

Année 2021

**RECHERCHE DE FACTEURS DE RISQUE DE DÉCÈS POTENTIELS CHEZ LES
CHIENS ATTEINTS DE LA MALADIE DE CUSHING : ÉTUDE RÉTROSPECTIVE
SUR 80 CAS DIAGNOSTIQUÉS AU CHUVA ENTRE 2008 ET 2018**

THÈSE

pour obtenir le diplôme d'État de
DOCTEUR VÉTÉRIINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant
la Faculté de Médecine de Créteil (UPEC)
le 08 décembre 2021

par
Valentine Marie GÉRARD-HIRNE
née le 12 juin 1995 à Sèvres (Hauts-de-Seine)

sous la co-direction de

Ghita BENCHEKROUN et Loïc DESQUILBET

JURY

Présidente du jury :	Mme Fanny PILOT-STOCK	Professeure à l'EnvA
Directrice de thèse :	Mme Ghita BENCHEKROUN	Maître de Conférences à l'EnvA
Examinatrice :	Mme Morgane CANONNE-GUIBERT	Maître de Conférences à l'EnvA
Membre invité :	M. Loïc DESQUILBET	Professeur à l'EnvA

Liste des personnes intervenant dans l'enseignement



Directeur : Pr Christophe Degueurce
Directeur des formations : Pr Henry Chateau
Directrice de la scolarité et de la vie étudiante : Dr Catherine Colmin

Professeurs émérites : Pr Pascal Fayolle, Pr Bernard Paragon
Directeurs honoraires : MM. les Professeurs C. Pilet, B. Toma, A.-L. Parodi, R. Morailon, J.-P. Cotard, J.-P. Mialot & M. Gogny

Département d'Élevage et de Pathologie des Équidés et des Carnivores (DEPEC)

Chef du département : Pr Grandjean Dominique - **Adjoint** : Pr Blot Stéphane

<p>Discipline : anesthésie, réanimation, urgences, soins intensifs - Pr Verwaerde Patrick</p> <p>Discipline : cardiologie - Pr Chetboul Valérie - Dr Saponaro Vittorio, Praticien hospitalier contractuel</p> <p>Discipline : nouveaux animaux de compagnie - Dr Pignon Charly, Ingénieur de recherche - Praticien hospitalier - Dr Volait Laetitia, Praticienne hospitalier contractuelle</p> <p>Discipline : dermatologie - Dr Cochet-Favre Noëlle, Praticienne hospitalier contractuelle</p> <p>Discipline : ophtalmologie - Dr Chahory Sabine, Maître de conférences</p> <p>Unité pédagogique de clinique équine - Pr Audigié Fabrice - Dr Bertoni Léila, Maître de conférences - Dr Coudry Virginie, Praticienne hospitalier contractuelle - Pr Denoix Jean-Marie - Dr Giraudet Aude, Ingénieure de recherche - Praticienne hospitalier - Dr Jacquet Sandrine, Ingénieure de recherche - Praticienne hospitalier - Dr Mespoulhès-Rivière Céline, Ingénieure de recherche-Praticienne hospitalier* - Dr Moiroud Claire, Praticienne hospitalier contractuelle - Dr Tallaj Amélie, Praticienne hospitalier contractuelle - Dr Tanquerel Ludovic, Chargé d'enseignement contractuel</p>	<p>Unité pédagogique de médecine et imagerie médicale - Dr Benckroun Ghita, Maître de conférences - Pr Blot Stéphane* - Dr Canonne-Guibert Morgane, Maître de conférences - Dr Freiche-Legros Valérie, Praticienne hospitalier contractuelle - Dr Maurey-Guénec Christelle, Maître de conférences - Dr Mortier Jérémy, Maître de conférences associé</p> <p>Unité pédagogique de médecine de l'élevage et du sport - Dr Cabrera Gonzales Joaquin, Chargé d'enseignement contractuel - Pr Fontbonne Alain - Pr Grandjean Dominique* - Dr Maenhoudt Cindy, Praticienne hospitalier contractuelle - Dr Nudemann Nicolas, Maître de conférences - Dr Ribeiro dos Santos Natalia, Praticienne hospitalier contractuelle</p> <p>Unité pédagogique de pathologie chirurgicale - Dr Decambon Adeline, Maître de conférences - Pr Manassero Mathieu - Dr Maurice Emeline, Assistante d'Enseignement et de Recherche Contractuelle - Pr Viateau-Duval Véronique*</p>
---	---

Département des Productions Animales et de Santé Publique (DPASP)

Chef du département : Pr Millemann Yves - **Adjoint** : Pr Dufour Barbara

<p>Unité pédagogique d'hygiène, qualité et sécurité des aliments - Dr Bolnot François, Maître de conférences* - Pr Carlier Vincent - Dr Gauthier Michel, Maître de conférences associé - Dr Mtimet Narjes, Chargée d'enseignement contractuelle</p> <p>Unité pédagogique de maladies réglementées, zoonoses et épidémiologie - Dr Crozet Guillaume, Chargé d'enseignement contractuel - Pr Dufour Barbara* - Dr Guétin Poirier Valentine, Chargée d'enseignement contractuelle - Pr Haddad/Hoang-Xuan Nadia - Dr Rivière Julie, Maître de conférences</p> <p>Unité pédagogique de pathologie des animaux de production - Pr Adjou Karim - Dr Belbis Guillaume, Maître de conférences* - Dr Delsart Maxime, Maître de conférences associé - Pr Millemann Yves - Dr Plassard Vincent, Praticien hospitalier contractuel - Dr Ravary-Plumioën Bérangère, Maître de conférences</p>	<p>Unité pédagogique de reproduction animale - Dr Constant Fabienne, Maître de conférences* - Dr Denis Marine, Chargée d'enseignement contractuelle - Dr Desbois Christophe, Maître de conférences (rattaché au DEPEC) - Dr Mauffré Vincent, Maître de conférences</p> <p>Unité pédagogique de zootechnie, économie rurale - Dr Arné Pascal, Maître de conférences - Dr Barassin Isabelle, Maître de conférences - Dr De Paula Reis Alline, Maître de conférences* - Pr Grimard-Ballif Bénédicte - Pr Ponter Andrew</p> <p>Rattachée DPASP - Dr Wolgust Valérie, Praticienne hospitalier contractuelle</p>
--	---

Département des Sciences Biologiques et Pharmaceutiques (DSBP)

Chef du département : Pr Desquilbet Loïc - **Adjoint** : Pr Pilot-Storck Fanny

<p>Unité pédagogique d'anatomie des animaux domestiques - Pr Chateau Henry - Pr Crevier-Denoix Nathalie - Pr Robert Céline*</p> <p>Unité pédagogique de bactériologie, immunologie, virologie - Pr Boulouis Henri-Jean - Pr Eloit Marc - Dr Lagrée Anne-Claire, Maître de conférences - Pr Le Poder Sophie - Dr Le Roux Delphine, Maître de conférences*</p> <p>Unité pédagogique de biochimie, biologie clinique - Pr Bellier Sylvain* - Dr Deshuillers Pierre, Maître de conférences</p> <p>Unité pédagogique d'histologie, anatomie pathologique - Dr Cordonnier-Lefort Nathalie, Maître de conférences - Pr Fontaine Jean-Jacques - Dr Jouvion Grégory, Professeur associé - Dr Reyes-Gomez Edouard, Maître de conférences*</p> <p>Unité pédagogique de management, communication, outils scientifiques - Mme Conan Muriel, Professeur certifié (Anglais) - Pr Desquilbet Loïc, (Biostatistique, Epidémiologie) - Dr Legrand Chantal, Maître de conférences associée - Dr Marnagnac Geneviève, Maître de conférences* - Dr Rose Hélène, Maître de conférences associée</p>	<p>Unité de parasitologie, mycologie - Dr Blaga Radu, Maître de conférences (rattaché au DPASP) - Pr Guillot Jacques - Dr Polack Bruno, Maître de conférences* - Dr Risco-Castillo Veronica, Maître de conférences</p> <p>Unité pédagogique de pharmacie et toxicologie - Dr Kohlhauer Matthias, Maître de conférences - Dr Perrot Sébastien, Maître de conférences* - Pr Tissier Renaud</p> <p>Unité pédagogique de physiologie, éthologie, génétique - Dr Chevallier Lucie, Maître de conférences (Génétique) - Dr Crépeaux Guillemette, Maître de conférences (Physiologie, Pharmacologie) - Pr Gilbert Caroline (Ethologie) - Pr Pilot-Storck Fanny (Physiologie, Pharmacologie) - Pr Tiret Laurent (Physiologie, Pharmacologie)* - Dr Titeux Emmanuelle (Ethologie), Praticienne hospitalier contractuelle</p> <p>Rattachée DSBP - Mme Dalaine Stéphanie, Professeur agrégée (Sciences de la Vie et de la Terre)</p>
---	---

* responsable d'unité pédagogique

Remerciements

À la Présidente du Jury de cette thèse, Fanny Pilot-Storck, Professeure à l'EnvA,
Pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury, ainsi que ces heures de travaux dirigés passionnants sur la physiologie. Hommage respectueux.

À mon directeur, Loïc Desquilbet, Professeur à l'EnvA,
Pour m'avoir fait l'honneur de diriger cette thèse. Pour vos précieux conseils et tout le temps que vous m'avez accordé. Profonds remerciements.

À ma directrice, Ghita Benchekroun, Maitre de conférences à l'EnvA,
Pour avoir accepté la direction de ce travail ainsi que la précision de vos corrections. Pour votre immense bienveillance à l'égard des étudiants de cette école. Sincères remerciements.

À mon examinatrice, Morgane Canonne-Guibert, Maitre de conférences à l'EnvA,
Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être examinatrice de ce jury. Pour votre disponibilité et votre bienveillance. Mes sincères remerciements.

À mes parents,
Pour m'avoir toujours accordé votre plus grande confiance. Merci d'avoir tout mis en œuvre pour me permettre d'accomplir mes projets. Je vous aime profondément.

À ma sœur, Cécilia,
Pour ton soutien infailible ainsi que tous ces moments de sororité. Pour nos précieux souvenirs. Merci d'avoir toujours été là.

À notre Plume adorée

Table des matières

Liste des figures.....	5
Liste des tableaux	7
Introduction	11
Première partie : bibliographie.....	11
I. Rappels sur la physiologie de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien.....	13
A. Rappels sur les données anatomiques de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien ...	13
1. Anatomie de l'hypothalamus	13
2. Anatomie de l'hypophyse	13
3. Anatomie des glandes surrénales	15
B. L'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien : un système intégré permettant une régulation fine de la sécrétion de cortisol	17
II. La maladie de Cushing : un hypercorticisme d'origine centrale.....	18
A. Rappels sur les différentes causes de l'hypercorticisme	18
B. Physiopathologie de la maladie de Cushing.....	19
C. Epidémiologie descriptive	21
D. Présentation clinique.....	21
1. Signes cliniques fréquemment observés	21
2. Signes cutanés	23
3. Signes respiratoires	24
4. Signes cliniques rares	25
E. Démarche diagnostique face à une suspicion	27
1. Les examens d'orientation	27
1.1 Les anomalies de la numération formule sanguine.....	27
1.2 Les anomalies biochimiques	27
1.2.1 Les anomalies des paramètres hépatiques.....	27
1.2.2 Les anomalies de la glycémie et l'insulinémie.....	28
1.2.3 Les anomalies de la lipémie	28
1.2.4 Les anomalies de la lipase pancréatique	28
1.2.5 Les autres anomalies.....	28
1.3 Les anomalies du ionogramme	28
1.4 Les anomalies de l'analyse urinaire.....	28
2. Les examens de confirmation	29
2.1 La mesure du rapport cortisol/créatinine urinaire : un test d'exclusion.....	29
2.2 Le test de stimulation à l'ACTH (<i>adrenocorticotrop hormone</i>)	30
2.3 Le test de freinage à la dexaméthasone dose faible.....	32
2.4 Le test de freinage à la dexaméthasone dose faible combiné à la mesure du rapport cortisol/créatinine urinaire.....	33
3. L'établissement du diagnostic étiologique	34
3.1 Examens sanguins.....	34

3.1.1	Le test de freinage à la dexaméthasone dose faible	34
3.1.2	Le test de freinage à la dexaméthasone dose forte	34
3.1.3	Le test de freinage à la dexaméthasone dose forte combiné à la mesure du rapport cortisol/créatinine urinaire.....	35
3.1.4	Dosage de l'ACTH (<i>adrenocorticotropic hormone</i>) endogène	35
3.2	Examens d'imagerie.....	36
3.2.1	L'échographie abdominale	36
3.2.2	L'examen tomodensitométrie et l'Imagerie par Résonance Magnétique...	39
F.	La démarche thérapeutique lors de maladie de Cushing	41
1.	Le traitement médical de la maladie de Cushing	41
1.1	Le traitement anciennement utilisé : le mitotane.....	41
1.2	Le traitement couramment utilisé aujourd'hui : le trilostane	42
2.	Le traitement locorégional : la radiothérapie.....	46
3.	Le traitement chirurgical : l'hypophysectomie transsphénoïdale	48
G.	Pronostic et facteurs de risques de décès : point sur les données actuelles	49
Deuxième partie : étude expérimentale		51
I. Introduction.....		51
II. Matériels et méthodes		52
A.	Population source et population cible	52
B.	Critères d'inclusion et de non-inclusion	52
C.	Bilan des individus inclus et non-inclus dans l'étude	54
D.	Recueil des données	55
1.	Commémoratifs.....	55
2.	Signes cliniques et paracliniques	55
3.	Analyses sanguines	56
3.1	Analyse biochimique	56
3.2	Ionogramme.....	56
3.3	Tests de caractérisation	56
4.	Analyse d'urine	57
5.	Examen tomodensitométrie.....	57
6.	Données relatives au suivi	57
E.	Analyse statistique des données.....	58
1.	Recodage des variables relatives aux expositions d'intérêt pour l'analyse de survie..	58
2.	Association entre une exposition d'intérêt et la durée de survenue du décès	61
III. Résultats		62
A.	Caractéristiques épidémiologiques de l'échantillon étudié.....	62
B.	Recueil des données médicales dans notre échantillon	64
C.	Analyse de survie.....	67
1.	Analyse de survie générale.....	67
2.	Analyse de survie univariée selon les données épidémiologiques	68
2.1	Analyse de survie univariée selon l'âge au diagnostic.....	68
2.2	Analyse de survie univariée selon le sexe.....	69
2.3	Analyse de survie univariée selon le statut stérilisé ou non	70
2.4	Analyse de survie selon la race	71

2.5	Analyse de survie selon la présence d'une maladie intercurrente.....	72
3.	Analyse de survie univariée selon les données cliniques	73
3.1	Analyse de survie selon le nombre de signes cliniques présentés	73
3.2	Analyse de survie selon la pression artérielle.....	74
4.	Analyse de survie univariée selon les données paracliniques	75
4.1	Analyse de survie selon la biochimie sanguine	75
4.1.1	Analyse de survie selon l'enzymologie hépatique.....	75
4.1.1.1	Analyse de survie selon la concentration en phosphatases alcalines	75
4.1.1.2	Analyse de survie selon la concentration en alanine aminotransférase ...	76
4.1.2.	Albuminémie	78
4.2	Analyse de survie selon la phosphorémie	79
4.3	Analyse de survie selon les données des tests de caractérisation	80
4.3.1	Analyse de survie sur la cortisolémie basale	80
4.3.2	Analyse de survie selon les données du test de stimulation à l'ACTH	81
4.3.3	Analyse de survie selon les données du test de freinage à la dexaméthasone à dose faible.....	81
4.3.3.1	Cortisolémie à t = 4h post-freinage	82
4.3.3.2	Cortisolémie à t = 8h post-freinage	83
4.4	Analyse de survie selon les données de l'analyse urinaire	84
4.4.1	Analyse de survie selon la protéinurie objectivée par bandelette urinaire	84
4.4.2	Analyse de survie selon la protéinurie objectivée par la mesure du RPCU	84
5.	Analyse de survie selon les données de l'examen tomodensitométrie	85
IV.	Discussion	87
A.	Discussion sur les résultats relatifs aux différentes expositions d'intérêt.....	87
1.	Discussion sur les données épidémiologiques	87
1.1	Discussion sur l'âge au diagnostic	87
1.2	Discussion sur le sexe et le statut stérilisé	88
1.3	Discussion sur la race	89
1.4	Discussion sur la présence de maladie(s) intercurrente(s)	89
2.	Discussion sur les données cliniques.....	90
2.1	Discussion sur l'indice clinique	90
2.2	Discussion sur la pression artérielle	90
3.	Discussion sur les données relatives à la biochimie sanguine et au ionogramme ..	91
3.1	Discussion sur l'enzymologie hépatique	91
3.2	Discussion sur l'albuminémie	92
3.3	Discussion sur la phosphorémie.....	92
4.	Discussion sur la protéinurie	93
5.	Discussion sur les données relatives aux tests de caractérisation de l'hypercorticisme	95
5.1	Discussion sur la cortisolémie basale.....	95
5.2	Discussion sur les données relatives au test de stimulation à l'ACTH	96
5.3	Discussion sur les données relatives au test de freinage à la dexaméthasone dose faible.....	96
6.	Discussion sur la taille de l'hypophyse à l'examen tomodensitométrie	96
B.	Discussion sur le protocole utilisé	97
1.	Discussion sur les caractéristiques de l'échantillon	97

