmatici di ACTH verrà considerato nel lavoro relativo ai test differenziali.

TEST DI SCREENING

Per confermare la presenza di iperadrenocorticismo, l'asse ipotalamo-ipofisi surrene viene valutato considerando i livelli di cortisolo nelle urine, la capacità corticosurrenalica di secernere steroidi o l'integrità del circuito di *feedback* negativo. Il numero di test disponibili per la diagnosi di iperadrenocorticismo suggerisce che nessuno di questi è efficace al 100%; infatti, non esiste un singolo test indicato nel cane e nel gatto, poiché ognuno di quelli in uso comporta alcuni vantaggi e alcuni svantaggi. Ad esempio, soltanto il test di stimolazione con ACTH consente di distinguere l'iperadrenocorticismo in forma iatrogena da quello ad insorgenza spontanea e quindi rappresenta l'unico esame in grado di valutare l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene in soggetti sottoposti a terapia steroidea in atto o recentemente interrotta; altri test fornirebbero risultati inaffidabili. Al contrario, oltre a confermare la presenza di iperadrenocorticismo, il test di soppressione con basse dosi di desametasone (LDDS *low-dose dexamethasone suppression test*) da solo o associato a quello di stimolazione con ACTH (test combinato) consente di differenziare fra iperadrenocorticismo ipofisi-dipendente e neoplasia surrenalica in una percentuale di casi compresa fra 33% e 61%.³⁻⁵

Una volta formulata con ragionevole certezza una diagnosi di iperadrenocorticismo (sulla base di segni clinici e anamnesi), il test LDDS o quello combinato rappresentano i metodi migliori e più veloci per valutare e differenziare l'eziologia della condizione. Se le probabilità di iperadrenocorticismo sono scarse, la misurazione del rapporto cortisolo:creatinina nelle urine (UCCR, *urine cortisol:creatinine ratio test*) costituisce l'approccio iniziale più veloce e meno costoso e quindi più adatto. Poiché ognuno di questi test può fornire risultati falsamente positivi o falsamente negativi, i reperti devono essere interpretati con cautela, alla luce di anamnesi, esame clinico e risultati delle indagini di laboratorio. Spesso è necessario eseguire numerosi test per valutare accuratamente l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene.

Gli algoritmi riportati nelle Figure 1 e 2 illustrano un ragionevole approccio all'esame di cani e gatti con segni clinici, dati anamnestici e reperti di laboratorio compatibili con la diagnosi di iperadrenocorticismo, benché sia ovvio che non tutte le situazioni cliniche possano essere indicate. I test utilizzati per valutare l'iperadrenocorticismo nel cane e nel gatto (vedi Test di Screening) vengono descritti nei paragrafi seguenti. Poiché i valori variano a seconda dei laboratori, i test devono essere interpretati utilizzando gli intervalli di riferimento forniti dalla struttura che ha eseguito l'esame; i valori normali proposti nel presente lavoro rappresentano soltanto indicazioni approssimative.

Test di stimolazione con corticotropina

Impiego e presupposti teorici

Il test di stimolazione con ACTH viene impiegato per valutare la presenza di iper- ed ipoadrenocorticismo e per distinguere l'iperadrenocorticismo iatrogeno da quello spontaneo nel cane e nel gatto. Inoltre, questo esame consente di valutare l'efficacia delle terapie con mitotane, ketoconazolo o metirapone.

Si tratta di un test di misurazione della riserva corticosurrenalica. La corticotropina stimola la secrezione di cortisolo da parte delle surreni e la quantità di ormone emessa riflette la capacità secretoria della corteccia surrenale. Ad esempio, nei soggetti con atrofia surrenalica, la stimolazione con ACTH è seguita da una secrezione di cortisolo scarsa o assente, mentre in quelli con iperplasia della ghiandola la risposta sarà esagerata.

Protocollo

Il test di stimolazione con ACTH è veloce, economico e di facile esecuzione; infatti viene portato a termine in appena 1 - 2 ore e utilizzando da due (cane) a tre (gatto) campioni di sangue, in base alla preparazione specifica impiegata (estratto naturale di ghiandola ipofisaria [gel di ACTH, non più disponibile in commercio] oppure ACTH sintetico [cosintropina]) ed alla specie di appartenenza. Dopo essere stata ricostituita, la cosintropina rimane stabile per 4 mesi se refrigerata e fino a 6 mesi se conservata alla temperatura di -20°C.^{6,7}

Nel cane esistono due diversi protocolli.^{4,8-10} Nel primo si provvede alla raccolta di un campione di sangue prima della somministrazione di ACTH, per determinare il livello di cortisolo, e poi si inoculano per via intramuscolare (IM) 2,2 UI/kg di ACTH gel; infine, dopo 2 ore si preleva un altro campione di sangue. Nel secondo protocollo, si raccoglie un campione di sangue prima di somministrare ACTH, si inoculano per via endovenosa (IV) 5 µg/kg di cosintropina e a distanza di 1 ora si esegue un secondo prelievo.¹¹

Nel gatto sono disponibili diversi protocolli; indipendentemente dal metodo impiegato, occorre prelevare un campione di sangue prima di iniziare il test.¹²⁻¹⁵ Altri due campioni verranno prelevati rispettivamente ad 1 e 2 ore di distanza dall'inoculazione intramuscolare di ACTH gel alla dose di 2,2 UI/kg. In alternativa, è possibile somministrare cosintropina per via intramuscolare o endovenosa alla dose di 0,125 mg (mezza fiala) e prelevare due campioni di sangue dopo 30 e 60 minuti in caso di inoculazione intramuscolare e un solo campione a distanza di 60 - 90 minuti dall'inoculazione endovenosa. Nel gatto, si consiglia l'uso dell'ormone sintetico per via endovenosa poiché questo garantisce la presenza in circolo di livelli più elevati di ACTH.¹³ Dopo la somministrazione di ACTH gel o in caso di inoculazione intramuscolare dell'ormone sintetico, è necessario prelevare due campioni di sangue. In circa un terzo dei gatti verranno rilevati livelli massimi di cortisolo nel primo campione prelevato dopo l'inoculazione di ACTH, mentre nel secondo campione tali livelli risultano nettamente inferiori.