1.1	Discussion sur la taille de l'échantillon.....	97
1.2	Discussion sur le mode de recrutement des individus et le biais de sélection.....	98
2.	Discussion sur le recueil des données	99
3.	Discussion sur les caractéristiques de l'événement « décès »	100
4.	Discussion sur la méthode statistique	100
C.	Discussion sur les différents biais d'association.....	101
1.	Discussion sur les biais de classement	101
2.	Discussion sur les biais de confusion	103
	Conclusion.....	107
	Liste des références bibliographiques	109

Liste des figures

Figure 1 : Schéma de l'anatomie de l'hypophyse (Barone et Simoens, 2010)	14
Figure 2 : Cascade de formation des hormones stéroïdes à partir du cholestérol chez le chien (Sanders <i>et al.</i> , 2016).....	16
Figure 3 : Régulation de la sécrétion de cortisol par l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (Feldman <i>et al.</i> , 2015)	17
Figure 4 : Schéma simplifié du syndrome de Cushing d'origine hypophysaire ou surrénalienne (Ettinger <i>et al.</i> , 2017).....	19
Figure 5 : Distension abdominale chez un chien bouledogue français atteint d'hypercorticisme hypophysaire (Ettinger <i>et al.</i> , 2017).....	22
Figure 6 : Calcinose cutanée sévère chez un chien atteint d'hypercorticisme (Ettinger <i>et al.</i> , 2017)	24
Figure 7 : Plantigradie causée par une laxité ligamentaire sévère chez un chien atteint d'hypercorticisme hypophysaire (Ettinger <i>et al.</i> , 2017).....	25
Figure 8 : Alopécie tronculaire bilatérale symétrique et pseudomyotonie chez un chien atteint d'hypercorticisme (Ettinger <i>et al.</i> , 2017)	26
Figure 9 : Régression linéaire entre le rapport cortisol/créatinine urinaire et la concentration urinaire en cortisol (Jones <i>et al.</i> , 1990).....	29
Figure 10 : Evolution de la cortisolémie avant et une heure après l'administration d'ACTH (<i>adrenocorticotropin hormone</i>) (Ettinger <i>et al.</i> , 2017).....	31
Figure 11 : Image échographique d'une tumeur surrénalienne vue en coupe longitudinale (Ettinger <i>et al.</i> , 2017).....	37
Figure 12 : image échographique d'une infiltration de la veine cave caudale par une tumeur surrénalienne (Ettinger <i>et al.</i> , 2017).....	37
Figure 13 : Images échographique d'une glande surrénale saine en coupe longitudinale (à gauche) <i>versus</i> une glande surrénale hyperplasique chez un chien atteinte d'hypercorticisme central (à droite) (Ettinger <i>et al.</i> , 2017).....	38
Figure 14 : Arbre décisionnel au premier contrôle lors d'un traitement à base de trilostane (Ettinger <i>et al.</i> , 2017).....	44
Figure 16 : Courbe de survie générale des 80 chiens inclus dans l'étude.....	67
Figure 17 : Courbe de survie des chiens (n=80) selon l'âge au moment du diagnostic.....	68
Figure 18 : Courbe de survie des chiens (n=80) selon le sexe	69
Figure 19 : Courbe de survie des chiens (n=80) selon le statut stérilisé ou non.....	70
Figure 20 : Courbe de survie des chiens (n=80) selon la race	71
Figure 21 : Courbe de survie des chiens (n=80) selon la présence de maladie intercurrente	72
Figure 22 : Courbe de survie des chiens (n=80) selon le nombre de signes cliniques présentés...	73

Figure 23 : Courbe de survie des chiens (n=29) selon la présence d'une hypertension artérielle systémique	74
Figure 24 : Courbe de survie des chiens (n=58) selon l'activité enzymatique des PAL (phosphatases alcalines)	76
Figure 25 : Courbe de survie des chiens (n=53) selon l'activité enzymatique des ALAT (alanines aminotransférases).....	77
Figure 26 : Courbe de survie des chiens (n=47) selon l'albuminémie	78
Figure 27 : Courbe de survie des chiens (n=21) selon la phosphorémie.....	79
Figure 28 : Courbe de survie des chiens (n= 75) selon la cortisolémie basale.....	80
Figure 29 : Courbe de survie des chiens (n=24) selon la cortisolémie post-ACTH (<i>adrenocorticotropin hormone</i>)	81
Figure 30 : Courbe de survie des chiens (n=53) selon la cortisolémie à t = 4h post-freinage.....	82
Figure 31 : Courbe de survie des chiens (n=53) selon la cortisolémie à t = 8h post-freinage.....	83
Figure 32 : Courbe de survie des chiens (n=69) présentant une protéinurie (sans bactériurie) ou non, objectivée à la bandelette urinaire	84
Figure 33 : Courbe de survie des chiens (n=19) selon la valeur du rapport cortisol/créatinine urinaire	85
Figure 34 : Courbe de survie des chiens (n=37) selon la mesure du rapport P/B (pituitary height/brain area).....	86

Liste des tableaux

Tableau 1 : Critères utilisés pour recoder les différentes variables relatives aux expositions d'intérêt	60
Tableau 2 : Caractéristiques épidémiologiques générales de l'échantillon	62
Tableau 3 : Répartition des races des 80 chiens de l'étude	63
Tableau 4 : Maladies intercurrentes des 80 chiens inclus dans l'étude	64
Tableau 5 : Description des données médicales collectées pour les 80 chiens de l'étude	64
Tableau 6 : Description de la population pour les variables quantitatives étudiées	65
Tableau 7 : Proportion de chiens « exposés » dans l'échantillon pour chaque exposition d'intérêt	66
Tableau 8 : Liste des expositions testées classées par ordre de croissance du logrank testant l'association avec la survenue du décès.....	105

Liste des abréviations

11 β -HSD2 : 11-béta-hydroxystéroïde déshydrogénase 2

ACTH : *Adrenocorticotropic hormone*

ACVIM : American College of Veterinary Internal Medicine

ADH : *Antidiuretic hormone*

ALAT : Alanine aminotransférase

α -MSH : *Alpha-melanocyte-stimulating hormone*

ARN : Acide ribonucléique

CBG : *Corticosteroid-binding globulin*

CRH : *Corticotropin-releasing hormone*

CRHR1 : *Corticotropin-releasing hormone receptor 1*

ECBU : Examen cytobactériologique des urines

EDTA : Éthylènediaminetétraacétique

FSH : *Follicle stimulating hormone*

GGT : Gamma glutamyl-transférase

GH : *Growth hormone*

GR: Glucocorticoid receptor

HRP : Hypothèse des risques proportionnels

II-1 : Interleukine 1

II-6 : Interleukine 6

IQR : Intervalle interquartiles

IRM : Imagerie par résonance magnétique

ITU : Infection du tractus urinaire

LH : Luteinizing hormone

MR : *Mineralocorticoid receptor*

MRC : Maladie Rénale Chronique

TNF- α : *Tumor necrosis factor alpha*

PAL : Phosphatases alcalines

P/B : *Pituitary height/Brain area*

POMC : Pro-opiomélanocortine

PTH : *Parathyroid hormone*

PU/PD : Polyuro-polydypsie

RCCU : Rapport cortisol urinaire/ créatinine urinaire

ROC : *Receiver operating characteristic*

RPCU : Rapport protéines urinaires / créatinine urinaires

SARD : *Sudden Acquired Retinal Degeneration*

SRS : *Stereotactic Radio Surgery*

TSH : *Thyroid Stimulating Hormone*

VPP : Valeur prédictive positive

Introduction

La maladie de Cushing est la forme la plus fréquente d'hypercorticisme, causée par une tumeur hypophysaire, à l'origine d'une sécrétion excessive et dérégulée d'ACTH (*Adrenocorticotropin hormone*) et donc, *in fine*, de cortisol. Cette affection est également nommée hypercorticisme central ou hypercorticisme ACTH-dépendant par opposition à l'hypercorticisme périphérique ou ACTH-indépendant (secondaire à une masse surrénalienne). La maladie de Cushing représente 80 à 85% des syndromes de Cushing, ces derniers ayant une prévalence relativement faible (0,20 à 0,28%) chez le chien (O'Neill *et al.*, 2016 ; Carotenuto *et al.*, 2019). Dans la suite de ce manuscrit, nous utiliserons les termes de syndrome de Cushing pour nommer tout hypercorticisme spontané quelle que soit sa cause et le terme de maladie de Cushing pour décrire l'hypercorticisme d'origine centrale ACTH-dépendant. Elle touche préférentiellement les chiens âgés (> 9 ans) de petite taille sans prédisposition de sexe (Ling *et al.*, 1979 ; O'Neill *et al.*, 2016 ; Carotenuto *et al.*, 2019).

Les signes cliniques et paracliniques causés par la maladie de Cushing sont largement décrits dans la littérature, rendant la suspicion en consultation de plus en plus aisée et précoce. De la même façon, la démarche à suivre à travers les différents examens complémentaires disponibles (à la fois biologiques et d'imagerie médicale), est, aujourd'hui, très bien décrite, rendant les chances de succès d'établissement du diagnostic de plus en plus grande. Ainsi, la démarche diagnostique face à une suspicion de maladie de Cushing est assortie d'une bibliographie très riche, ayant même fait l'objet du consensus ACVIM (*American College of Veterinary Internal Medicine*) de l'année 2012 intitulé « Diagnosis of Spontaneous Canine Hyperadrenocorticism » (Behrend *et al.*, 2013).

Enfin, les méthodes thérapeutiques (médicale, locorégionale et, très rarement, chirurgicale) sont également très bien décrites, qu'il s'agisse de leurs indications respectives, de leurs modalités de mise en œuvre ou de leur efficacité.

Néanmoins, ces démarches diagnostique et thérapeutique représentent un investissement personnel et financier important de la part des propriétaires. On peut donc s'interroger sur le pronostic à court, moyen et long terme des chiens atteints de la maladie de Cushing. À ce jour, seules trois études se sont intéressées à la recherche de facteurs pronostiques chez les chiens atteints d'hypercorticisme, toutes origines confondues (Fracassi *et al.*, 2015 ; Nagata *et al.*, 2017 ; Schofield *et al.*, 2020). Les données sur le sujet sont donc encore très limitées.

Ainsi, dans ce travail de thèse, nous nous sommes attachés à la recherche de facteurs de risque de décès potentiels chez des chiens atteints de la maladie de Cushing. Pour cela, nous avons analysé les données médicales recueillies chez des chiens présentés au CHUVA (Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire d'Alfort) et pour lesquelles une maladie de Cushing a été définitivement établie.

Dans cette perspective, nous rappellerons tout d'abord quelques données bibliographiques concernant, la physiologie de l'axe corticotrope puis l'épidémiologie, la présentation clinique, les données paracliniques de l'hypercorticisme ainsi que les démarches diagnostiques et thérapeutiques à adopter face à une maladie de Cushing. Nous nous intéresserons également aux données actuelles disponibles concernant le pronostic des chiens atteints d'hypercorticisme. Dans un second temps, nous présenterons l'ensemble des résultats de notre étude et, enfin, nous discuterons ces résultats, à la lumière des données bibliographiques disponibles à ce jour.

Première partie : étude bibliographique

Cette partie sera consacrée à des rappels sur la physiologie de l'axe hypothalamo-hypophysaire. Puis, nous étudierons son dérèglement dans le cadre d'un hypercorticisme et particulièrement dans le cadre de la maladie de Cushing.

I. Données anatomiques et physiologiques de l'axe corticotrope

A. Rappels sur les données anatomiques de l'axe corticotrope

L'axe hypothalamo-hypophysaire est au centre de la régulation du système endocrinien.

1. Anatomie de l'hypothalamus

L'hypothalamus correspond à une portion du diencephale qui occupe le plancher du troisième ventricule. L'hypothalamus possède de très nombreuses fonctions au sein de l'organisme, assurant le maintien de l'homéostasie de l'individu (contrôle de la température corporelle, des échanges hydriques, de l'appétit et des métabolismes glucidiques et lipidiques, du système cardio-vasculaire, de l'appareil digestif, du système endocrinien, des fonctions de reproduction, des rythmes biologiques et des manifestations émotionnelles). Ses nombreuses activités sont entretenues par de très nombreuses afférences et une sensibilité à toute modification chimique ou physique du sang, et sont finement liées à celles du cortex cérébral.

L'hypothalamus exerce ses fonctions par voie nerveuse d'une part (à travers la formation réticulée et le système nerveux autonome) et par voie hormonale d'autre part, en agissant sur l'activité sécrétoire de l'hypophyse. Topographiquement, l'hypothalamus peut être découpé dans le sens caudo-rostral en trois régions (rostrale, intermédiaire et caudale). Schématiquement, les régions rostrale et intermédiaire agissent sur le système parasympathique et endocrinien alors que la région caudale agit sur le système sympathique (Barone et Bortolami, 2004).

Au sein de l'axe corticotrope, l'hypothalamus est à l'origine de la sécrétion de CRH (*corticotropin-releasing hormone*). La CRH est un polypeptide de 41 résidus d'acides aminés synthétisés par des neurones de la région rostrale de l'hypothalamus. Elle permet la régulation de la sécrétion d'ACTH (*adrenocorticotropic hormone*) par l'adénohypophyse (Feldman *et al.*, 2015).

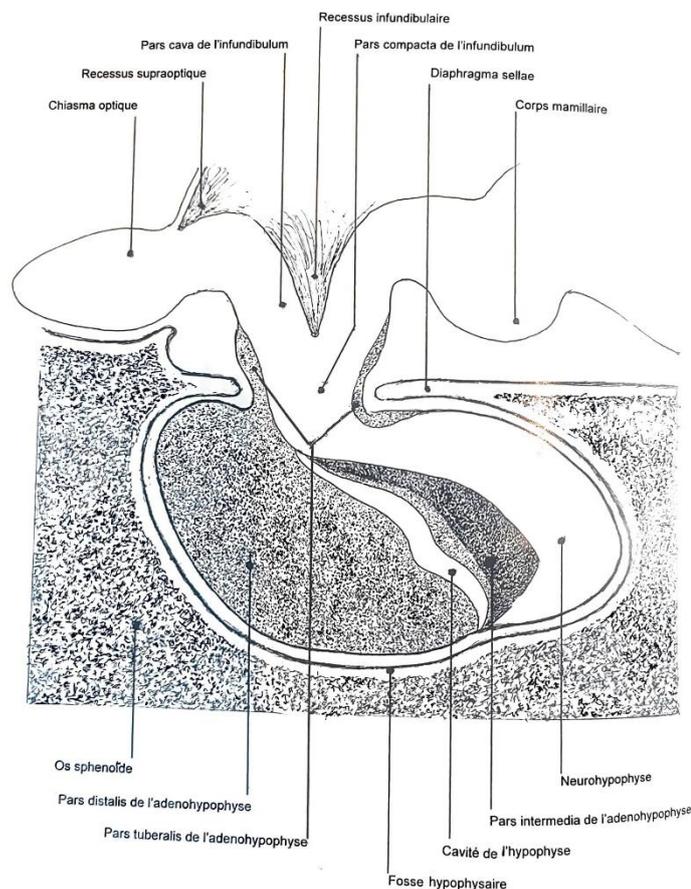
2. Anatomie de l'hypophyse

L'hypophyse (représentée Figure 1) est une glande endocrine impaire de forme plus ou moins arrondie et attachée par un court pédoncule (ou *infundibulum*) à la face ventrale de l'hypothalamus. La taille de l'hypophyse est variable selon la race et l'individu. En moyenne, chez le chien sain, les dimensions sont de 3,2 – 5,1 mm de hauteur, 4,2 – 6,9 mm de largeur et 3,6 – 7,2 mm de longueur (Meij, 2001).