APPROCCIO NEI CANI CON SOSPETTO IPERADRENOCORTICISMO

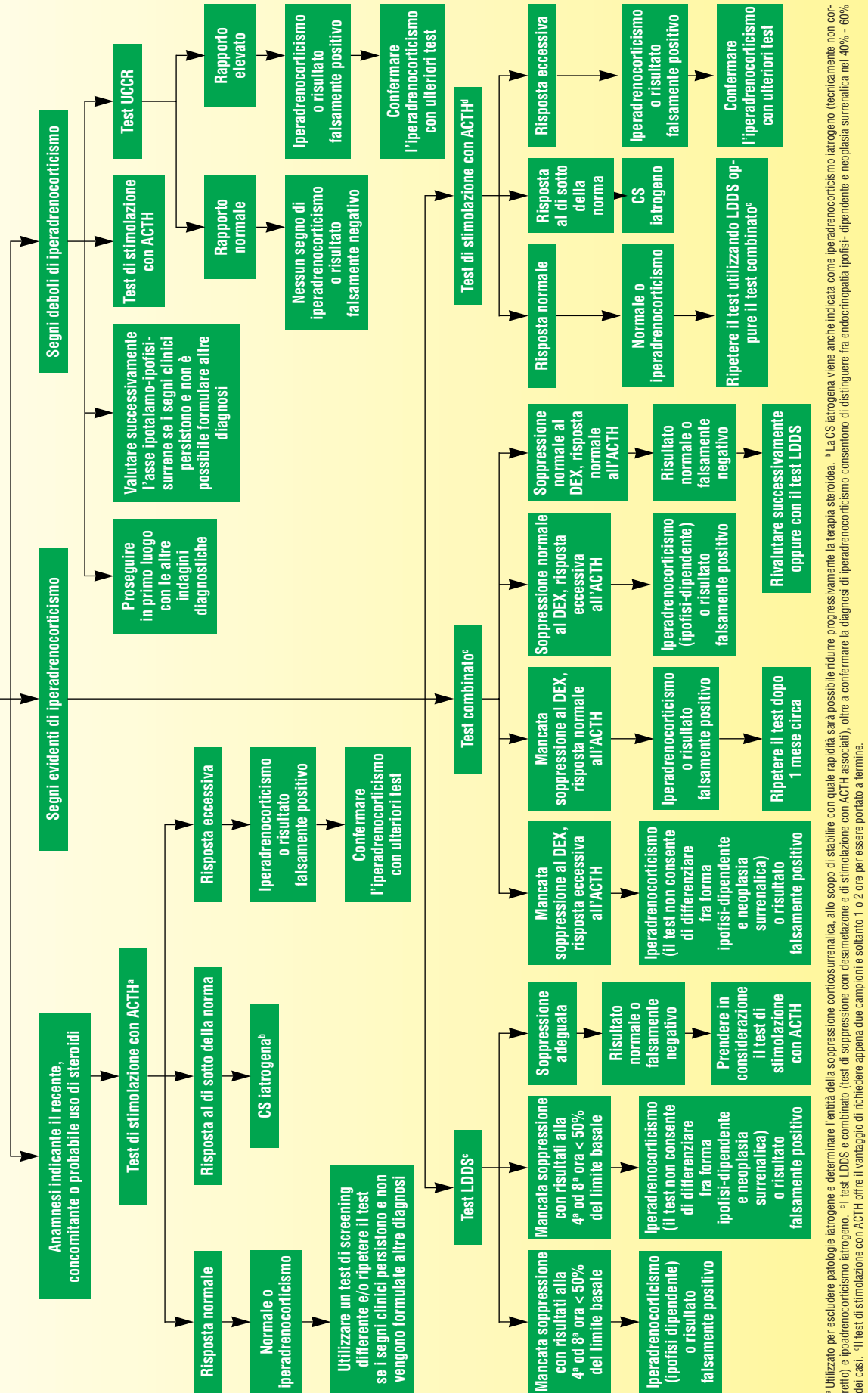
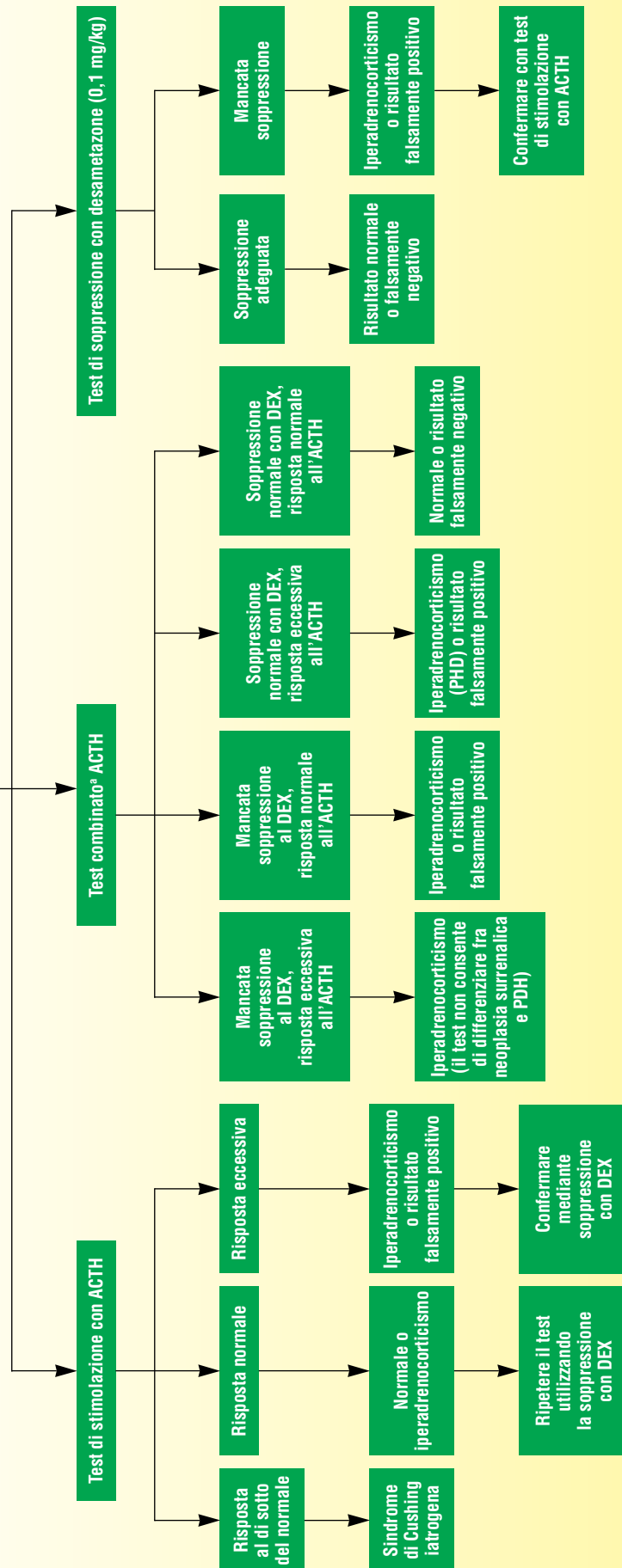


FIGURA 1 - Nell'approccio ai cani con possibile iperadrenocorticismo, occorre innanzitutto considerare se esistono segni evidenti oppure deboli di iperadrenocorticismo in base a manifestazioni cliniche, anamnesi e anomalie degli esami di laboratorio (esame emocromocritico completo, profilo biochimico e analisi delle urine). Anche l'indicazione anamnestica circa l'uso di steroidi influenza la scelta dei test iniziali. Dopo avere preso queste decisioni, i test vengono scelti e interpretati come indicato (ACTH = corticotropina; CS = Sindrome di Cushing; LDDS = test di soppressione con basse dosi di desametasone; UCCR = rapporto urinario cortisolo:creatina).

APPROCCIO NEI GATTI CON MODERATO O FORTE SOSPETTO DI IPERADRENOCORTICISMO



* Test combinato di soppressione con desametasone/stimolazione con ACTH.

FIGURA 2 - Approccio nei gatti con sospetto di iperadrenocorticismo basato su segni clinici, anamnesi e anomalie degli esami di laboratorio (esame emocromocitometrico completo, profilo biochimico e analisi delle urine). (ACTH = corticotropina; DEX = desametasone; PDH = iperadrenocorticismo ipofisi-dipendente).

Valori normali

Poiché le concentrazioni di cortisolo prima e dopo la somministrazione di ACTH differiscono fra cane e gatto, è importante utilizzare l'intervallo di riferimento normale per la specie considerata. I valori normali di cortisolemia prima della somministrazione di ACTH sono compresi fra 0,5 e 4 µg/dl (da 14 a 110 nmol/l) nel cane e fra 0,3 e 5,0 µg/dl (da 8,3 a 138 nmol/l) nel gatto. Gli intervalli di riferimento normali della cortisolemia dopo somministrazione di ACTH vanno da 8 a 20 µg/dl (da 220 a 552 nmol/l) nel cane e da 5 a 15 µg/dl (da 138 a 414 nmol/l) nel gatto.

Interpretazione

La comparsa di risposte esagerate alla stimolazione con ACTH è riferibile ad iperadrenocorticismo, ma si può riscontrare anche in alcuni cani e gatti con patologie croniche che non coinvolgono direttamente l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (vedi la sezione relativa a Test di funzionalità surrenalica in casi di patologie non surrenaliche o concomitanti).¹⁶⁻¹⁹ Dall'80% al 95% dei cani con iperadrenocorticismo manifesta risposte esagerate all'ACTH,^{4,5,19-22} compreso l'85% circa dei soggetti con iperadrenocorticismo e il 50% di quelli con neoplasie surrenaliche.^{4,5,19-21} Tuttavia, questo test non sembra dotato di pari sensibilità per la diagnosi di iperadrenocorticismo nel gatto; la risposta alla stimolazione con ACTH aumentava soltanto nel 51% dei soggetti e nel 16% si innalzava fino a giungere in prossimità del valore limite.²³

L'attenuazione della risposta all'ACTH è compatibile con un'atrofia corticosurrenalica, come si verifica nel morbo di Addison e nella sindrome di Cushing di origine iatrogena. Ad esempio, se la risposta all'ACTH è attenuata in un cane con sospetta sindrome di Cushing, è probabile che la malattia sia dovuta ad una somministrazione di glucocorticoidi che conduce ad un'atrofia corticosurrenalica. La sindrome di Cushing di origine iatrogena viene trattata adeguatamente sospendendo la somministrazione di glucocorticoidi piuttosto che ricorrendo alla terapia con mitotano.

L'attenuazione della risposta all'ACTH si verifica anche nei cani che assumono mitotano o ketoconazolo e nei gatti trattati con metirapone.²⁴⁻²⁶ Il mitotano riduce il numero delle cellule produttrici il cortisolo (mediante distruzione corticosurrenalica) e conseguentemente il numero di cellu-

le in grado di rispondere alla stimolazione con ACTH. Gli altri farmaci non comportano la distruzione del tessuto corticosurrenalico bensì il blocco degli enzimi coinvolti nella sintesi del cortisolo.^{24,26} Il grado di riduzione della secrezione di cortisolo stimolata da ACTH è correlata al grado di blocco del circuito. In condizioni ideali, con la terapia i livelli di cortisolo misurati prima e dopo la somministrazione di ACTH devono rientrare nell'intervallo normale riscontrato prima del test.

Benché una risposta normale all'ACTH possa indicare l'integrità dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, anche cani affetti da iperadrenocorticismo (di origine ipofisaria o surrenalica) in percentuale compresa fra 5% e 20% presentano risposte normali.^{4,5,19-22} Quando questa evenienza si verifica in un cane nel quale esista il fondato sospetto di iperadrenocorticismo, occorre prendere in considerazione il test di soppressione con basse dosi di desametasone. Un approccio alternativo prevede la ripetizione dell'esame a distanza di tempo oppure dopo avere stabilizzato il soggetto con terapie mediche (Fig. 1).

Commenti

Fra i test di screening, quello di stimolazione con ACTH è dotato di maggiore specificità (da 82% a 91%; Tabella 1)^{5,19-22} e quindi comporta un minore numero di risultati falsamente positivi rispetto a quello di soppressione con basse dosi di desametasone, a quello combinato o a quello di misurazione del rapporto cortisolo:creatinina nelle urine. Pertanto, alcuni autori consigliano il test di stimolazione con ACTH quale migliore indagine generale per la diagnosi di iperadrenocorticismo.²² Al contrario, il test è dotato di minore sensibilità sia rispetto al test LDDS che a quello combinato.^{5,19,22} Nella scelta del test occorre considerare oltre a sensibilità, specificità e accuratezza diagnostica, fattori quali tempo necessario per completare il protocollo, dubbi anamnestici circa l'uso di steroidi, coesistenza di altre patologie e costi. Il test di stimolazione con ACTH è l'unico test di screening applicabile in cani o gatti con segni clinici di iperadrenocorticismo e che siano sottoposti a trattamenti con glucocorticoidi, o lo siano stati di recente; inoltre è l'unica indagine che consente di distinguere fra iperadrenocorticismo di origine iatrogena e spontanea. Il test non può essere impiegato per differenziare la neoplasia ipofisaria dall'iperadrenocorticismo ipofisi-dipendente.