Elle est recouverte quasi-intégralement par la dure-mère, interrompue dorsalement par le diaphragme de la selle turcique qui permet le passage de l'*infundibulum*.

L'hypophyse joue un rôle central dans les relations entre le système nerveux central (et notamment l'hypothalamus) et les autres glandes endocrines dont elle régule les sécrétions par la libération d'hormones trophiques à destination de chacune d'entre elles. L'hypophyse est composée de l'adénohypophyse, antérieure, et de la neurohypophyse, postérieure. La neurohypophyse fait partie du système nerveux central. Elle ne synthétise pas d'hormones mais assure la sécrétion de l'hormone anti-diurétique (ADH pour *antidiuretic hormone*) et de l'ocytocine, synthétisées par l'hypothalamus. A l'inverse, l'adénohypophyse constitue une véritable glande endocrine. Elle est en connexion vasculaire étroite avec l'hypothalamus via le système porte hypothalamo-hypophysaire. Elle se divise en *pars distalis* (la plus importante tant par son volume que par ses fonctions), *pars intermedia* et *pars tuberalis* (Barone et Simoens, 2010). La *pars distalis* est à l'origine de la sécrétion d'ACTH (et plus accessoirement de β -LPH) (Ettinger *et al.*, 2017). L'ACTH est un peptide de 39 acides aminés dont le rôle principal est de stimuler la sécrétion de glucocorticoïdes par le cortex surrénalien. De façon plus accessoire, elle stimule également la sécrétion de minéralocorticoïdes et la sécrétion d'hormones sexuelles (Feldman *et al.*, 2015). La *pars distalis* est également à l'origine de la sécrétion de TSH (*thyroid stimulating hormone*), GH (*growth hormone*), LH (*luteinizing hormone*), FSH (*follicle stimulating hormone*) et de prolactine (Barone et Simoens, 2010).

Figure 1 : Schéma de l'anatomie de l'hypophyse (Barone et Simoens, 2010)

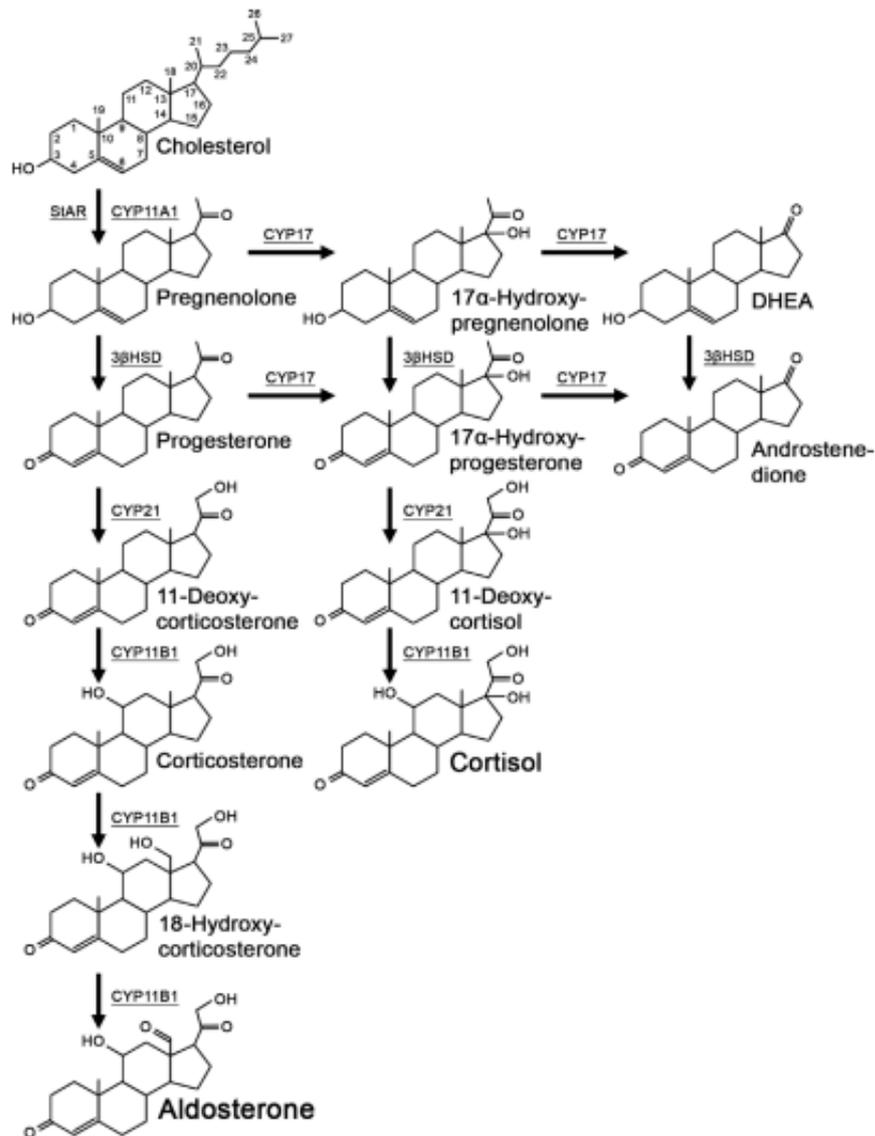


3. Anatomie des glandes surrénales

Les glandes surrénales sont des glandes endocrines paires situées dans le rétropéritoine, contre la paroi dorsale de l'abdomen, crânio-médialement au pôle crânial des reins (la droite étant alors, à l'image du rein droit, légèrement plus crâniale que la gauche). Toutes deux sont maintenues en place par les capsules adipeuses rénales, avec lesquelles elles sont liées par du conjonctif infiltré de graisse. Chaque glande est composée d'une médulla, centrale, et d'un cortex, périphérique, qui agissent en synergie pour assurer la réponse et l'adaptation au stress. Sur une coupe, la distinction est très nette (le cortex est jaune brun clair et présente une fine striation radiaire alors que la médulla est beaucoup plus sombre, rouge brun ou brunâtre). Le cortex enveloppe totalement la médulla et est composé de trois parties distinctes : la zone glomérulée, la zone fasciculée et la zone réticulée. Il est à l'origine de la production d'environ 30 hormones stéroïdiennes.

La zone glomérulée (ou *zona glomerulosa*) est responsable de la production de minéralocorticoïdes (aldostérone et désoxycorticostérone) qui sont essentiels à l'homéostasie hydro-électrolytique. La zone fasciculée (ou *zona fasciculata*) est la plus épaisse du cortex (2/3 de l'épaisseur) et est responsable de la production de glucocorticoïdes (principalement le cortisol et la corticostérone), impliqués dans le métabolisme des glucides. La zone réticulée (ou *zona reticularis*) est la plus mince et à l'origine d'une production en petite quantité d'hormones stéroïdes androgènes (hormones sexuelles mâles), principalement la déhydroépiandrostérone. La médulla est quant à elle responsable de la production de catécholamines (adrénaline principalement) (Barone et Simoens, 2010). Toutes les hormones stéroïdes (cortisol, aldostérones, androgènes...), glucocorticoïdes ou minéralocorticoïdes, sont synthétisées à partir du cholestérol. L'arbre de formation de ces hormones est représenté Figure 2.

Figure 2 : Cascade de formation des hormones stéroïdes à partir du cholestérol chez le chien (Sanders *et al.*, 2016)



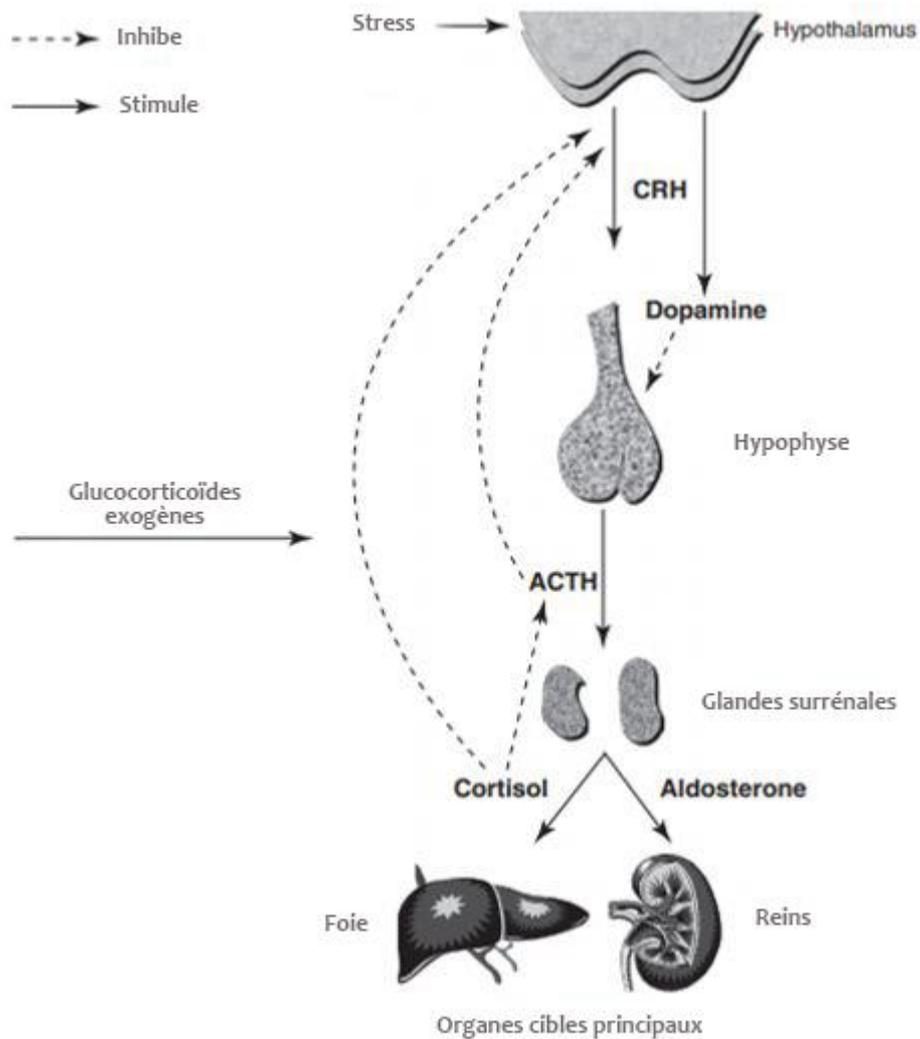
Une fois synthétisé, le cortisol est transporté, sous forme liée, par des protéines (essentiellement par la CBG, *corticosteroid-binding globulin*, ou transcortine) dans le sang. Chez le chien, environ 5 à 20% du cortisol demeure libre. La concentration de cortisol totale est de 10 à 160 nmol/L chez un individu sain. La fraction libre, forme biologiquement active, est de 1,3 à 21 nmol/L (Kempainen et Behrend, 1997).

Le cortisol est impliqué dans de nombreuses voies métaboliques de l'organisme, et possède des propriétés immunosuppressives, anti-inflammatoires, néoglucogéniques, cataboliques des protéines et lipolytiques, qui sont à l'origine des nombreuses manifestations cliniques rencontrées lors d'hypercorticisme (Ettinger *et al.*, 2017).

B. L'axe corticotrope : un système intégré permettant une régulation fine de la sécrétion de cortisol

La régulation de la sécrétion de cortisol s'effectue aux trois étages de l'axe corticotrope : hypothalamus, hypophyse et glandes surrénales. Elle met en place deux boucles de régulations dites courte et longue, représentées Figure 3, mettant chacune en jeu un rétrocontrôle négatif.

Figure 3 : Régulation de la sécrétion de cortisol par l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (Feldman et al., 2015)



Comme vu précédemment, l'hypothalamus synthétise de la CRH qui est libérée via le système porte hypothalamo-hypophysaire et stimule la sécrétion d'ACTH par la *pars distalis* de l'adénohypophyse. L'ACTH, quant à elle, a pour cible les zones fasciculée et réticulée du cortex surrénalien, stimulant la sécrétion de glucocorticoïdes.

La cortisolémie augmente dans les minutes suivant l'augmentation de la concentration d'ACTH plasmatique. De plus, l'ACTH inhibe, par rétrocontrôle négatif, la sécrétion de CRH par l'hypothalamus : c'est la boucle courte de régulation. Les sécrétions de CRH et d'ACTH sont pulsatiles, mais aucun cycle circadien n'a été mis en évidence chez le chien.

Le cortisol exerce à son tour un rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus et sur l'hypophyse, inhibant les sécrétions de CRH et d'ACTH : c'est la boucle longue de régulation.

Par ailleurs, des stress de natures variées peuvent être à l'origine d'une stimulation directe ou indirecte (en stimulant la sécrétion d'ACTH) de la sécrétion de cortisol : douleur, traumatisme, hypoxie, hypoglycémie etc. Les médiateurs de l'inflammation (IL-1 (interleukine-1), IL-6 (interleukine-6), TNF- α (*tumor necrosis factor alpha*)) peuvent quant à eux stimuler la sécrétion d'ACTH directement ou indirectement (en stimulant la sécrétion de CRH par l'hypothalamus) et donc, *in fine*, activent la sécrétion de cortisol (Feldman *et al.*, 2015).

II. La maladie de Cushing : un hypercorticisme ACTH-dépendant

Le « syndrome de Cushing », ou hypercorticisme, est un ensemble de signes cliniques causés par une imprégnation excessive et chronique de l'organisme par le cortisol. La maladie de Cushing (ou hypercorticisme ACTH-dépendant) est la principale cause à l'origine de ce syndrome.

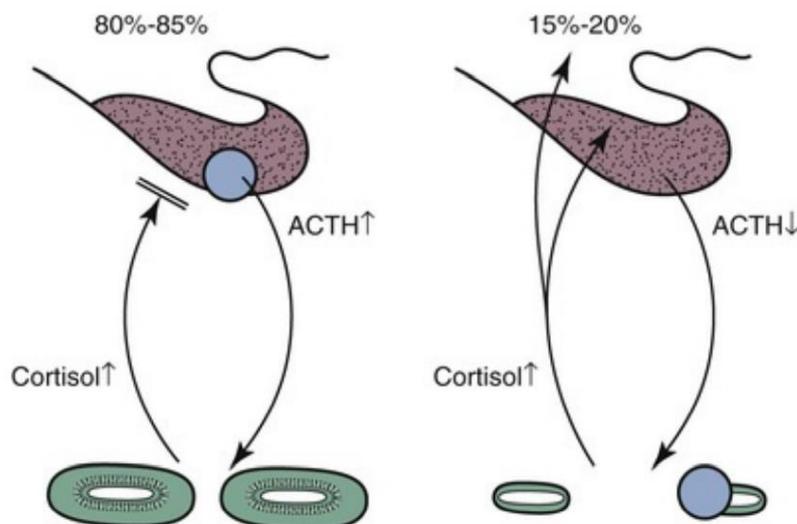
A. Rappels sur les différentes causes de l'hypercorticisme

La maladie de Cushing est causée par l'existence d'une tumeur hypophysaire, à l'origine d'une sécrétion excessive et dérégulée d'ACTH et donc, *in fine*, de cortisol. Cette forme représente 80 à 85% des cas d'hypercorticisme chez le chien. On parle également de syndrome de Cushing ou d'hypercorticisme central, hypophysaire ou encore ACTH-dépendant (Ettinger *et al.*, 2017). Dans la suite de ce travail de thèse, nous nous limiterons aux termes « maladie de Cushing » ou « hypercorticisme ACTH-dépendant ». Toutes les informations qui suivront concerneront quasi-exclusivement cette entité pathologique.

L'hypercorticisme peut également être causé par une tumeur d'une glande surrénale, le plus souvent unilatérale, à l'origine d'une sécrétion excessive et autonome de cortisol (15 – 20% des cas d'hypercorticisme). Dans ce cas, le cortisol exerce un rétrocontrôle négatif responsable de l'effondrement des concentrations de CRH et d'ACTH circulant et donc de l'atrophie de la glande surrénale controlatérale. Des adénomes ou adénocarcinomes sont possibles dans des proportions quasiment semblables. On parle également de syndrome de Cushing ou d'hypercorticisme périphérique, surrénalien ou encore ACTH-indépendant (Labelle *et al.*, 2004). Dans la suite de ce travail, nous parlerons uniquement d'hypercorticisme ACTH-indépendant.

Ces différentes origines sont schématisées Figure 4.

Figure 4 : Schéma simplifié de l'hypercorticisme ACTH-dépendant (à gauche) et indépendant (à droite) (Ettinger et al., 2017)



Enfin, l'hypercorticisme peut également être d'origine iatrogène suite à l'administration de corticoïdes, à des doses, fréquences ou durées inadaptées. On parle alors de syndrome de Cushing ou d'hypercorticisme iatrogène.