Test di Screening

- Test di stimolazione con corticotropina
- Test di soppressione con basse dosi di desametasone (solo nel cane)
- Test di soppressione con alte dosi di desametasone (solo nel gatto)
- Test combinato di soppressione con desametasone e stimolazione con corticotropina
- Determinazione del rapporto cortisolo:creatinina nell'urina

Test di soppressione con basse dosi di desametasone

Il test di soppressione con basse dosi di desametasone (LDDS) si riferisce tipicamente a indagini in cui viene fatto uso di desametasone in dosi comprese fra 0,01 e 0,015 mg/kg; nel cane, questo esame viene impiegato per valutare la presenza di iperadrenocorticismo. Quando si utilizzi desametasone in dosi più elevate, il test viene definito *test di soppressione con alte dosi di desametasone* (HDDS *high-dose dexamethasone suppression test*). Nel cane, il dosaggio maggiore viene impiegato per stabilire se l'iperadrenocorticismo sia di origine ipofisaria oppure surrenalica (impie-

go quale test differenziale). Nel gatto, invece, le dosi di desametazone necessarie per valutare e differenziare le due forme sono più elevate. Queste differenze possono indurre confusione nella scelta e nell'esecuzione dei test di soppressione con desametazone (Tabella 2).

Impiego e presupposti teorici

Il test LDDS viene impiegato per valutare la presenza di iperadrenocorticismo nel cane; la somministrazione dell'ormone in dosi basse deprime la secrezione surrenalica di cortisolo nei cani normali ma non in quelli con iperadrenocorticismo. Questa soppressione è provocata dall'attivazione del circuito di *feedback* negativo che conduce ad una diminuita secrezione di ACTH e quindi di cortisolo. Inoltre si innalza la soglia di soppressione del cortisolo indotta dai glucocorticoidi.

Protocollo

Il test LDDS, benché di facile esecuzione, richiede 8 ore per essere completato e il campione prelevato dopo 8 ore è quello che comporta maggiori problemi di interpretazione.^{5,27} Si effettua un prelievo di sangue prima di eseguire il test per determinare la cortisolemia di base, quindi si inietta desametazone per via endovenosa in dose compresa fra 0,01 e 0,015 mg/kg e poi si effettuano due campioni di

sangue, rispettivamente a distanza di 4 e 8 ore dalla somministrazione. La diluizione del desametazone in soluzione fisiologica sterile (1:10) può consentire un dosaggio più accurato. Il desametazone è disponibile in glicol polietilenico (Azium®, Schering-Plough, Union, NJ) e in forma di desametazone fosfato sodico; entrambe le preparazioni sono utili e il dosaggio è basato sulla concentrazione del componente attivo. Questo test di screening non è indicato nel gatto quando si utilizza il desametazone alla dose di 0,01 mg/kg, mentre può esserlo con dosaggi di 0,1 mg/kg.^{14,28,29}

Valori normali ed interpretazione

L'interpretazione del test LDDS richiede che venga valutato in primo luogo il campione prelevato a 8 ore di distanza dalla somministrazione del desametazone; nel cane normale, i livelli di cortisolo in questo momento devono essere al di sotto dell'intervallo compreso fra 1,0 e 1,4 µg/dl (da 28 a 39 nmol/l). La mancata soppressione del cortisolo dopo 8 ore è compatibile con la diagnosi di iperadrenocorticismo, di origine ipofisaria oppure conseguente a neoplasia surrenalica. In alternativa, questi reperti possono costituire una falsa positività.

Il campione prelevato dopo 4 ore viene valutato *soltanto* quando i risultati di quello successivo siano riferibili ad iperadrenocorticismo. La soppressione del cortisolo oltre il 50% del livello di base o al di sotto dell'intervallo 1,0 - 1,4 µg/dl (da 28 a 39 nmol/l) alla quarta ora, con una soppressione "di fuga" o di rimbalzo nel campione prelevato dopo 8 ore è compatibile con la presenza di un iperadrenocorticismo ipofisi-dipendente. In alternativa, si considera indicativo della condizione anche un valore misurato all'ottava ora che superi l'intervallo 1,0 - 1,4 µg/dl (da 28 a 39 nmol/l) ovvero che risulti ridotto in misura inferiore al 50% rispetto al livello di base. Pertanto, oltre ai livelli di cortisolo misurabili, riveste importanza il tipo di soppressione della cortisolemia che consente di formulare una diagnosi di iperadrenocorticismo ipofisi-dipendente.

Tabella 1
Sensibilità, specificità e accuratezza diagnostica
dei test di screening nel cane

Test	Parametro (%)	Studio				
		1 ^{a,5}	2 ¹⁹	3 ²²	4 ³¹	5 ³⁴
LDDS	Sensibilità	100	100	96	85	-
	Specificità	73	44	70	73	-
	Accuratezza diagnostica	92	58	89	83	-
Stimolazione con ACTH	Sensibilità	89 ^b	80	95	-	-
	Specificità	82 ^b	86	91	-	-
	Accuratezza diagnostica	87 ^b	84	93	-	-
UCCR	Sensibilità	50	75	-	99	100
	Specificità	100	24	-	77	22
	Accuratezza diagnostica	59	37	-	91	76
Combinato ^c	Sensibilità	93	-	-	-	-
	Specificità	73	-	-	-	-
	Accuratezza diagnostica	90	-	-	-	-

^aLa tabella comprende dati non presentati nel riassunto originale.

^bI valori sono stati determinati dalla parte di stimolazione con ACTH del test combinato.

^cTest combinato di soppressione con desametazone/stimolazione con corticotropina.

ACTH = corticotropina; LDDS = soppressione con desametazone a basso dosaggio; UCCR = rapporto urinario cortisolo:creatinina; - = parametro non ricercato.

Tabella 2
Confronto fra test di soppressione con desametazone
eseguito nel gatto e nel cane

Test	Dose di desametazone (mg/kg)	Specie	Finalità
LDDS	0,01 - 0,015	cane	screening per l'iperadrenocorticismo
HDDS	0,1	cane	differenziare PDH da AT
HDDS	0,1	gatto	screening per l'iperadrenocorticismo
HDDS	1,0	cane e gatto	differenziare PDH da AT

AT = neoplasia surrenalica; HDDS = soppressione con desametazone ad elevato dosaggio; LDDS = soppressione con desametazone a basso dosaggio; PDH = iperadrenocorticismo ipofisi-dipendente.

I risultati del test non sono mai diagnostici di neoplasia surrenalica; in altri termini, la mancata soppressione è compatibile con l'endocrinopatia ipofisi-dipendente e con la neoplasia surrenalica.

Nel 5-10% circa dei cani con iperadrenocorticismismo si osserva una soppressione analoga a quella presente nei cani normali.^{4,20} Quando gli esiti del test di soppressione con basse dosi di desametazone siano normali e tuttavia persista il fondato sospetto clinico di iperadrenocorticismismo, è consigliabile esaminare nuovamente l'animale a distanza di 1 o 2 mesi utilizzando il test di stimolazione con ACTH, quello combinato e/o il test LDDS. Inoltre, è possibile che patologie croniche di origine non surrenalica oppure terapie recenti o in corso con farmaci quali glucocorticoidi e fenobarbital riducano l'effetto soppressivo del desametazone (valore falsamente positivo, vedi il paragrafo relativo ai test di funzionalità surrenalica in caso di patologie coesistenti o di origine non surrenalica).¹⁶⁻¹⁹ Nel cane, le variazioni individuali nel metabolismo del desametazone possono essere all'origine di risultati falsamente positivi e falsamente negativi.³⁰

Commenti

Il test LDDS è l'indagine di screening dotata di maggiore sensibilità (fra 85% e 100%; Tabella 1),^{5,19,22,31} mentre possiede bassa specificità (dal 44% al 73%).^{5,19,22,31} Pertanto, benché sia adatto per la diagnosi di iperadrenocorticismismo, è possibile che ne riveli falsamente l'esistenza in cani con patologie di origine non surrenalica. È fondamentale che il test venga impiegato unicamente quando l'indice di sospetto della condizione è elevato. Benché l'esame richieda tempi piuttosto lunghi per essere completato, la diagnosi di iperadrenocorticismismo ipofisi-dipendente viene stabilita nel 40% - 60% dei casi, permettendo di risparmiare tempo e di limitare i costi legati a ulteriori indagini.³⁻⁵

Mentre nel cane la prova di soppressione con desametazone a basso dosaggio costituisce un eccellente test di screening, in una certa percentuale di gatti normali sembra verificarsi una fuga di soppressione della cortisolemia nel campione prelevato a 8 ore di distanza dalla somministrazione.²⁹ Pertanto, è possibile che il test fornisca risultati falsamente positivi e non sia adatto all'impiego nel gatto. Nella specie felina, la presenza di iperadrenocorticismismo viene valutata impiegando desametazone alla dose di 0,1 mg/kg. Facendo uso del dosaggio più elevato, la sensibilità dell'esame raggiunge il 75%.²³ Come consigliato nel cane, nei gatti con risultati normali nonostante la presenza di segni clinici indicanti l'endocrinopatia è opportuno eseguire ulteriori indagini.

Test di misurazione del rapporto cortisolo:creatinina nell'urina

Impiego e presupposti teorici

Il test di misurazione del rapporto cortisolo:creatinina nell'urina (UCCR, *urine cortisol:creatinine ratio test*) viene utilizzato per valutare la presenza di iperadrenocorticismismo nel gatto e nel cane. L'innalzamento della cortisolemia asso-

ciata all'endocrinopatia comporta un aumento dei livelli di cortisolo nelle urine. Le misurazioni della creatinina vengono eseguite per tenere conto della diluizione dell'urina.

Protocollo

Si invia in laboratorio un singolo campione di urina per le misurazioni di cortisolo e creatinina.³¹⁻³⁵ È consigliabile che i campioni vengano raccolti dal proprietario nell'ambiente in cui vive l'animale³² per evitare lo stress associato alla visita ambulatoriale e l'effetto che ne consegue sui livelli urinari di steroidi.³²

Valori normali e interpretazione

I valori normali del rapporto cortisolo:creatinina nelle urine variano fra i diversi laboratori. Il reperto di un rapporto elevato è riferibile a iperadrenocorticismismo.³¹⁻³⁵ Tuttavia, nel 75% - 80% circa dei cani con patologie non surrenaliche tale rapporto si innalza e quindi i risultati dell'esame devono essere interpretati con cautela e devono sempre essere confermati da altri test di screening. Nel gatto, l'esperienza rispetto a questo test è limitata.³⁵ Data la rarità dell'iperadrenocorticismismo in questa specie animale, si consiglia di eseguire ulteriori indagini sull'asse ipotalamo-ipofisi-surrene.

Commenti

La specificità del test UCCR è molto bassa, variando fra 22% e 77% (Tabella 1).^{5,19,31,34} Dato l'elevato grado di sensibilità segnalato in alcuni studi, è stato consigliato di utilizzare il test a scopo prognostico negativo (se il valore del rapporto è normale, la presenza di iperadrenocorticismismo è improbabile). Pertanto, il test è adatto per valutare i cani con basso indice di sospetto di iperadrenocorticismismo o quelli che non possono essere ricoverati a scopo diagnostico; tuttavia, in una percentuale di casi compresa fra 8% e 40% si rilevano risultati falsamente negativi (ovvero UCCR normale in cani con iperadrenocorticismismo).^{5,19}

Test combinato di soppressione con desametazone e stimolazione con corticotropina

Impiego e presupposti teorici

Il test combinato serve principalmente per valutare la presenza di iperadrenocorticismismo nel cane e nel gatto oltre che per distinguere fra la forma ipofisi-dipendente e quella di origine surrenalica nella specie canina (nel cane, il test ha scopi sia di screening [stimolazione con ACTH] che di differenziazione [soppressione con alte dosi di desametazone]); invece, nel gatto è un'associazione fra due test di screening. L'indagine consente di valutare la capacità di riserva corticosurrenalica oltre che l'integrità del circuito di *feedback* negativo in entrambe le specie.

Protocollo

Sono stati utilizzati diversi protocolli.^{10,17,36-40} Si preleva un primo campione di sangue per determinare la cortisolemia, quindi si somministra desametazone (0,1 mg/kg per via endovenosa) e si preleva un secondo campione dopo che siano trascorse 4 ore. Immediatamente dopo quest'ultimo prelievo, si procede alla somministrazione di ACTH gel oppure di cosintropina (vedi il paragrafo Protocollo del Test di Stimolazione con Corticotropina); quindi si preleva un ulteriore campione dopo 1 ora (se è stato utilizzato ACTH sintetico) o dopo 2 ore (nel caso dell'ACTH in gel). Quando venga impiegato ACTH in gel nel gatto, occorre prelevare campioni di sangue a distanza di 1 e 2 ore dalla somministrazione. Un protocollo alternativo richiede che il prelievo successivo alla somministrazione del desametazone sia eseguito dopo 2 ore dalla stessa anziché dopo 4. Entrambi i protocolli sono accettabili.

Valori normali

I valori normali corrispondono a quelli dei singoli test di stimolazione con ACTH o di soppressione con alte dosi di desametazone (i valori precedenti il test sono compresi fra 0,5 e 4,0 µg/ml [da 14 a 110 nmol/l] nel cane e fra 0,3 e 0,5 µg/ml [da 8,3 a 138 nmol/l] nel gatto). I valori seguenti la somministrazione di desametazone devono essere inferiori a 1,0 - 1,4 µg/ml (da 28 a 39 nmol/l); quelli seguenti la somministrazione di ACTH sono compresi fra 8 e 20 µg/ml (da 220 a 552 nmol/l) nel cane e fra 5 e 15 µg/ml (da 138 a 414 nmol/l) nel gatto.