B. Étiologie et pathogénie de la maladie de Cushing

La maladie de Cushing est provoquée par la présence d'une tumeur hypophysaire sécrétant de l'ACTH de manière dérégulée. Chez l'individu sain, cette sécrétion est épisodique. Chez le chien atteint de maladie de Cushing, la sécrétion d'ACTH est excessivement augmentée en fréquence et en amplitude, et aboutit à une hyperplasie surrénalienne le plus souvent bilatérale associée à une sécrétion excessive de cortisol (Feldman *et al.*, 2015).

Les tumeurs hypophysaires sont classées en adénomes (majoritaires), adénomes invasifs (avec infiltration locale des tissus adjacents) ou plus rarement adénocarcinomes (avec présence de métastases). De simples hyperplasies ont également été décrites, bien que les preuves manquent sur le sujet (Ettinger *et al.*, 2017). Dans une étude datant de 2010 incluant des chiens ayant une tumeur hypophysaire, 60% des chiens présentaient un adénome, 34% présentaient un adénome invasif et seulement 6% présentaient un adénocarcinome (Pollard *et al.*, 2010). Il est très rarement possible d'observer deux processus conjointement : présence de deux adénomes hypophysaires ou association entre une tumeur et une hyperplasie, par exemple (Feldman *et al.*, 2015).

Par ailleurs, les tumeurs hypophysaires sont traditionnellement divisées en microadénome (avec un diamètre inférieur à 10 mm) ou macroadénome (avec un diamètre supérieur à 10 mm) (Théon et Feldman, 1998a). Néanmoins, cette classification, transposée de la médecine humaine, ne prend pas en considération les variations liées au format de l'animal.

C'est pourquoi un nouvel outil a plus récemment été introduit et permet de prendre en compte ces variations individuelles : le rapport P/B (pituitary height/brain area) qui correspond à la hauteur de l'hypophyse sur l'aire de l'encéphale. Ainsi, on parle de microadénome si le rapport P/B est inférieur à $0,40 \times 10^{-2} \text{ mm}^{-1}$ et de macroadénome si le rapport P/B supérieur ou égale à $0,40 \times 10^{-2} \text{ mm}^{-1}$ (Granger *et al.*, 2005). Les macroadénomes concernent entre 10 et 30% des chiens atteints d'hypercorticisme ACTH-dépendant (Sarfaty *et al.*, 1988 ; Nelson *et al.*, 1989). Enfin, il semblerait que la taille de la tumeur soit positivement corrélée au degré de résistance au rétro-contrôle négatif par les glucocorticoïdes (Ettinger *et al.*, 2017). Cela s'explique probablement par la moindre différenciation des macroadénomes hypophysaires exprimant moins de récepteurs aux glucocorticoïdes.

Les tumeurs hypophysaires peuvent provenir de la *pars distalis* (70%) ou de la *pars intermedia* (30%). La distinction entre les deux n'est pas aisée. Néanmoins, lors de tumeur de la *pars distalis*, le tissu néoplasique est fréquemment à l'origine d'une compression du tissu sain, ou bien le remplace intégralement, rendant la distinction entre les deux quasi-impossible alors que lors de tumeur de la *pars intermedia*, la *pars distalis* demeure facilement identifiable. Les tumeurs de la *pars intermedia* étant généralement plus grandes que les tumeurs de la *pars distalis*, elles seraient également plus résistantes au rétro-contrôle négatif par les glucocorticoïdes.

Il existe deux théories expliquant la genèse des tumeurs hypophysaires. La première serait une sécrétion hypothalamique excessive de CRH, qui, par stimulation, serait à l'origine de la mutation somatique de cellules hyperplasiques hypophysaires et donc de la formation d'un adénome. La deuxième théorie serait une mutation somatique primaire d'une cellule corticotrope, à l'origine de sa multiplication et d'une expansion monoclonale. Plusieurs éléments sont en faveur de la deuxième théorie, comme par exemple le fait que la concentration en CRH plasmatique est significativement plus faible chez les chiens atteints d'hypercorticisme hypophysaire que chez les chiens sains (Van Wijk *et al.*, 1992) ou que 77% des chiens ne présentent pas de récurrence après avoir eu une hypophysectomie (Hanson *et al.*, 2007).

Le caractère oncogénique de différents gènes a été étudié. Il a été montré que chez les chiens avec un adénome de la *pars distalis*, les quantités d'ARN messager de la POMC (pro-opiomélanocortine), du CRHR1 (corticotropin-releasing hormone receptor 1), et de la 11 β -HSD2 (11-béta-hydroxystéroïde déshydrogénase 2) étaient significativement plus élevées que chez les chiens sains, montrant une expression anormalement augmentée de ces gènes, alors que les quantités d'ARN messager de la 11 β -HSD1 (11-béta-hydroxystéroïde déshydrogénase 1) et du MR (mineralocorticoid receptor) étaient significativement plus faibles. Il n'y avait pas de différence significative pour le GR (glucocorticoid receptor). Il semblerait qu'une forte expression du gène de la 11 β -HSD2 associée à une faible expression du gène de la 11 β -HSD1 serait à l'origine d'une inactivation du cortisol au sein des cellules tumorales, ce qui pourrait expliquer, en partie du moins, l'absence de sensibilité des adénomes hypophysaires au rétro-contrôle négatif par les glucocorticoïdes (Teshima *et al.*, 2009).

C. Épidémiologie descriptive

Indépendamment de l'origine, la prévalence de l'hypercorticisme varie de 0,20 à 0,28% (O'Neill *et al.*, 2016 ; Carotenuto *et al.*, 2019). Comme vu précédemment, l'hypercorticisme secondaire à une tumeur hypophysaire représente 80 à 85% des cas (Feldman, 1983a ; Feldman, 1983b).

La maladie de Cushing touche principalement les chiens d'âge moyen à âgé. En effet, 89% d'entre eux ont plus de 6 ans, et 75% ont plus de 9 ans (Ling *et al.*, 1979 ; Gallelli *et al.*, 2010). Toutes les races de chiens peuvent être touchées. Néanmoins, les races de petites tailles semblent davantage représentées : Teckel, Bichon, Cavalier King Charles, Yorkshire Terrier, Caniche, Jack Russel Terrier, Fox terrier (Ling *et al.*, 1979 ; O'Neill *et al.*, 2016 ; Carotenuto *et al.*, 2019). En effet, 75% des chiens atteints d'hypercorticisme hypophysaire pèsent moins de 20 kg. Par ailleurs, la prévalence est identique chez les chiens de race pure ou chez les chiens croisés. (Bellumori *et al.*, 2013). Enfin, la maladie de Cushing peut toucher les mâles et les femelles. L'existence d'une prédisposition liée au sexe est controversée. En effet, dans les études publiées, les femelles représentent 58 à 75% des cas d'hypercorticisme, indépendamment de la cause (Bennaim *et al.*, 2019a). De récentes études ont montré la possible existence d'une prédisposition chez les femelles, notamment stérilisées (Hoffman *et al.*, 2018 ; Carotenuto *et al.*, 2019), mais d'autres études avaient quant à elles montré qu'il n'existait pas de différence significative entre nombre de mâles et de femelles touchés (Ling *et al.*, 1979 ; O'Neill *et al.*, 2016).

D. Présentation clinique

L'ensemble des signes cliniques sont la conséquence des effets néoglucogénique, immuno-suppresseur, catabolisant protéique et lipolytique du cortisol. Ils ne permettent pas de s'orienter vers une atteinte hypophysaire ou surrénalienne hormis la présence de signes nerveux potentiellement retrouvés lors de macroadénome hypophysaire.

1. Signes cliniques fréquemment observés

Présente dans 82 à 91% des cas d'hypercorticisme, la polyurie-polydipsie est le signe clinique le plus fréquemment observé chez le chien (Ling *et al.*, 1979 ; Peterson, 1984 ; Reusch et Feldman, 1991 ; Bennaim *et al.*, 2019b).

Bien que sa pathogénie ne soit encore entièrement élucidée, il semblerait qu'elle soit due, d'une part, à une augmentation du débit de filtration glomérulaire secondaire à l'hypertension artérielle systémique, et d'autre part, à une diminution cortico-induite de la sécrétion d'ADH et de la sensibilité rénale à l'ADH (à l'origine d'une diminution de la réabsorption tubulaire d'eau). Lors de tumeur hypophysaire, la PUPD peut être due à un diabète insipide secondaire à la compression de la neurohypophyse. Une augmentation de la diurèse osmotique peut également être présente chez les chiens ayant développé un diabète sucré secondairement à l'hypercorticisme (Bennaim *et al.*, 2019a).

La polyurie est fréquemment compliquée d'infection du tractus urinaire (ITU). En effet, celle-ci est favorisée par l'effet immunosuppresseur des glucocorticoïdes, la diminution de la densité urinaire et la rétention urinaire (surtout chez les chiens d'intérieur). Néanmoins, les signes cliniques d'ITU (tels que l'hématurie, la pollakiurie ou la strangurie) sont fréquemment masqués par l'action anti-inflammatoire des corticoïdes. La distension vésicale causée par la polyurie peut aussi être à l'origine d'une hypotonie vésicale et donc d'une incontinence par défaut de vidange (surtout observée lorsque l'animal dort).

Une polyphagie est décrite chez 46 à 57% des chiens atteints d'hypercorticisme. Elle est la conséquence d'un effet direct des corticoïdes (Feldman *et al.*, 2015 ; Bennaim *et al.*, 2019a). Néanmoins, celle-ci peut être exacerbée par la présence d'un diabète sucré secondaire (Miceli *et al.*, 2017).

Une distension abdominale, illustrée par la Figure 5, est fréquemment présente (67 à 73%), avec une forme particulière en « ventre de batracien » ou « abdomen pendulaire ». Elle est la conséquence de l'effet combiné de l'hépatomégalie (présente dans 50 à 67% des cas et due à la surcharge glycogénique), de la faiblesse musculaire, de la possible accumulation de graisse intra-abdominale et de la distension vésicale causée par la polyurie (Feldman *et al.*, 2015 ; Bennaim *et al.*, 2019a).

Figure 5 : Distension abdominale chez un chien bouledogue français atteint d'hypercorticisme ACTH-dépendant (Ettinger *et al.*, 2017)



La faiblesse musculaire est la conséquence du catabolisme protéique cortico-induit. Elle peut être à l'origine d'une légère intolérance à l'effort (comme une difficulté à monter les escaliers ou dans la voiture). Plus rarement, elle se manifeste par une difficulté à se lever ou se tenir debout (Feldman *et al.*, 2015).

L'hypercorticisme est fréquemment (31 à 86% des cas) accompagné d'une hypertension artérielle systémique légère à modérée, dont les conséquences cliniques sont rarement observées. Elle est la conséquence notamment d'une stimulation du système rénine-angiotensine-aldostérone, mais sa pathogénie est multifactorielle et non entièrement élucidée (Ortega *et al.*, 1996 ; Goy-Thollot *et al.*, 2002 ; Lien *et al.*, 2010 ; Smets *et al.*, 2012 ; Arenas *et al.*, 2013).

2. Signes cutanés

Les signes cutanés sont très fréquents chez les chiens atteints de la maladie de Cushing. Dans une étude qui portait sur 60 chiens atteints d'hypercorticisme et qui présentaient une atteinte cutanée, les signes décrits étaient une alopecie (80%), une pyodermite (57%), une hyperpigmentation diffuse ou locale (43%), un prurit (25%), une peau anormalement fine (12%), des comédons (5%) ou une calcinose cutanée (2%) (White *et al.*, 1989).

L'alopecie (signe cutané le plus fréquent), est décrite comme tronculaire, bilatérale et symétrique. Elle est la conséquence d'une atrophie des follicules pileux causée par la sécrétion excessive chronique de cortisol (Bennaim *et al.*, 2019a).

L'amincissement cutané est dû à l'inhibition de la prolifération des fibroblastes et de la synthèse de collagène par les glucocorticoïdes (Behrend *et al.*, 2013). L'inhibition de la synthèse du collagène peut également être à l'origine d'une fragilisation de la paroi des vaisseaux sanguins et donc de la formation abusive d'ecchymoses (suite à une ponction veineuse ou un léger traumatisme) (Feldman *et al.*, 2015).

La pathogénie de l'hyperpigmentation n'est pas clairement élucidée. Histologiquement, elle se caractérise par une augmentation du nombre de mélanocytes. Bien qu'une augmentation de la sécrétion d' α -MSH (*alpha-melanocyte-stimulating hormone*) serait impliquée dans le cadre d'une tumeur hypophysaire, il ne peut s'agir du seul processus en cause car l'hyperpigmentation est également rapportée chez des chiens atteints d'hypercorticisme ACTH-indépendant (Feldman *et al.*, 2015).

La présence de pyodermites est la conséquence de l'amincissement cutané, couplé à l'effet immunosuppresseur des corticoïdes. De plus, bien que l'association n'ait pas clairement été établie, il est possible d'observer une démodécie chez 10% des chiens atteints d'hypercorticisme (White *et al.*, 1989 ; Zur et White, 2011).

La calcinose cutanée, illustrée Figure 6, est très rare mais très spécifique d'un hypercorticisme. Elle est la conséquence des effets néoglucogénique et catabolisant protéique du cortisol, à l'origine d'un réarrangement des structures protéiques en une matrice piégeant le calcium, qui se dépose en plaques cutanées et/ou sous-cutanées, majoritairement en région temporale, sur la ligne médiane dorsale, sur l'encolure, en région inguinale ou encore sur l'abdomen. Bien qu'elle ait longtemps été considérée comme pathognomonique d'un hypercorticisme, elle a également été décrite dans le cadre de dermatites fongiques, d'un traitement pour l'hypoparathyroïdisme, d'une insuffisance rénale ou encore de façon idiopathique (Doerr *et al.*, 2013).

Figure 6 : Calcinose cutanée sévère chez un chien atteint d'hypercorticisme (Ettinger et al., 2017)



3. Signes respiratoires

Il est possible d'observer une tachypnée et/ou une dyspnée, secondairement aux effets combinés de la faiblesse des muscles respiratoires, de l'augmentation de pression abdominale (par l'hépatomégalie et l'accumulation de graisse intra-abdominale) et de la baisse de compliance pulmonaire causée par une minéralisation péri-bronchique et interstitielle (Berry *et al.*, 1994 ; Schwarz *et al.*, 2000). En effet, 90% des chiens atteints d'hypercorticisme présentent une concentration élevée en PTH (*parathyroid hormone*) pouvant, rarement, être à l'origine de calcifications ectopiques intéressant les anneaux trachéaux, la paroi des bronches (mais aussi les reins et la paroi des gros vaisseaux sanguins) (Ramsey *et al.*, 2005).

La thrombo-embolie pulmonaire est une complication également rare mais possible de l'hypercorticisme. En effet, ce dernier est responsable d'un état d'hypercoagulabilité (notamment par perte rénale d'anti-thrombine III). Lors de thrombo-embolie pulmonaire, l'animal est présenté en détresse respiratoire.

4. Signes cliniques rares

Rarement, il est possible d'observer une laxité ligamentaire anormale, pouvant être à l'origine d'une plantigradie, comme illustrée sur la Figure 7, d'une difficulté à la locomotion, voire d'une boiterie.

Figure 7 : Plantigradie causée par une laxité ligamentaire sévère chez un chien atteint d'hypercorticisme ACTH-dépendant (Ettinger et al., 2017)



Des paralysies faciales unilatérales ou bilatérales ont également été rapportées, mais l'association avec l'hypercorticisme n'a pas encore été prouvée (Behrend et al., 2013).

Il est également rarement possible d'observer une pseudomyotonie (dite de Cushing), caractérisée par une contraction musculaire active persistante malgré l'arrêt d'un mouvement volontaire. Elle est illustrée par la Figure 8. Il s'agit d'une complication irréversible, touchant principalement les muscles quadriceps. L'animal a alors une démarche très raide des membres postérieurs (Swinney et al., 1998).

De la même façon, une association entre l'hypercorticisme et le syndrome de la « rétine silencieuse », ou SARD (*sudden acquired retinal degeneration*), a été suggérée mais n'a pas encore été établie (Cabrera Blatter et al., 2012). Celle-ci pourrait être la conséquence de l'augmentation de la triglycéridémie (secondaire à une lipolyse cortico-induite) et/ou à des changements dans la vascularisation rétinienne. Lors de macroadénome hypophysaire, il est également possible d'observer une cécité par compression du chiasma optique, mais cela reste très rare (Seruca et al., 2010).

Une atrophie testiculaire chez le mâle et un anœstrus pathologique chez la femelle peuvent être observés, secondaires au rétro-contrôle négatif par les glucocorticoïdes sur la production de LH et de FSH par l'hypophyse (Ettinger *et al.*, 2017).

Lors de macroadénome hypophysaire, il est possible d'observer des signes neurologiques, mais dans 10 à 25% des cas, ils apparaissent des mois voire des années après que le diagnostic d'hypercorticisme ait été établi. Le signe le plus fréquemment décrit est une léthargie, mais il est également possible d'observer une baisse de l'appétit, voire une anorexie, de la stupeur, un état d'errance, une ataxie, une marche en cercle, de l'épilepsie ou des changements de comportement (Behrend *et al.*, 2013).

Tous ces signes sont peu communs, mais leur présence peut venir renforcer une suspicion clinique de maladie Cushing.

Figure 8 : Alopécie tronculaire bilatérale symétrique et pseudomyotonie chez un chien atteint d'hypercorticisme (Ettinger *et al.*, 2017)



E. Démarche diagnostique face à une suspicion d'hypercorticisme

1. Les examens d'orientation

1.1 Les anomalies de la numération formule sanguine

Les animaux atteints d'hypercorticisme présentent fréquemment une formule dite « de stress », qui associe les anomalies suivantes : leucocytose, neutrophilie, monocytose, éosinopénie et lymphopénie. La lymphopénie, présente dans 14 à 79,4% des cas, est due à une lympholyse cortico-induite. La monocytose (présente dans environ 30% des cas) et la neutrophilie sont dues à une démargination capillaire, c'est-à-dire un recrutement des leucocytes adhérents aux parois des vaisseaux (= pool marginé) sous l'effet des corticoïdes. L'éosinopénie, présente dans 54 à 81,2% des cas, est due à une séquestration médullaire.

Enfin, il n'est pas rare d'observer une thombocytose, présente dans 37,7% à 78,6% des cas, et, moins fréquemment, une érythrocytose, dans 9,5 à 17% des cas, toutes deux secondaires à une stimulation directe de la moelle osseuse par les corticoïdes. De plus, l'augmentation du nombre de globules rouges circulants permet la compensation de l'hypoxie secondaire à l'hypoventilation (favorisée par la faiblesse des muscles respiratoires, la surcharge pondérale et/ou la présence d'une thrombo-embolie pulmonaire) ou secondaire à l'hypovolémie (favorisée par la polyurie) (Behrend *et al.*, 2013 ; Feldman *et al.*, 2015 ; Bennaim *et al.*, 2019a).

1.2 Les anomalies biochimiques

1.2.1 Les anomalies des paramètres hépatiques

L'augmentation de l'activité enzymatique des PAL (phosphatases alcalines) est l'anomalie biochimique la plus fréquemment rencontrée (76% à 100% des cas d'hypercorticisme), avec une élévation souvent très marquée (plus 10 fois la valeur supérieure de l'intervalle de référence) (Bennaim *et al.*, 2019a). Celle-ci peut être la conséquence de la surcharge glycogénique, mais aussi, dans 50% des cas, due à une production par les hépatocytes cortico-induite (phénomène unique chez le chien) (Kidney et Jackson, 1988). Néanmoins, la faible spécificité de cette mesure ne peut en faire un test de certitude, et elle ne permet que d'orienter le diagnostic (Solter *et al.*, 1993).

L'augmentation de l'activité enzymatique des ALAT (alanine aminotransférase) est également rencontrée dans 80 à 95% des cas, mais celle-ci se veut légère ou modérée. Elle est secondaire aux multiples lésions hépatocytaires (ischémie, surcharge glycogénique, nécrose) (Behrend *et al.*, 2013 ; Bennaim *et al.*, 2019a).

Les concentrations d'acides biliaires plasmatiques pré et post-prandiaux sont augmentées respectivement dans 11,8 et 37,5% des cas d'hypercorticisme (Bennaim *et al.*, 2019b).

1.2.2 Les anomalies de la glycémie et l'insulinémie

Une hyperglycémie modérée est présente dans 20 à 57% des cas, associée à une hyperinsulinémie modérée (Bennaïm *et al.*, 2019a). En effet, les glucocorticoïdes, étant antagonistes de l'insuline, sont à l'origine d'une augmentation de la néoglucogénèse hépatique et d'une baisse de la translocation intracellulaire du glucose. Ce phénomène peut être à l'origine d'un diabète sucré secondaire à l'hypercorticisme (Feldman *et al.*, 2015).

1.2.3 Les anomalies de la lipémie

Par ailleurs, il est fréquent d'observer une hypercholestérolémie secondaire à une lipolyse cortico-induite, et présente dans 73 à 90% des cas (Bennaïm *et al.*, 2019a). Une hypertriglycéridémie est également présente dans plus de 50% des cas (Ettinger *et al.*, 2017).

1.2.4 Les anomalies de la lipase pancréatique

Il est également possible d'observer une augmentation de la lipase spécifique pancréatique, présente dans 25 à 35% des cas d'hypercorticisme (Mawby *et al.*, 2014). Néanmoins, l'association entre hypercorticisme et pancréatite est aujourd'hui sujet de controverse.

1.2.5 Les autres anomalies

Les chiens atteints d'hypercorticisme présentent une baisse de l'urémie dans 34 à 76% des cas. Celle-ci est la conséquence d'une augmentation de la clairance rénale secondaire à la polyurie (Behrend *et al.*, 2013).

1.3 Les anomalies du ionogramme

Anciennement, une hypophosphatémie était rapportée chez un tiers des chiens atteints d'hypercorticisme (Peterson *et al.*, 1984), due à une augmentation de l'excrétion urinaire cortico-induite (Roberts et Pitts, 1953). Néanmoins, dans une étude prospective publiée en 2020 portant sur 22 chiens avec un syndrome de Cushing, 22% des chiens avec un hypercorticisme spontané présentaient une hyperphosphatémie, dont la pathogénie n'est pas entièrement élucidée (Corsini *et al.*, 2021). Par ailleurs, de discrètes hypernatrémie, hypochlorémie ou hypokaliémie peuvent être observées (Ling *et al.*, 1979).

1.4 Les anomalies de l'analyse urinaire

Les animaux atteints d'hypercorticisme présentent fréquemment une baisse de la densité urinaire secondaire à la polyurie, avec une densité urinaire inférieure à 1,015 dans 60% des cas (Ling *et al.*, 1979).

Une protéinurie est également fréquemment observée (62 à 80% des cas) (Bennaïm *et al.*, 2019a). Néanmoins, celle-ci n'est pas toujours détectable à la bandelette urinaire, et la mesure du RPCU (rapport protéines urinaires/créatinine urinaire) est alors préférée. En effet, 70% des animaux atteints d'hypercorticisme ont un RPCU supérieur à 0,5 au moment du diagnostic (et 45% ont un RPCU supérieur à 1).

Il a été également montré que le RPCU était significativement plus élevé chez les chiens avec un hypercorticisme surrénalien que chez les chiens avec un hypercorticisme d'origine hypophysaire (Ortega *et al.*, 1996 ; Mazzi *et al.*, 2008). Bien que la pathogénie ne soit entièrement élucidée, il semblerait que la protéinurie soit la conséquence d'une glomérulosclérose secondaire à l'hypertension artérielle (Feldman *et al.*, 2015).

Par ailleurs, l'effet immunosuppresseur des glucocorticoïdes favorise les ITU. En effet, une étude a montré que 46% des chiens atteints d'hypercorticisme présentaient une ITU au moment du diagnostic, avec une prédominance d'infection à *Escherichia coli*. Néanmoins, parmi ces individus, moins de 5% présentaient des signes cliniques évocateurs tels qu'une strangurie, une pollakiurie ou un changement de couleur des urines, probablement grâce à l'action anti-inflammatoire des glucocorticoïdes. Ainsi, chez un chien chez qui l'on suspecte un hypercorticisme, il convient de réaliser une culture d'urine même en l'absence de troubles urinaires (Forrester *et al.*, 1999).

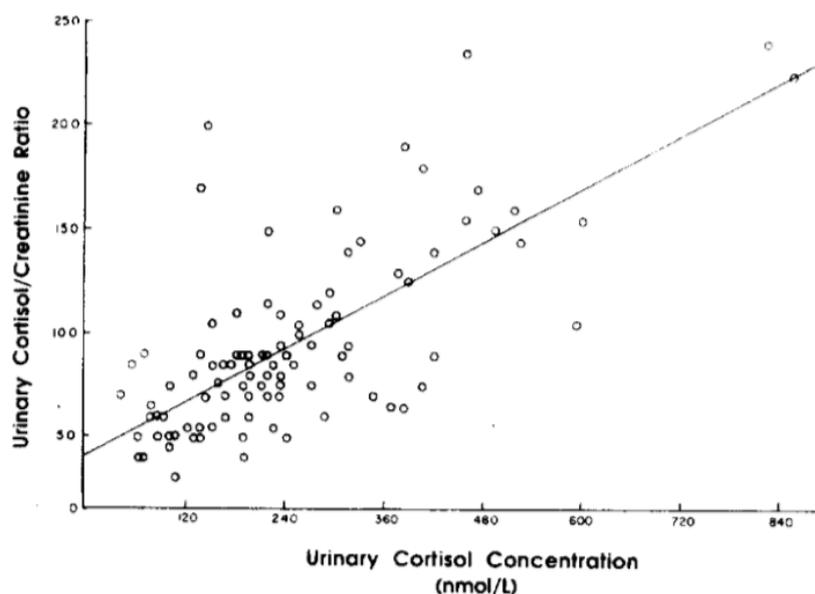
Enfin, 8% des animaux présentent une glucosurie, possiblement due à un diabète sucré secondaire à l'hypercorticisme (Ling *et al.*, 1979 ; Bennaim *et al.*, 2019b).

2. Les examens de confirmation

2.1 La mesure du RCCU : un test d'exclusion

Plusieurs travaux ont pu montrer que le rapport cortisol urinaire sur créatinine urinaire mesuré sur un prélèvement unique est le reflet des variations de la cortisolémie sur plusieurs heures, et permet ainsi de s'affranchir des fluctuations de la cortisolémie. Une étude datant de 1990 a démontré un lien de corrélation linéaire (Figure 9) entre le rapport cortisol urinaire sur créatinine urinaire et la concentration urinaire en cortisol sur un prélèvement urinaire ponctuel (Jones *et al.*, 1990).

Figure 9 : Régression linéaire entre le rapport cortisol/créatinine urinaire et la concentration urinaire en cortisol (Jones *et al.*, 1990)



En 1993, Smiley et Peterson démontrent par une étude prospective que le RCCU (rapport cortisol urinaire/créatinine urinaire) est significativement plus élevé chez les chiens connus comme atteints d'hypercorticisme que chez les chiens sains (Smiley et Peterson, 1993).

En 1996, une première étude rétrospective utilisant des courbes ROC (*Receiver Operating Characteristic*) a permis d'établir la valeur seuil de 60×10^{-6} , associée à une sensibilité de 100% et une spécificité de 85% (Jensen *et al.*, 1997).

De même, dans la plus récente étude datant de 2010, Zeugswetter a montré, grâce à des courbes ROC, que l'utilisation d'une valeur seuil à $26,5 \times 10^{-6}$ était associée à une sensibilité de 100% et une spécificité de seulement 54% (Zeugswetter *et al.*, 2010).

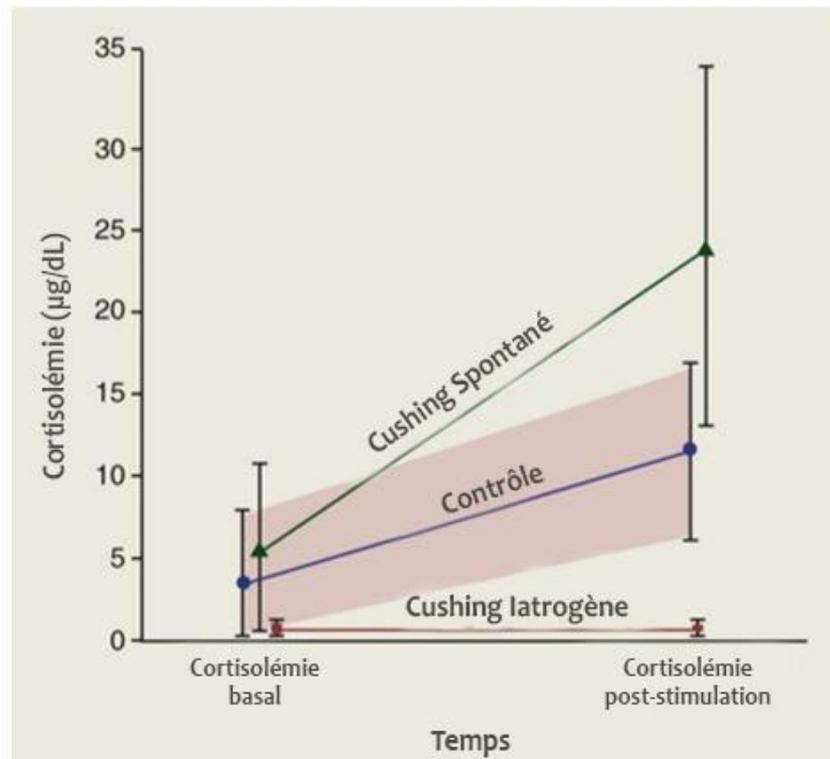
Ainsi, le RCCU présente une excellente sensibilité, associée à une spécificité extrêmement variable en fonction des seuils et des méthodes d'analyse utilisées. Il en résulte que la valeur prédictive négative de ce test est très forte, alors que la valeur prédictive positive est faible. Ces données en font un test d'exclusion de choix, lorsque la suspicion clinique est faible. Si le résultat du test est positif, il conviendra de réaliser d'autres tests, avec une meilleure spécificité, pour confirmer ou infirmer d'un hypercorticisme.

Afin de limiter l'influence du stress sur la valeur RCCU, l'urine doit être préférentiellement collectée par le propriétaire, à distance (minimum deux jours) d'une visite chez le vétérinaire ou d'une hospitalisation (Vonderer *et al.*, 1998). L'urine doit alors être conservée à 4°C jusqu'à l'acheminement au laboratoire.

2.2 Le test de stimulation de la cortisolémie par l'ACTH

Le principe de ce test repose sur l'administration d'ACTH à une dose supra-physiologique, afin de stimuler les glandes surrénales et la sécrétion de cortisol. Lors d'hypercorticisme, on s'attend à une réponse à la stimulation exacerbée et une sécrétion de cortisol très augmentée (Figure 10). A l'inverse, il s'agit du test de choix pour le diagnostic lors d'hypercorticisme iatrogène. Dans ces cas, une absence de réponse à la stimulation par l'ACTH est observée. Il s'agit également de l'examen de référence pour le suivi et l'adaptation du traitement (Behrend *et al.*, 2013).

Figure 10 : Évolution de la cortisolémie avant et une heure après l'administration d'ACTH (adrenocorticotropin hormone) (Ettinger et al., 2017)



Le protocole couramment utilisé consiste en l'administration d'un analogue de l'ACTH, la cosyntropine ou la tétracosactide (polypeptides synthétisés contenant les 24 premiers acides aminés de l'ACTH), à la dose de 5 µg/kg ou 250 µg/chien (Kerl et al., 1999). La cortisolémie est alors mesurée juste avant l'injection, et une heure après (Behrend et al., 2013). La voie intramusculaire ou intra-veineuse peut être utilisée indifféremment (Behrend et al., 2006 ; Cohen et Feldman, 2012). La valeur seuil dépend du laboratoire sollicité, mais se trouve généralement entre 550 et 600 nmol/L (Bennaim et al., 2019a).

Toutes formes confondues, la sensibilité du test de stimulation à l'ACTH varie entre 57 et 93%. Chez les chiens atteints d'hypercorticisme ACTH-indépendant, la sensibilité varie entre 80 et 92%, alors qu'en cas d'atteinte surrénalienne, elle varie entre 0 et 63%. La spécificité du test de stimulation à l'ACTH varie entre 59 et 95% selon les auteurs (Bennaim et al., 2019a).