Interpretazione

Benché l'interpretazione del test combinato sia simile a quella dei test individuali, la prova deve essere valutata in modo unitario. La parte del test costituita da stimolazione con ACTH serve quale indagine di screening con pari impiego, vantaggi e svantaggi della stimolazione con ACTH applicata singolarmente. L'associazione della componente di soppressione con desametazone consente di (1) identificare gli animali con iperadrenocorticismo che rispondono normalmente all'ACTH mentre non dimostrano un grado normale di soppressione della cortisolemia in risposta a 0,1 mg/kg di desametazone e (2) diagnosticare immediatamente l'endocrinopatia ipofisi-dipendente in cani con risposta esagerata all'ACTH e soppressione normale in seguito alla somministrazione di desametazone.

Una risposta normale all'ACTH associata a resistenza alla soppressione con desametazone è riferibile a iperadrenocorticismo e richiede ulteriori indagini differenziali. Nella specie felina, l'esperienza relativa al test combinato è limitata.^{17,23,40,41} Nei gatti affetti da iperadrenocorticismo è prevedibile il riscontro di risposte esagerate all'ACTH e resistenza al test di soppressione con desametazone, benché la stimolazione con ACTH risulti eccessiva soltanto nel 50% circa dei soggetti esaminati.²³ Come per gli altri test di screening, quando si ottengano risultati equivoci oppure normali in animali con sospetto iperadrenocorticismo è opportuno proseguire l'indagine con i test LDDS

(cane) o HDDS (gatto) oppure ripetere la stimolazione con ACTH dopo 1 o 2 mesi se i segni clinici persistono (Figg. 1 e 2).

Commenti

Nel cane, le indicazioni circa l'uso del test combinato nella diagnosi e differenziazione dell'iperadrenocorticismo sono discordanti.^{10,36-39} Un ricercatore ha stabilito che l'indagine combinata non era consigliabile nel cane^{38,39} anche se aveva accertato che era in grado di rilevare con precisione la condizione nell'86%³⁸ o nel 76%³⁹ dei cani esaminati. In un altro studio, l'accuratezza diagnostica (90%) era simile a quella del test LDDS (Tabella 1), al pari di sensibilità (93%) e specificità (73%).⁵ Il test combinato comporta qualche vantaggio rispetto a quello LDDS; infatti, il primo viene eseguito in 3 - 6 ore, mentre il secondo ne richiede 8, inoltre fornisce informazioni circa la riserva corticosurrenalica oltre che sull'integrità del circuito di *feed-back* negativo e consente di diagnosticare la presenza di iperadrenocorticismo ipofisi-dipendente in cani con soppressione normale della cortisolemia in seguito a somministrazione di desametazone e risposta eccessiva alla stimolazione con ACTH.

Test di funzionalità surrenalica in caso di patologie non surrenaliche o concomitanti

È possibile che i test di funzionalità surrenalica forniscano risultati anomali in cani e gatti con patologie non surrenaliche; infatti, lo stress legato allo stato patologico è in grado di attivare l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene stimolando l'ipersecrezione di ACTH e/o cortisolo oppure alterando il metabolismo di quest'ultimo. Le difficoltà si presentano quando le patologie non surrenaliche inducono innalzamenti eccessivi dei livelli urinari o plasmatici di cortisolo, risposte esagerate all'ACTH o la mancata soppressione al desametazone in animali esenti da iperadrenocorticismo. Ad esempio, gli esiti dei test di funzionalità surrenalica sono anomali in cani e gatti con nefropatie o epatopatie croniche, diabete mellito non controllato e altri stati patologici.¹⁶⁻¹⁹ Anche alcuni fattori ambientali sono in grado di alterare gli esiti dei test.^{32,42}

I parametri di sensibilità, specificità e precisione diagnostica sono strumenti per stabilire la capacità del test di screening di distinguere accuratamente i cani con iperadrenocorticismo da quelli normali oppure colpiti da patologie non surrenaliche. Nel presente lavoro, il termine specificità indica la capacità di identificare correttamente i cani non affetti da iperadrenocorticismo da parte dei test applicati all'asse ipotalamo-ipofisi-surrene. Il grado ottimale di specificità è pari a 100%. Fra i test di screening comunemente impiegati, quello di stimolazione con ACTH è dotato del massimo livello di specificità (fra 82% e 91%) e come tale è stato suggerito da un gruppo²² quale migliore test di screening per l'iperadrenocorticismo nel cane (Tabella 1). La specificità è più bassa per il test LDDS (da 44% a 73%) e per quello combinato (73%). Il grado di specificità segnalato per il test UCCR è estremamente variabile (dal 22% al 77%).

Nella maggior parte dei test, il livello di sensibilità variava notevolmente, benché in genere risultasse più elevato nel test LDDS (da 85% a 100%), in quello combinato (93%) e in quello di stimolazione con ACTH (da 80% a 95%). La sensibilità del test UCCR variava dal 50% al 100% a seconda degli studi. Il grado di accuratezza diagnostica era più elevato nei test LDDS, combinato e di stimolazione con ACTH; i risultati del test UCCR variavano notevolmente.

Nei cani con patologie non surrenaliche, se possibile occorre rimandare le indagini per la ricerca di iperadrenocorticism; in caso contrario, il test di stimolazione con ACTH viene consigliato quale più appropriato.²² Quando quest'ultimo venga integrato dal test di soppressione con desametasone, l'accuratezza e la sensibilità diagnostica aumentano, mentre la specificità diminuisce. Forse il test combinato sarebbe più adatto in questi soggetti, tuttavia, prima di formulare consigli è necessario eseguire ulteriori ricerche.