L'étude la plus récente portait rétrospectivement sur 54 chiens référés au centre hospitalier vétérinaire de l'université Koret pour suspicion d'hypercorticisme entre 2014 et 2018. Dans cette étude, l'analyse de courbes ROC a montré qu'une valeur seuil de 550 nmol/L (classiquement utilisée) était associée à une bonne sensibilité de 92% et une faible spécificité de 61%, alors que l'usage d'une valeur seuil 683 nmol/L étaient associées à une sensibilité correcte de 86% et une bien meilleure spécificité à 94%. De plus, une cortisolémie post-stimulation supérieure à 718 nmol/L était associée à une spécificité de 100% (Nivy et al., 2018).

2.3 Le test de freinage de la cortisolémie par la dexaméthasone dose faible

Le test de freinage de la cortisolémie par la dexaméthasone à dose faible est considéré comme le test de choix pour mettre en évidence un hypercorticisme. Il permet de mettre en évidence une diminution ou une absence de sensibilité de l'axe corticotrope au rétrocontrôle négatif par les glucocorticoïdes.

En effet, chez le sujet sain, l'administration de dexaméthasone entraîne un rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus, à l'origine d'une diminution des concentrations de CRH circulant, sur l'hypophyse, à l'origine d'une diminution de la sécrétion d'ACTH, et sur le cortex surrénalien lui-même. Tous ces éléments concourent, *in fine*, à un effondrement durable de la cortisolémie. Cet effondrement, ou « freinage », disparaît chez l'individu atteint d'hypercorticisme.

Lors d'hypercorticisme ACTH-dépendant, l'absence de freinage s'explique par la sécrétion autonome d'ACTH par l'hypophyse qui est alors peu sensible au rétrocontrôle négatif par la dexaméthasone. Lorsqu'une masse surrénalienne est présente, la sécrétion autonome de cortisol explique l'absence de freinage, bien que l'hypothalamus et l'hypophyse demeurent sensibles au rétrocontrôle négatif par la dexaméthasone (Feldman et *al.* 2015 ; Ettinger et *al.*, 2017).

Le principe du test repose sur une mesure de la cortisolémie basale, suivie de l'administration de dexaméthasone polyéthylène glycol (5 mg/kg par voie intra-veineuse ou intra-musculaire) ou de dexaméthasone sodium phosphate (0,01 mg/kg par voie intra-veineuse) et de nouvelles mesures de la cortisolémie 4h après l'injection puis 8h après (Ettinger et *al.*, 2017). La valeur seuil dépend du laboratoire sollicité, mais se situe généralement entre 1 et 1,5 µg/dL (ou 30 et 45 nmol/L).

Une cortisolémie à 8h post-injection au-delà de la valeur seuil est alors en faveur d'un hypercorticisme (Feldman et *al.*, 2015). Le test peut être réalisé à n'importe quel moment de la journée. En effet, bien que le chien présente une excrétion de cortisol pulsatile, celle-ci ne respecte pas un cycle circadien (Kemppainen et Sartin, 1984). Il est préférable de réaliser le test dans les conditions les moins stressantes possibles. Aussi, certains corticoïdes peuvent interférer avec le dosage du cortisol (notamment la prednisolone, la prednisone, la méthylprednisolone, la fludrocortisone, la cortisone ou l'hydrocortisone), ce pourquoi il est conseillé d'espacer le test de 24h après la dernière administration de corticoïdes.

Selon les auteurs, la sensibilité varie de 85% à 100% alors que la spécificité varie de 44 à 73%. Ainsi, il convient de réaliser ce test seulement en cas de suspicion clinique forte, afin d'en valoriser la valeur prédictive positive (Behrend et *al.*, 2013).

Dans la plus récente étude, publiée en 2018, la sensibilité et la spécificité du test de freinage à la dexaméthasone dose faible étaient respectivement de 96,6% et 67,2%, en accord avec les résultats précédemment démontrés (Bennaim et *al.*, 2018). Dans cette étude, chaque individu recevait 0,015 kg/kg de dexaméthasone par voie intra-veineuse, et la cortisolémie était mesurée juste avant l'injection, puis 3h ou 4h et 8h après l'injection.

Similairement aux études précédentes, le résultat était considéré positif (soit une absence de freinage) si la cortisolémie à 3h ou à 8h était supérieure à 1µg/dL (\approx 23 nmol/L). Ainsi, la VPP (valeur prédictive positive) était de 73,1%.

Pour aller plus loin, les animaux ayant présenté un résultat positif ont été divisés en sous-groupes en fonction de l'allure de l'évolution de la cortisolémie (absence totale de freinage, échappement, évolution inverse, freinage partiel). Parmi eux, un groupe s'est révélé particulièrement pertinent : celui des animaux ayant, à 3h et 8h, une cortisolémie supérieure à 1µg/kg et supérieure à 50% de la cortisolémie basale. La VPP était alors augmentée à 93,9%. De plus, il s'agissait du sous-groupe prédominant (54% des animaux ayant eu un résultat positif).

Par ailleurs, contrairement aux études plus anciennes, les animaux ayant présenté réponse « inversée » (cortisolémie supérieure à 1 µg/kg à 3h post-injection et inférieure à 1 µg/kg à 8h post-injection) étaient, ici, considérés comme positifs. En effet, bien que l'origine n'en ait pas encore clairement été élucidée, sa pertinence clinique a été explorée à l'occasion d'une étude au sein de laquelle 5 chiens identifiés comme atteints d'un hypercorticisme ACTH indépendant présentaient cette réponse inversée (Mueller et *al.*, 2006). Néanmoins, dans l'étude de Bennaim, la VPP pour cette réponse inversée n'était que de 40% (Bennaim et *al.*, 2018).

2.4 Le test de freinage à la dexaméthasone dose faible combiné à la mesure du RCCU

Un autre test, couplant le test de freinage à la dexaméthasone à la mesure du RCCU, a été étudié. En effet, le principe du test de freinage est le même que vu précédemment, mais la cortisolémie n'est pas mesurée directement par dosage dans le plasma mais évaluée indirectement par le RCCU. De plus, la dexaméthasone n'est pas administrée par voie intra-veineuse mais par voie orale.

Dans l'étude ayant étudié la faisabilité d'un tel test, le protocole suivant a été proposé : le propriétaire collectait les urines de son chien à 8h du matin, deux jours de suite, afin d'établir le RCCU basal. Puis, après avoir collecté le deuxième échantillon, l'animal recevait de la dexaméthasone par voie orale (différentes doses ont été comparées). Le chien devait être promené à 12h et 14h pour assurer la vidange de la vessie, puis un nouvel échantillon d'urines était collecté à 16h (soit 8h après l'administration de la dexaméthasone) pour la seconde mesure du RCCU. Les résultats de cette étude ont montré que, chez le chien sain, on observait un $\text{RCCU} < 10 \times 10^{-6}$ et une diminution de plus de 50 % de ce rapport à 8h, avec une dose de 0,01 mg/kg de dexaméthasone. Ces résultats montrent l'existence d'un freinage induit par administration orale de dexaméthasone, et objectivable par la mesure du RCCU (Vaessen et *al.*, 2004).

L'intérêt d'un tel test serait de diminuer le nombre de faux positifs liés au stress, car sa mise en œuvre, assurée par le propriétaire, est moins invasive et ne nécessite pas d'hospitalisation ambulatoire. De plus, il pourrait être intéressant pour le suivi post-opératoire des animaux ayant subi une hypophysectomie. Néanmoins, des études supplémentaires sont nécessaires, notamment sur des chiens pour lesquels un hypercorticisme est suspecté.

3. L'établissement du diagnostic étiologique

3.1 Examens sanguins

3.1.1 Le test de freinage de la cortisolémie par la dexaméthasone dose faible

Parfois, le test de freinage à la dexaméthasone permet de déterminer la nature de l'hypercorticisme. En effet, l'observation d'un freinage à 4h ou d'un freinage relatif à 8h (diminution d'au moins 50% de la cortisolémie basale) serait en faveur d'un hypercorticisme ACTH-dépendant.

Dans l'étude ayant permis de mettre en évidence l'existence de ce freinage transitoire chez les animaux atteints d'hypercorticisme central, les critères utilisés étaient une cortisolémie à 4h inférieure à 1,4 µg/dL ou une cortisolémie à 4h inférieure à 50 % de la cortisolémie basale. Environ 65 % des animaux qui présentaient un hypercorticisme ACTH-dépendant remplissaient au moins un de ces critères (Feldman *et al.*, 1996).

3.1.2 Le test de freinage de la cortisolémie par la dexaméthasone dose forte

Le principe de la mise en œuvre est le même que le test de freinage par la dexaméthasone à dose faible, mais la dose employée est *a minima* dix fois supérieure. En effet, lors de tumeur hypophysaire, cette dernière peut présenter une sensibilité partielle au rétrocontrôle négatif par les corticoïdes. Comme vu précédemment, cette sensibilité varie avec la taille de la tumeur, les plus grosses étant davantage résistantes au rétrocontrôle négatif (Kooistra *et al.*, 1997). A l'inverse, les tumeurs surrenaliennes sont insensibles à ce rétrocontrôle, indépendamment de la dose employée, car la sécrétion de cortisol est autonome.

La cortisolémie est mesurée avant, 4h et 8h après l'administration de 0,1 à 1 mg/kg de dexaméthasone par voie intra-veineuse ou intra-musculaire. La dexaméthasone polyéthylène glycol ou la dexaméthasone sodium phosphate peuvent être utilisées indifféremment. Si, la cortisolémie est inférieure à 1,4 µg/dl (40 nmol/L) ou à 50% de la valeur de la cortisolémie basale, à 4h ou 8h post-administration, on peut alors conclure à un syndrome de Cushing d'origine hypophysaire (Feldman *et al.*, 1996).

A l'inverse, en l'absence de freinage, on ne peut conclure sur l'origine de l'hypercorticisme. En effet, dans la plus grosse étude ayant évalué ce test, portant sur 181 chiens atteints d'hypercorticisme ACTH-dépendant et 35 chiens atteints d'hypercorticisme ACTH-indépendant, environ 35% des chiens atteints d'hypercorticisme ACTH-dépendant ne présentaient pas de critère de freinage au test de freinage à la dexaméthasone dose forte.

Cette absence de sensibilité peut être due à une tumeur hypophysaire de grande taille, ou une tumeur originaire du lobe intermédiaire, qui n'est pas sensible au rétrocontrôle négatif par les glucocorticoïdes (Peterson et *al.*, 1986 ; Peterson, 1987). Par ailleurs, tous les chiens atteints d'hypercorticisme surrénalien présentaient une absence de freinage, ce qui permet d'affirmer avec certitude l'origine hypophysaire lorsque qu'un freinage est observé.

Néanmoins, seulement 12% des chiens n'ayant pas présenté de freinage avec une dose faible de dexaméthasone ont présenté un freinage avec une dose forte. Ce test apporte donc rarement une information supplémentaire suite au freinage à dose faible, la plupart des chiens présentant un freinage en ayant déjà présenté un avec la dose faible. Ainsi, chez un chien atteint d'hypercorticisme et qui n'a pas présenté de freinage à dose faible, il est préférable d'utiliser un examen d'imagerie ou le dosage de l'ACTH endogène pour confirmer l'étiologie (Feldman et *al.*, 1996).

3.1.3 Le test de freinage de la cortisolémie par la dexaméthasone à dose forte combinée à la mesure du RCCU

Reposant sur le même principe que le test de freinage à la dexaméthasone dose faible combiné à la mesure du RCCU vu précédemment, il est également possible de combiner un test de freinage à la dexaméthasone dose forte et la mesure du RCCU. Le principe de la mise en œuvre est similaire. Le propriétaire collecte des urines trois matinées consécutives.

Après le deuxième prélèvement, il administre de la dexaméthasone par voie orale, à la dose de 0,1 mg/kg (soit à une dose dix fois supérieure), toutes les 8h jusqu'à atteindre trois administrations. Dans l'étude ayant étudié cette combinaison de test, le critère retenu, inspiré d'études réalisées en médecine humaine, et validé ici, pour conclure à une atteinte hypophysaire était un RCCU sur le troisième prélèvement inférieur à 50 % du RCCU basal. Ainsi, 28 % (31/111) des chiens qui présentaient un hypercorticisme ACTH-dépendant remplissaient ce critère (Galac et *al.*, 1997).

3.1.4 Dosage de l'ACTH endogène

Le dosage de l'ACTH endogène permet également de déterminer l'origine de l'hypercorticisme. En effet, comme vu précédemment, l'ACTH est sécrétée de façon pulsatile par l'hypophyse. Lors d'hypercorticisme ACTH-dépendant, on s'attend à une concentration d'ACTH normale à augmentée, alors que lors d'atteinte surrénalienne, la concentration d'ACTH est effondrée en réponse au rétrocontrôle négatif que le cortisol, sécrété de façon exacerbée, exerce sur l'hypothalamus et sur l'hypophyse.

L'intérêt de l'ACTH endogène pour identifier l'origine de l'hypercorticisme a d'abord été démontré dans une étude prospective portant sur 29 individus en 2001. Tous les individus étaient atteints d'un hypercorticisme, dont le diagnostic étiologique avait été établi par échographie abdominale. Tous les individus atteints d'hypercorticisme ACTH-dépendant avaient une concentration en ACTH endogène supérieure à 28 pg/ml.

De plus, une concentration en ACTH endogène inférieure à 5 pg/ml était associée à la mise en évidence d'une masse surrénalienne avec une sensibilité de 95% et une spécificité de 100% (Gould *et al.*, 2001).

Dans une étude rétrospective plus récente qui portait sur 109 chiens atteints d'hypercorticisme (91 d'origine hypophysaire et 18 d'origine surrénalienne), on retrouve des résultats similaires. En effet, une concentration en ACTH endogène inférieure à 5 pg/ml était associée à un hypercorticisme ACTH-indépendant avec des sensibilité et spécificité de 85-100% et 97-100% respectivement (Rodríguez Piñeiro *et al.*, 2009).

Néanmoins, compte-tenu du recouvrement important qui existe entre les valeurs de concentration en ACTH endogène chez les chiens avec un hypercorticisme ACTH-dépendant et les valeurs chez les chiens sains, ce dosage ne s'avère utile qu'une fois que l'hypercorticisme a été confirmé par un autre test (Hanson *et al.*, 2006).

Cet examen est intéressant car il permet de mettre en évidence un hypercorticisme ACTH-indépendant de façon quasi-certaine et que sa mise en œuvre nécessite un unique prélèvement. Néanmoins, sa principale limite est la labilité de l'ACTH, qui est très sensible à la dégradation enzymatique dans le sang ou le plasma, pouvant conduire à une concentration faussement diminuée. Pour s'en affranchir, il convient de prélever le sang sur un tube EDTA (acide éthylènediaminetétraacétique) et de le centrifuger immédiatement et à froid.

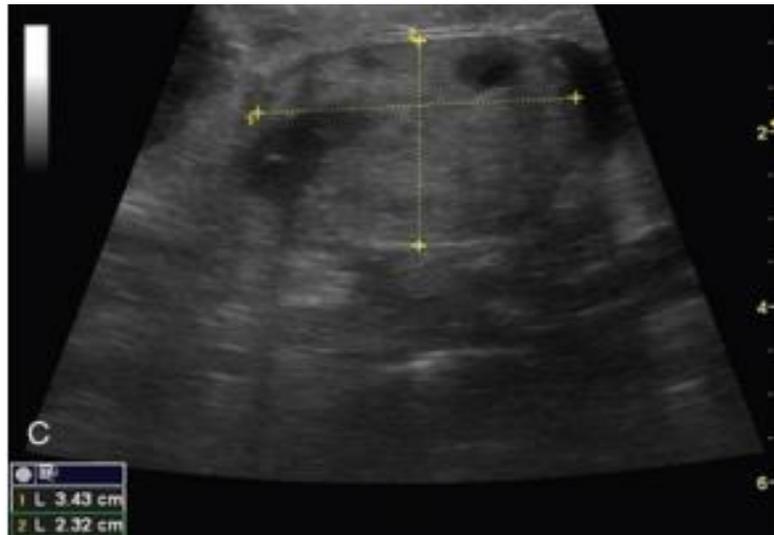
Le plasma doit ensuite être conservé dans un tube en plastique refroidi et congelé à 20°C (Hegstad *et al.*, 1990) Il a été montré que l'ajout d'aprotinine, un inhibiteur des enzymes protéolytiques, permettrait de prévenir la dégradation de l'ACTH (Kempainen *et al.*, 1994).

3.2 Examens d'imagerie médicale

3.2.1 L'échographie abdominale

L'échographie abdominale, et plus particulièrement des glandes surrénales, permet de distinguer un hypercorticisme ACTH-dépendant d'un hypercorticisme ACTH-indépendant. Lors d'une atteinte hypophysaire, on peut observer une hypertrophie bilatérale et symétrique des glandes surrénales secondaire à la stimulation par l'ACTH exacerbée. A l'inverse, dans le cas d'une atteinte surrénalienne, l'échographie permet de mettre en évidence une hypertrophie de la glande atteinte (comme sur la Figure 11) et une atrophie de la glande controlatérale.

Figure 11 : Image échographique d'une tumeur surrénalienne vue en coupe longitudinale (Ettinger et al., 2017)



En effet, lors d'hypercorticisme ACTH-indépendant, des modifications de la forme et de l'échogénicité de la glande surrénale touchée peuvent être observées, associées à une glande controlatérale d'aspect identique à une surrénale normale mais de taille diminuée. Néanmoins, des cas de tumeurs bilatérales sont décrits. Ceux-ci représenteraient moins de 10% des cas d'hypercorticisme périphérique (Hoerauf et Reusch, 1999). Cependant, l'échographie ne permet pas de différencier une tumeur surrénalienne sécrétante d'une tumeur non sécrétante, d'un phéochromocytome, d'une lésion métastatique ou d'un granulome (Feldman et al., 2015).

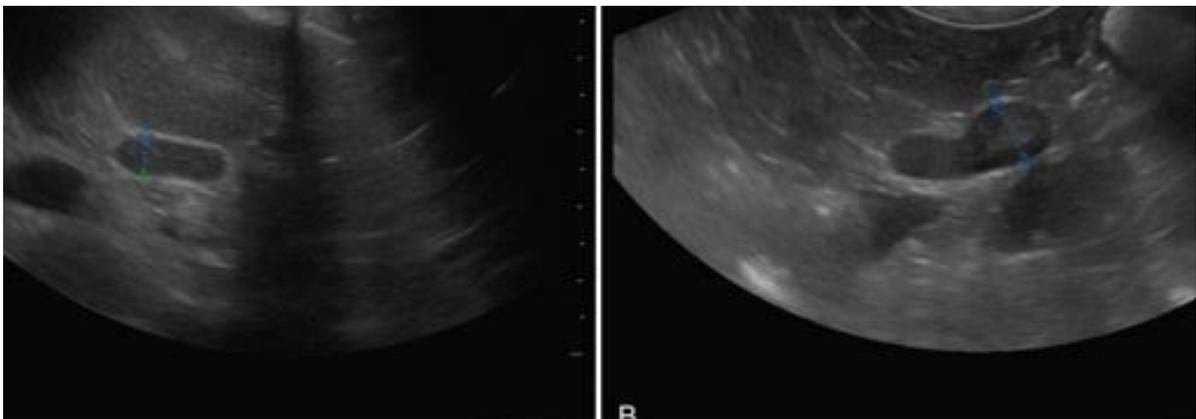
La distinction entre adénome et adénocarcinome n'est possible qu'après un examen histologique de la masse. L'observation de métastases, l'infiltration de la veine cave caudale (Figure 12) ou une épaisseur de la glande supérieure à 4 cm sont néanmoins très évocateurs d'un processus malin (Behrend et al., 2013).

Figure 12 : Image échographique d'une infiltration de la veine cave caudale par une tumeur surrénalienne (Ettinger et al., 2017)



D'autre part, il a été démontré que l'aspect des glandes surrénales est significativement différent entre les chiens atteints de maladie de Cushing et les chiens sains, comme illustré sur la Figure 13. Chez les individus malades, on retrouve une adrénomégalie symétrique causée par une hyperplasie diffuse. La forme des surrénales est conservée ou légèrement arrondie, et l'échogénicité est homogène et plus faible que le cortex rénal adjacent (tout comme chez les chiens sains). Néanmoins, la présence d'un ou plusieurs nodules, intéressant une ou les deux surrénales, chez des chiens atteints d'hypercorticisme ACTH-dépendant a été décrite, mais ces cas représenteraient moins de 5% des cas hypercorticisme central (Grooters *et al.*, 1996). Aussi, environ 25% des animaux atteints d'hypercorticisme ACTH-indépendant présentent des glandes surrénales de taille normale (Choi *et al.*, 2011).

Figure 13 : Images échographiques d'une glande surrénale saine en coupe longitudinale (à gauche) versus une glande surrénale hyperplasique chez un chien atteinte d'hypercorticisme central (à droite) (Ettinger *et al.*, 2017)



Habituellement, la glande surrénale était de taille augmentée lorsque son épaisseur de était supérieure à 7,4 mm (Barthez *et al.*, 1995). Néanmoins, il a été montré que l'épaisseur des glandes surrénales varie selon l'âge, le sexe et le gabarit de l'animal. Une étude a montré que chez le chien de moins de 12 kg, l'épaisseur est inférieure à 6,2 mm, alors que chez le chien de plus de 12 kg, l'épaisseur de la surrénale est en deçà de 7,2 mm (Bento *et al.*, 2016). De plus, la valeur seuil n'est pas la même à droite et à gauche. En effet, chez le Labrador Retriever, elle serait de 7,9 mm pour la surrénale gauche et de 9,5 mm pour la surrénale droite. Similairement, chez le Yorkshire Terrier, ces valeurs sont de 5,4 mm à gauche et 6,7 mm (de Chalus et Combes, 2012).

L'absence de valeur seuil généralisable, l'existence de tumeurs surrénales bilatérales ou de nodules d'hyperplasie chez des chiens atteints d'hypercorticisme ACTH-dépendant ainsi que la grande variabilité d'aspect des tumeurs surrénales peuvent parfois rendre l'interprétation des images échographiques délicate.

Afin de permettre l'établissement d'un diagnostic face à des cas parfois équivoques, une étude rétrospective portant sur 47 chiens présentés au Centre Universitaire Vétérinaire d'Alfort a été réalisée, dans le but d'établir une valeur seuil d'épaisseur en-deçà de laquelle une glande surrénale peut être considérée atrophiée et donc compatible avec un hypercorticisme ACTH-indépendant. Ainsi, il a été démontré qu'une épaisseur de la plus petite des deux glandes surrénales inférieure à 5 mm est associée à une tumeur surrénalienne contralatérale avec une sensibilité de 100% et une spécificité de 96% (Benchekroun *et al.*, 2010).

Enfin, l'échographie de contraste des glandes surrénales peut s'avérer pertinente pour la mise en évidence d'une atteinte d'origine hypophysaire. Elle s'obtient après l'injection intraveineuse de 0,03 ml/kg d'hexafluorure de soufre suivie de 5 ml de NaCl, et permet de visualiser la vascularisation des surrénales. Chez les chiens sains, le produit de contraste est réparti de façon homogène, et progresse lentement de la médulla vers le cortex. Chez le chien atteint d'hypercorticisme ACTH-dépendant, le contraste apparaît brutalement, de façon non-homogène et simultanément dans le cortex et la médulla (Bargellini *et al.*, 2013).

A l'inverse, une autre étude rapporte qu'il n'existerait pas de différence qualitative entre les animaux sains et ceux atteints d'hypercorticisme ACTH-dépendant. Néanmoins, la réalisation de courbes représentant l'intensité du signal en fonction du temps a mis en évidence un pic d'intensité retardé chez les chiens atteints d'hypercorticisme ACTH-dépendant par rapport aux chiens sains (Pey *et al.*, 2013). Des études supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ces résultats.

3.2.2 L'examen tomodensitométrique et l'imagerie par résonance magnétique

L'examen tomodensitométrique (ou scanner) et l'imagerie par résonance magnétique (IRM) sont les seuls moyens de visualiser directement une tumeur hypophysaire. La taille de l'hypophyse est variable selon la race et l'individu. En moyenne, chez le chien sain, les dimensions sont de 3,2 – 5,1 mm de hauteur, 4,2 – 6,9 mm de largeur et 3,6 – 7,2 mm de longueur (Meij, 2001). Les premiers signes d'une augmentation de la taille de l'hypophyse sont une augmentation de sa hauteur, avec une extension dorsale et une possible protrusion hors de la selle turcique (Kooistra *et al.*, 1997). Bien que l'examen tomodensitométrique ne permette pas de déterminer avec certitude le type de tumeur incriminée, une étude a montré que les adénomes invasifs ont une hauteur moyenne significativement plus élevée de $1,8 \pm 0,7$ cm que ceux non invasifs (Pollard *et al.*, 2010).

De plus, chez les chiens atteints d'hypercorticisme et présentant des signes neurologiques, la tumeur hypophysaire est visualisée dans 100% des cas (Nelson *et al.*, 1989).

Comme vu précédemment, le rapport P/B est un outil intéressant pour objectiver une augmentation de la taille de l'hypophyse en tenant compte des variations individuelles. En effet, si le rapport P/B est inférieur à $0,31 \times 10^{-2} \text{ mm}^{-1}$, la taille de l'hypophyse est normale, alors que si ce rapport est supérieur à $0,31 \times 10^{-2} \text{ mm}^{-1}$, elle est augmentée (Meij, 2001).

Néanmoins, chez les chiens dont l'origine hypophysaire de l'hypercorticisme a été établie, l'élargissement de l'hypophyse (avec un rapport P/B supérieur à $0,31 \times 10^{-2} \text{ mm}^{-1}$) n'est visualisable que dans 43 à 70% des cas (Kooistra *et al.*, 1997 ; Rodríguez Piñeiro *et al.*, 2011 ; van Bokhorst *et al.*, 2019).

Pour augmenter la sensibilité de l'examen, il est possible de réaliser un examen tomodensitométrique avec injection de produit de contraste dynamique. Chez le chien sain, grâce à la vascularisation directe artérielle, le produit de contraste se concentre d'abord dans le lobe postérieur de l'hypophyse, à l'origine d'un signal très intense dit « flush hypophysaire ». Puis, dans un deuxième temps, le produit de contraste envahit progressivement la périphérie du lobe antérieur grâce à la vascularisation indirecte via le système porte. (Feldman *et al.*, 2015). La présence d'un déplacement ou d'une déformation du flush de l'hypophyse évoque l'existence d'un processus tumoral (van der Vlugt-Meijer *et al.*, 2003). La disparition complète du flush évoque une compression marquée par une masse tumorale (Behrend *et al.*, 2013). L'examen dynamique permet d'augmenter sensiblement la sensibilité. En effet, dans une étude utilisant l'examen tomodensitométrique avec produit de contraste dynamique, l'hypophyse était anormale chez 82% des chiens dont le diagnostic d'hypercorticisme central avait été établi (van der Vlugt-Meijer *et al.*, 2003).

Dans une autre étude, chez des chiens dont le diagnostic d'hypercorticisme central avait été établi mais dont la taille de l'hypophyse était normale, 61% présentait des anomalies à l'examen tomodensitométrique avec produit de contraste dynamique (van Bokhorst *et al.*, 2019).

L'IRM est plus sensible que le scanner pour la détection des tumeurs hypophysaires, et notamment des microadénomes, dont la présence est caractérisée par un déplacement dorsal et une baisse de l'intensité du signal. De plus, elle permet de visualiser avec précision les limites de la tumeur et les effets sur les tissus environnants (Taoda *et al.*, 2011).

Le scanner et l'IRM de l'hypophyse permettent d'établir le diagnostic étiologique de l'hypercorticisme. Néanmoins, même lorsque l'origine hypophysaire a été montrée par un autre examen, il est nécessaire d'effectuer un de ces examens d'imagerie dès lors qu'un traitement par hypophysectomie ou radiothérapie est envisagé. Ils sont également recommandés lorsque les résultats des examens précédents sont équivoques et ne permettent pas de trancher entre une atteinte surrénalienne ou hypophysaire (par exemple lorsqu'une tumeur surrénalienne a été visualisée à l'échographie abdominale mais que la concentration d'ACTH endogène n'est pas diminuée) (Behrend *et al.*, 2013). Par ailleurs, la présence d'une tumeur surrénalienne et d'une tumeur hypophysaire pouvant être concomitantes, il est recommandé de pratiquer un scanner ou une IRM de l'hypophyse même lorsque l'atteinte surrénalienne a été établie (Greco *et al.*, 1999). Néanmoins, il est possible d'observer une hypophyse d'aspect normal au scanner avec produit de contraste ou à l'IRM, malgré l'existence d'une tumeur hypophysaire (Behrend *et al.*, 2013).

Il est également possible de réaliser un examen tomodensitométrique de l'abdomen. Cette possibilité est un avantage de l'examen tomodensitométrique. Il permet ainsi lors d'atteinte surrénalienne de réaliser un bilan d'extension local et à distance. Lors d'hypercorticisme ACTH-dépendant, il permet d'objectiver l'hyperplasie bilatérale des glandes surrénales, qui présentent une taille augmentée avec une forme arrondie. Il permet également de visualiser la présence d'une masse surrénalienne, mais ne permet pas de différencier une tumeur d'un nodule d'hyperplasie. Néanmoins, une masse mal délimitée et/ou une répartition non homogène du produit de contraste sont plus en faveur d'un processus malin (Voorhout, 1990). Le scanner permet également de visualiser la possible invasion vasculaire localement (Rodríguez Piñeiro et *al.*, 2011).

F. La démarche thérapeutique lors de maladie de Cushing

1. Le traitement médical de la maladie de Cushing

1.1 Le traitement anciennement utilisé : le mitotane

Durant de nombreuses années, le mitotane (ou o,p'DDD) était le traitement de choix de la maladie de Cushing. Cette molécule est à l'origine d'une nécrose irréversible des zones fasciculées et réticulées du cortex surrénalien. Le principe du traitement reposait sur une phase d'induction suivie d'une phase de maintenance.

La dose initiale employée était de 30 à 50 mg/kg par voie orale, répartis en deux prises quotidiennes pendant 10 jours (Kintzer et Peterson, 1991).

À la fin de la phase d'induction, un test de stimulation à l'ACTH était réalisé. Si le résultat était favorable, la phase de maintenance était initiée, avec une dose de 50 mg/kg/semaine répartis en deux à quatre prises (Ettinger et *al.*, 2017).

Le principal inconvénient du traitement à base de mitotane est l'existence de nombreux effets secondaires, notamment pendant la phase d'induction. Ces effets sont une léthargie, une faiblesse, de l'anorexie, de la diarrhée, des vomissements ou encore de l'ataxie. Dans l'étude menée par Kintzer et Peterson (étude portant sur 200 chiens atteints d'hypercorticisme ACTH-dépendant et traités au mitotane), 25% des animaux présentaient au moins un de ces signes durant la phase d'induction. Pour limiter la survenue de ces effets indésirables durant cette première phase, pouvant être imputable à une chute trop brutale de la cortisolémie, il est possible d'adjoindre au traitement une corticothérapie à faible dose (prednisolone ou prednisone à 0,15 – 0,25 mg/kg/j avec au maximum 5 mg/j/chien). Néanmoins, cela masque un possible surdosage en mitotane. Dans tous les cas, si l'un de ces signes cliniques survient durant la phase d'induction, il convient d'arrêter le traitement jusqu'à résolution des signes. Il est également possible d'administrer de la prednisone à 0,2-0,5 mg/kg par voie orale une fois par jour. Le traitement à base de mitotane peut être réintroduit après la réalisation d'un test de stimulation à l'ACTH (Ettinger et *al.*, 2017).

Bien que la zone glomérulée soit moins sensible aux effets du mitotane, une nécrose demeure possible et peut être à l'origine d'un déficit en aldostérone (et donc d'une maladie d'Addison iatrogène). Elle est notamment suspectée chez les chiens présentant des effets secondaires ne répondant pas à la corticothérapie. Bien que cela soit rare, la gravité de cet effet indésirable réside dans son caractère irréversible. En effet, dans l'étude de Kintzer et Peterson, 6% des chiens présentaient un hypocorticisme complet, associant des déficits en glucocorticoïdes et en minéralocorticoïdes irréversibles.

1.2 Le traitement couramment utilisé aujourd'hui : le trilostane

Le trilostane est le traitement médical actuel de choix pour la maladie de Cushing. Il s'agit d'un inhibiteur de la 3-béta-hydroxystéroïde-déshydrogénase, enzyme impliquée dans la chaîne de formation du cortisol (et notamment responsable de la catalyse de la conversion de la prégnénolone en progestérone). Le trilostane est donc à l'origine d'une légère inhibition de la formation de l'aldostérone, mais celle-ci est réversible (Wenger *et al.*, 2004).

De nombreuses études ont montré que le trilostane permet un contrôle des signes cliniques d'hypercorticisme dans plus de 90% des cas (Neiger *et al.*, 2002 ; Braddock *et al.*, 2003 ; Alenza *et al.*, 2006 ; Vaughan *et al.*, 2008).