Alcuni farmaci, in particolare anticonvulsivanti e glucocorticoidi, possono indurre risultati falsamente positivi. I glucocorticoidi interferiscono con i test di valutazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene in due modi, ovvero attraverso reazioni crociate con la prova del cortisolo (cortisone, idrocortisone, prednisone e prednisolone) e/o mediante attivazione del circuito di *feedback* negativo dell'ormone, con conseguente atrofia corticosurrenalica. È fondamentale ricordare che le preparazioni topiche, otologiche oppure oftalmiche vengono assorbite prontamente ed esercitano lo stesso effetto dei glucocorticoidi somministrati per via parenterale.⁴³⁻⁴⁶ Il fenobarbital somministrato in cani normali oppure affetti da epilessia per periodi brevi (8 settimane) o prolungati (12 mesi) non alteravano i livelli di cortisolo prima o dopo la stimolazione con ACTH.^{47,48} Tuttavia, in uno dei cinque cani mancava la soppressione del cortisolo dopo inoculazione di desametasone a basso dosaggio a distanza di 6 e 12 mesi dall'inizio della terapia con fenobarbital.⁴⁷

L'iperadrenocorticism può essere complicato da patologie concomitanti quali diabete mellito, nefropatie, infezioni del tratto urinario, tromboembolia, polmonite, dermatopatie e altre. Inoltre, poiché i soggetti affetti dall'endocrinopatia e da patologie coesistenti sono di età media o avanzata, si verificano con maggiore frequenza malattie più diffuse fra cani e gatti anziani. Benché siano stati documentati esiti anomali degli esami di funzionalità surrenalica in cani con diabete mellito, nei soggetti in stato di buona regolazione si ottenevano risposte normali ai test di stimolazione con ACTH e di soppressione con desametasone.¹⁶ Queste osservazioni suggeriscono che la semplice presenza del diabete mellito non altera i risultati dei test, mentre riveste importanza il grado di regolazione. Inoltre, i cani scarsamente regolati affetti da diabete mellito sembrano fornire risultati anomali in assenza di iperadrenocorticism.¹⁸ Se possibile, è consigliabile rimandare l'effettuazione dei test fino a quando le condizioni del soggetto non siano adeguatamente regolate. Ad esempio, un soggetto diabetico con chetoacidosi deve essere stabilizzato prima di valutarne l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene. Tuttavia, in rare situazioni, animali colpiti gravemente e con complicazioni associate ad iperadrenocorticism (ad es. sepsi, polmonite, tromboembolia) trarrebbero vantaggio

da diagnosi rapide e concomitante trattamento dell'endocrinopatia e relative complicazioni.

È difficile decidere se occorra eseguire in primo luogo i test oppure stabilizzare il soggetto. In alcuni casi, quale un cane con anamnesi e segni clinici pre-esistenti riferibili a iperadrenocorticism e una nota complicazione della condizione (tromboembolia polmonare) oppure un gatto con diabete mellito e cute fragile e sottile che si lacera facilmente (in presenza o assenza di infezione e chetoacidosi), l'autore sceglierebbe di valutare l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene e contemporaneamente stabilizzare le condizioni del soggetto. In queste e in poche altre circostanze, attendere che le condizioni del soggetto si normalizzino è dannoso ed è possibile che alcuni individui non presentino miglioramenti fintanto che i livelli di cortisolo non iniziano a diminuire.

CONCLUSIONE

Esistono numerosi test per valutare la funzionalità ipofisaria e surrenalica, benché nessuno di questi sia il più adatto in tutti i cani o i gatti. Pertanto, bisogna comprendere quale sia opportuno utilizzare e per quale motivo. Spesso è necessario eseguire molteplici test di funzionalità allo scopo di valutare efficacemente l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene. In generale, la diagnosi di iperadrenocorticism deve essere confermata con più di un esame. Nel gatto, l'esperienza clinica nell'ambito di questi test è estremamente limitata; pertanto, in questa specie è particolarmente importante eseguire molteplici prove che dovranno essere interpretate con cautela.

Note sull'Autore

Il Dr. Zerbe è affiliato al Department of Clinical Studies, School of Veterinary Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, Pennsylvania.

Bibliografia

1. Jones CA, Refsal KR, Lippert AC, et al: Changes in adrenal cortisol secretion as reflected in the urinary cortisol/creatinine ratio in dogs. *Domest Anim Endocrinol* 7:559-572, 1990.
2. Behrend EN, Kemppainen RJ, Young DW: Effect of storage conditions on cortisol, total thyroxine, and free thyroxine concentrations in serum and plasma of dogs. *JAVMA* 10: 1564-1568, 1998.
3. Feldman EC, Nelson RW, Feldman MS: Use of low- and high-dose dexamethasone tests for distinguishing pituitary-dependent from adrenal tumor hyperadrenocorticism in dogs. *JAVMA* 209:772-775, 1996.
4. Feldman EC, Nelson RW: Hyperadrenocorticism (Cushing's syndrome), in *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. Philadelphia, WB Saunders Co, 1996, pp 187-265.
5. Zerbe CA, Nachreiner RF, Refsal KR, et al: Adrenal function testing in dogs with hyperadrenocorticism (Abstr). *Proc 5th ACVIM Forum*:883, 1987.
6. Frank LA, Oliver DW: Comparison of serum cortisol concentrations in clinically normal dogs after administration of freshly reconstituted versus reconstituted and stored frozen cosyntropin. *JAVMA* 212:1569-1571, 1998.
7. Dickstein G, Schechter C, Nicholson WE, et al: Adrenocorticotropin stimulation test: Effects of basal cortisol level, time of day, and suggested new sensitive low dose test. *J Clin Endocrinol Metab* 72:773-778, 1991.
8. Feldman EC: Comparison of ACTH response and dexamethasone sup-

- pression as screening tests in canine hyperadrenocorticism. *JAVMA* 182:506-510, 1982.
9. Hansen B, Kempainen RJ, MacDonald JM: Synthetic ACTH (cosyntropin) stimulation tests in normal dogs: Comparison of intravenous and intramuscular administration. *JAAHA* 30:38-41, 1994.
 10. Kempainen RJ, Zerbe CA: Common endocrine diagnostic tests: Normal values and interpretation, in Kirk RW (ed): *Current Veterinary Therapy X* WB Saunders Co, 1989, pp 961-968.
 11. Kerl ME, Peterson ME, Wallace MS, et al: Evaluation of a low-dose synthetic adrenocorticotropic hormone stimulation test in clinically normal dogs and dogs with naturally developing hyperadrenocorticism. *JAVMA* 214:1497-1501, 1999.
 12. Kempainen RJ, Mansfield PD, Sartin DL: Endocrine responses of normal cats to TSH and synthetic ACTH administration. *JAAHA* 20:737-740, 1984.
 13. Peterson ME, Kintzer PP, Foodman MS, et al: Adrenal function in the cat: Comparison of the effects of cosyntropin (synthetic ACTH) and corticotropin gel stimulation. *Res Vet Sci* 37:331-333, 1984.
 14. Smith MC, Feldman EC: Plasma endogenous ACTH concentrations and plasma cortisol responses to synthetic ACTH and dexamethasone sodium phosphate in healthy cats. *Am J Vet Res* 48:1719-1724, 1987.
 15. Sparkes AT, Adams DT, Douthwaite JA, Gruffydd-Jones TJ: Assessment of adrenal function in cats: Response to intravenous synthetic ACTH. *J Small Anim Pract* 31:2-5, 1990.
 16. Zerbe CA, Refsal KR, Schall WD, et al: Adrenal function in 15 dogs with insulin-dependent diabetes mellitus. *JAVMA* 193:454-456, 1988.
 17. Zerbe CA, Refsal KR, Peterson ME, et al: Effect of nonadrenal illness on adrenal function in the cat. *Am J Vet Res* 48:451-454, 1987.
 18. Chastain CB, Franklin RT, Ganjam VK, Madsen RW: Evaluation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in clinically stressed dogs. *JAAHA* 22:435-442, 1986.
 19. Kaplan AJ, Peterson ME, Kempainen RJ: Effects of disease on the results of diagnostic tests for use in detecting hyperadrenocorticism in dogs. *JAVMA* 207:445-451, 1995.
 20. Peterson ME: Hyperadrenocorticism. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 14:731-749, 1984.
 21. Peterson ME, Gilbertson SR, Drucker WD: Plasma cortisol response to exogenous ACTH in 22 dogs with hyperadrenocorticism caused by adrenocortical neoplasia. *JAVMA* 180:542-544, 1982.
 22. van Liew CH, Greco DS, Salman MD: Comparison of results of adrenocorticotrophic hormone stimulation and lowdose dexamethasone suppression tests with necropsy findings in dogs: 81 cases (1985-1995). *JAVMA* 21:322-325, 1997.
 23. Duesberg C, Peterson ME: Adrenal disorders in cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 27:321-347, 1997.
 24. Daley CA, Zerbe CA, Schick RO, et al: Use of metyrapone to treat pituitary-dependent hyperadrenocorticism in a cat with large cutaneous wounds. *JAVMA* 202:956-960, 1993.
 25. Kintzer PP, Peterson ME: Mitotane treatment of 32 dogs with cortisol-secreting adrenocortical neoplasms. *JAVMA* 250:54-61, 1994.
 26. Feldman EC, Bruyette DS, Nelson RW, et al: Plasma cortisol response to ketoconazole administration in dogs with hyperadrenocorticism. *JAVMA* 197:71-74, 1990.
 27. Mack RE, Feldman EC: Comparison of two low-dose dexamethasone suppression protocols as screening and discrimination tests in dogs with hyperadrenocorticism. *JAVMA* 197:1603-1606, 1990.
 28. Medleau L, Cowan LA, Cornelius LM: Adrenal function testing in the cat: The effect of low dose intravenous dexamethasone administration. *Res Vet Sci* 42:260-261, 1987.
 29. Peterson ME, Graves TK: Effect of low dosages of intravenous dexamethasone on serum cortisol concentrations in the normal cat. *Res Vet Sci* 44:38-40, 1988.
 30. Kempainen RJ, Peterson ME: Circulating concentration of dexamethasone in healthy dogs, dogs with hyperadrenocorticism, and dogs with nonadrenal illness during dexamethasone testing. *Am J Vet Res* 54:1765-1769, 1993.
 31. Rijnberk A, Van Wees A, Mol JA: Assessment of two tests for the diagnosis of canine hyperadrenocorticism. *Vet Rec* 122:178-180, 1988.
 32. van Vonderen IK, Koistra HS, Rijnberk A: Influence of veterinary care on the urinary corticoid:creatinine ratio in dogs. *J Vet Intern Med* 12:431-435, 1998.
 33. Smiley L, Peterson ME: Evaluation of a urine cortisol:creatinine ratio as a screening test for hyperadrenocorticism in dogs. *J Vet Intern Med* 7:163-168, 1993.
 34. Feldman EC, Mack RE: Urine cortisol:creatinine ratio as a screening test for hyperadrenocorticism in dogs. *JAVMA* 200:1637-1641, 1992.
 35. Goosens MM, Meyer HP, Voorhout G, et al: Urinary excretion of glucocorticoids in the diagnosis of hyperadrenocorticism in cats. *Domest Anim Endocrinol* 12:355-362, 1995.
 36. Eiler H, Oliver JW: Combined dexamethasone suppression and cosyntropin (synthetic ACTH) stimulation test in the dog: New approach to testing of adrenal gland function. *Am J Vet Res* 41:1243-1246, 1980.
 37. Eiler H, Oliver JW, Legendre AM, et al: Stages of hyperadrenocorticism: Response of hyperadrenocorticoid dogs to the combined dexamethasone suppression/ACTH stimulation tests. *JAVMA* 185:289-294, 1984.
 38. Feldman EC: Evaluation of a combined dexamethasone suppression/ACTH stimulation test in dogs with hyperadrenocorticism. *JAVMA* 187:49-53, 1985.
 39. Feldman EC: Evaluation of a six-hour combined dexamethasone suppression/ACTH stimulation test in dogs with hyperadrenocorticism. *JAVMA* 189:1562-1566, 1986.
 40. Zerbe CA, Nachreiner RF, Dunstan RW, et al: Hyperadrenocorticism in a cat. *JAVMA* 190:559-563, 1987.
 41. Peterson ME, Steele P: Pituitary-dependent hyperadrenocorticism in a cat. *JAVMA* 189:680-683, 1986.
 42. Vial GC, Stabenfeldt GH, Franti CE, Ling GL: Influence of environment on adrenal cortical response to ACTH stimulation in clinically normal dogs. *Am J Vet Res* 40:919-921, 1979.
 43. Zenoble RD, Kempainen RJ: Adrenocortical suppression by topically applied corticosteroids in healthy dogs. *JAVMA* 191:685-688, 1987.
 44. Stolp R, Rijnberk A, Meijer JC, et al: Urinary corticoids in the diagnosis of canine hyperadrenocorticism. *Res Vet Sci* 34:141-144, 1983.
 45. Roberts SM, Lavach JD, Macy DW, et al: Effect of ophthalmic prednisolone acetate on the canine adrenal gland and hepatic function. *Am J Vet Res* 45:1711-1714, 1984.
 46. Moriello KA, Fehrer-Sawyer SL, Meyer DJ, et al: Adrenocortical suppression associated with topical otic administration of glucocorticoids in dogs. *JAVMA* 193:329-331, 1988.
 47. Chauvet AE, Feldman EC, Kass PH: Effects of phenobarbital administration on results of serum biochemical analyses and adrenocortical function tests in epileptic dogs. *JAVMA* 207:1305-1307, 1995.
 48. Dyer ER, Monroe WE, Forrester SD: Effects of short- and long-term administration of phenobarbital on endogenous ACTH concentration and results of ACTH stimulation tests in dogs. *JAVMA* 205:315-318, 1994.