Dans une étude rétrospective portant sur 148 chiens atteints d'hypercorticisme ACTH-dépendant, il n'y avait pas de différence significative entre la durée de survie des individus ayant reçu un traitement à base de trilostane (123 individus) et ceux ayant reçu un traitement à base de mitotane (25 individus) (Barker *et al.*, 2005).

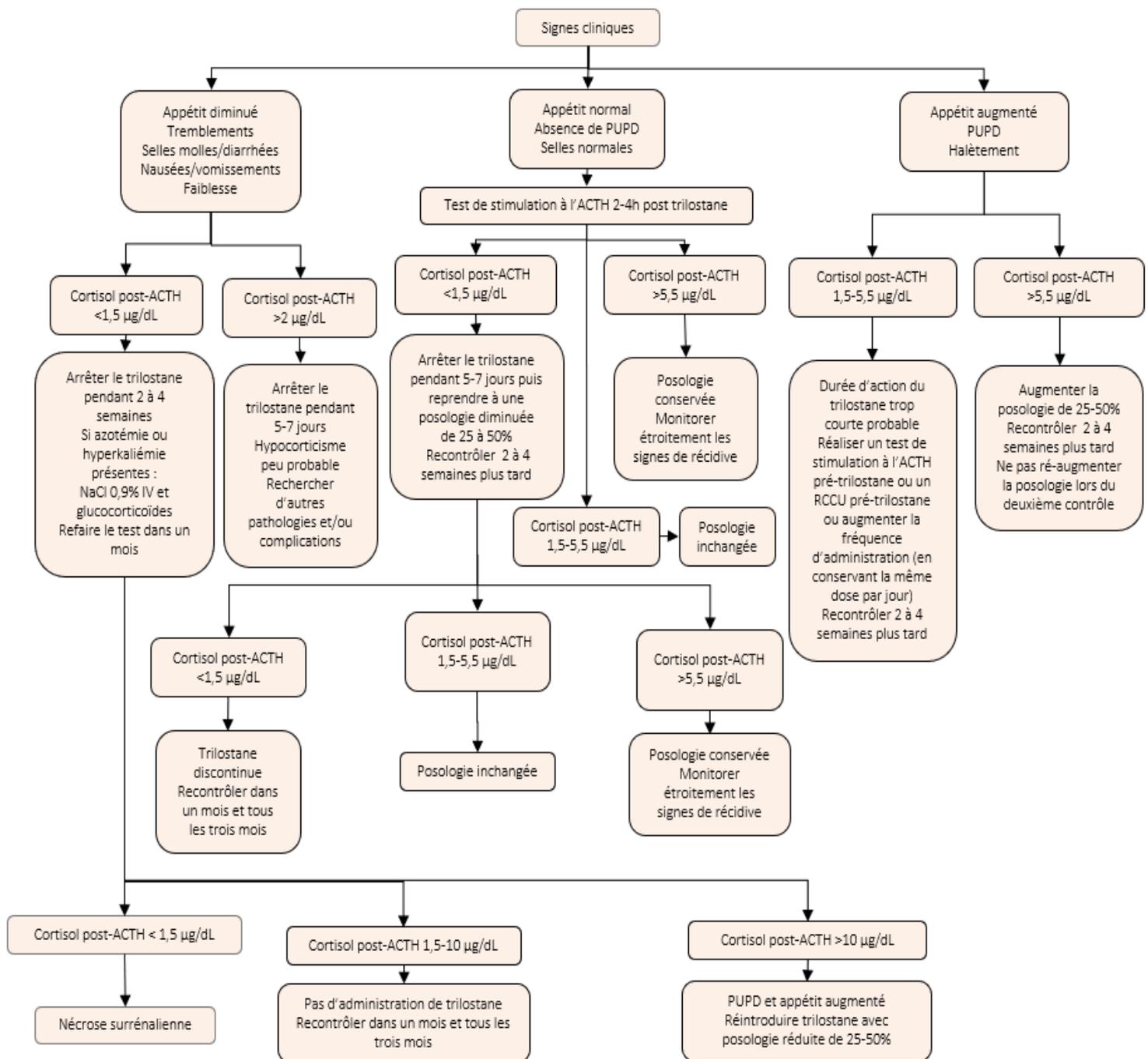
Bien que les doses et fréquences d'administration soient encore à l'étude, de nombreuses études ont montré qu'une dose de 0,5-1 mg/kg par voie orale toutes les 12h serait la plus efficace et à l'origine de peu d'effets secondaires. Le trilostane atteint son efficacité maximale 2 à 4h après son administration (Bonadio *et al.*, 2014). Néanmoins, il a été montré que sa durée d'action est inférieure à 24h, d'où la nécessité d'une administration bi-quotidienne (Bell *et al.*, 2006 ; Vaughan *et al.*, 2008).

Par ailleurs, une administration toutes les 12h nécessite une dose journalière moins importante que si l'administration se fait en une prise quotidienne (Alenza *et al.*, 2006 ; Vaughan *et al.*, 2008 ; Feldman, 2011 ; Augusto *et al.*, 2012 ; Arenas *et al.*, 2013 ; Cho *et al.*, 2013).

Bien qu'il n'y ait pas de phase d'induction à proprement parler, il est conseillé d'initier le traitement avec une dose de 0,5-1 mg/kg par voie orale deux fois par jour (ou 1-2 mg/kg une fois par jour). Le trilostane doit être administré de préférence au moment d'un repas, afin d'optimiser son absorption gastro-intestinale. Dans les 7-10 jours suivant l'initiation du traitement, le propriétaire peut observer une diminution de la PUPD, alors que la polyphagie peut mettre plusieurs semaines à rétrocéder et les signes cutanés jusqu'à plusieurs mois. Un premier contrôle a lieu 10 – 15 jours après le début du traitement et à cette occasion, un examen biochimique, un ionogramme et un test de stimulation à l'ACTH sont réalisés, ainsi qu'un examen clinique complet et un bilan avec le propriétaire sur l'évolution des signes cliniques.

Le test de stimulation à l'ACTH est réalisé dans les 2 à 4h après la prise du trilostane (dans la fenêtre où son efficacité est maximale). Le but de ce premier contrôle n'est pas de juger l'efficacité du traitement, qui peut évoluer jusqu'à trente jours après l'initiation du traitement, mais de détecter un possible surdosage en trilostane. Idéalement, on vise une cortisolémie post-ACTH comprise entre 1,5 et 5,5 µg/dL (soit 41-152 nmol/L), mais si celle-ci est supérieure à 5,5µg/dL, la dose de trilostane ne sera pas augmentée à ce stade. Par contre, si la cortisolémie post-ACTH est inférieure à 1 µg/dL (30 nmol/L), le traitement est suspendu et peut être repris à une dose plus faible 3-7 jours plus tard. L'algorithme (Figure 14) précise la démarche à suivre selon les différentes situations possibles.

Figure 14 : Arbre décisionnel au premier contrôle lors d'un traitement à base de trilostane (Ettinger et al., 2017)



Les contrôles suivants ont lieu à un mois et trois mois après l'initiation du traitement, puis tous les 3-6 mois. Ils font toujours l'objet d'un examen biochimique, d'un ionogramme et un test de stimulation à l'ACTH, et la dose de trilostane peut alors être adaptée (Feldman et al., 2015 ; Ettinger et al., 2017).

Les effets secondaires possibles sont la plupart du temps modérés et résultent d'une concentration en cortisol ou en aldostérone trop bas. Les effets secondaires mineurs peuvent être une léthargie ou une baisse d'appétit dans les jours suivant l'initiation du traitement. En cas de survenue d'effets secondaires, il convient d'arrêter le traitement, qui peut être réintroduit 3 à 5 jours plus tard. D'autres effets secondaires, plus graves, peuvent être rencontrés : un abattement, une anorexie, des vomissements, de la diarrhée, des tremblements ou une perte de poids. Dans une étude prospective portant sur 44 chiens atteints d'hypercorticisme ACTH-dépendant et recevant un traitement à base de trilostane, 25% des animaux présentaient au moins l'un de ces signes (Alenza *et al.*, 2006). Si l'un de ces signes survient, il convient d'arrêter le traitement et d'effectuer un ionogramme, un contrôle des paramètres rénaux, une mesure de la glycémie et une mesure de pression artérielle. Un test de stimulation à l'ACTH peut être réalisé pour vérifier la présence ou non d'un hypocorticisme. Si celui-ci est avéré mais que la natrémie et la kaliémie sont normales, le traitement est arrêté (avec la mise en place éventuelle d'une corticothérapie) et un nouveau test de stimulation à l'ACTH est réalisé deux à quatre semaines plus tard. Si l'hypocorticisme persiste, cela signifie qu'une nécrose surrénalienne est probablement présente (phénomène décrit plus loin). Si le ionogramme révèle une hyperkaliémie et une hyponatrémie, une crise Addisonienne est probable et il faut la traiter. Un test de stimulation par l'ACTH est préconisé un mois plus tard puis tous les 3-6 mois pour déterminer le moment où le traitement pour l'hypocorticisme peut être interrompu et le trilostane de nouveau introduit (Feldman *et al.*, 2015 ; Ettinger *et al.*, 2017).

Même si le trilostane est un inhibiteur réversible de la synthèse de cortisol, des nécroses corticales chez deux chiens atteints d'hypercorticisme ACTH-dépendant et recevant tous deux un traitement à base de trilostane ont été décrites (Chapman *et al.*, 2004 ; Ramsey *et al.*, 2008). La pathogénie est encore mal comprise. Par ailleurs, à l'échographie abdominale, la nécrose surrénalienne se caractérise par un cortex aminci et une échogénicité hétérogène.

La médiane de survie des chiens atteints d'hypercorticisme ACTH-dépendant et traités avec le trilostane a été évaluée à 549 jours dans une étude en 2002 (Neiger *et al.*, 2002) ou encore à 549 jours dans une autre étude de 2005 (Barker *et al.*, 2005b). Une étude plus récente ayant évalué le temps de survie des chiens traités au trilostane portait rétrospectivement sur 43 chiens atteints d'hypercorticisme ACTH-dépendant, dont 17 recevaient un traitement à base de trilostane et 26 ne recevaient pas de traitement. La médiane de survie était significativement plus élevée chez les chiens ayant reçu un traitement à base de trilostane (Nagata *et al.*, 2017).

2. Le traitement des macroadénomes hypophysaires: la radiothérapie

La radiothérapie consiste en l'exposition à des rayonnements ionisants afin de détruire les cellules tumorales. Elle est réalisée sous anesthésie générale et nécessite une hospitalisation. Les doses totales de rayons employées varient entre 35 et 50 Gy, et sont divisées en fractions de 2,5 Gy à 5 Gy, appliquées 3 à 5 fois par semaine sur une période de 3 à 4 semaines.

Le fractionnement de la dose totale de rayonnement permet d'optimiser la mort des cellules cancéreuses tout en préservant le tissu sain au maximum. Néanmoins, un fractionnement trop important multiplie les procédures d'anesthésie et augmente le temps d'hospitalisation cumulé (Feldman et *al.*, 2015).

Les effets secondaires de la radiothérapie s'observent à court terme et à long terme. Les effets à court terme concernent les tissus et/ou organes à division cellulaire rapide et localisés sur le chemin des rayonnements (principalement la peau, la muqueuse pharyngée et le conduit auditif externe). Ils peuvent alors être une alopecie localisée, une leucotrichie ou encore une léthargie et une désorientation transitoires. L'administration de glucocorticoïdes à raison de 0,25 mg/kg de prednisone une fois par jour pendant toute la durée de la radiothérapie contribuerait à réduire la survenue de ces effets indésirables. Les effets secondaires à long terme apparaissent plusieurs mois après la fin de la thérapie et concernent les tissus à division cellulaire lente (localisés sur le chemin des rayonnements également). Ils sont irréversibles. Les principaux effets décrits sont une perte d'audition voire une surdité, des lésions vestibulaires ou des lésions du nerf trijumeau. Le risque de survenue dépend de la quantité de tissu sain exposé et de la dose totale et par fraction de rayonnements (Feldman et *al.*, 2015).

Une autre technique encore peu répandue, la radiothérapie stéréotaxique (ou SRS, *stereotactic radiosurgery*), permet l'application des rayonnements dans un intervalle de temps plus court. Cette technique est utilisée par de nombreuses universités aux Etats-Unis, pour le traitement de l'hypercorticisme ACTH-dépendant chez le chien et l'acromégalie chez le chat. À l'université de Californie à Davis, la dose employée est de 28 Gy, administrée en fractions de 8 Gy trois jours d'affilé. Les avantages de cette technique sont la diminution de la durée et la fréquence des procédures d'anesthésie et d'hospitalisation (Feldman et *al.*, 2015). Dans une étude menée à l'Université de Floride portant sur différents types de tumeurs intracrâniennes traitées par SRS, la médiane de survie était similaire aux résultats connus pour la radiothérapie classique. Dans cette étude, très peu d'effets secondaires ont été décrits. Néanmoins, davantage d'études sur les effets à court terme et à long terme sont nécessaires (Mariani et *al.*, 2015).

La radiothérapie permet de réduire efficacement la taille d'une tumeur hypophysaire. Dans une étude rétrospective portant sur 12 chiens atteints de macroadénome hypophysaire et ayant reçu une radiothérapie avec une dose de rayonnements de 36 Gy, la taille de la tumeur était systématiquement et significativement diminuée suite à la radiothérapie, avec une réduction de plus de 50% chez 6 chiens. Par ailleurs, tous ont présenté une amélioration des signes neurologiques entre 2 et 4 mois après l'irradiation.

Les effets de la radiothérapie sur la tumeur apparaissent dans le mois suivant la fin de la radiothérapie et peuvent se poursuivre jusqu'à 20 mois après l'irradiation (de Fornel et *al.*, 2007). En diminuant la taille de la tumeur, la radiothérapie permet de diminuer efficacement les signes neurologiques, fréquents lors de macroadénomes hypophysaires. En effet, il existe une corrélation entre la taille de la tumeur hypophysaire et la gravité des signes neurologiques.

De plus, la gravité des signes neurologiques a été identifiée comme un facteur pronostique négatif post-radiothérapie. Dans une étude portant sur 24 chiens atteints d'hypercorticisme hypophysaire, les chiens qui présentaient des signes neurologiques marqués avaient 6,6 fois plus de chance de décéder de leur tumeur hypophysaire que ceux présentant des signes neurologiques légers (Théon et Feldman, 1998). Le pronostic est d'autant meilleur que la tumeur est petite. Ainsi, sur les tumeurs de plus de 8 mm, la radiothérapie est indiquée en première intention (Ettinger et *al.*, 2017).

Néanmoins la radiothérapie n'a que très peu d'effet sur les signes cliniques de l'hypercorticisme. En effet, dans une étude portant sur 6 chiens atteints d'hypercorticisme hypophysaire et ayant reçu une radiothérapie à base de cobalt 60, à la dose 44 Gy en 10 fractions, les signes cliniques d'hypercorticisme avaient disparu chez seulement 3 chiens, et ils sont réapparus chez deux de ces trois chiens à 6 et 9 mois (Goossens et *al.*, 1998). Les effets sur la fonction sécrétoire de la radiothérapie sont très limités, ou transitoires, et l'hypersécrétion d'ACTH peut persister des mois après la radiothérapie. En effet, il n'y a pas de preuve de l'existence d'un lien entre la taille de la tumeur et la sécrétion d'ACTH. Ainsi, elle doit toujours être associée à un traitement médical pour contrer les effets de la sécrétion excessive d'ACTH et de cortisol (Goossens et *al.*, 1998 ; Feldman et *al.*, 2015).

Selon les études, la médiane de survie suite à une radiothérapie sur une tumeur hypophysaire varie de 12 à 25 mois. Dans une étude portant sur 19 chiens atteints d'hypercorticisme hypophysaire (dont 11 présentaient des signes neurologiques), la médiane de survie était significativement plus élevée chez les chiens ayant reçu une radiothérapie (1405 jours) que chez les chiens n'en ayant pas reçue (551 jours) (Kent et *al.*, 2007).

In fine, la radiothérapie ne permet pas de diminuer les signes cliniques causés par la sécrétion chronique excessive de cortisol, mais elle permet de diminuer la taille de la tumeur hypophysaire et l'intensité des signes neurologiques, qui sont un facteur pronostique négatif. Il est donc préférable de traiter précocement, avant la survenue de signes neurologiques. Le pronostic est d'autant meilleur que la tumeur est petite. Ainsi, si une tumeur de 8 mm de hauteur ou plus est détectée, la radiothérapie est indiquée en première intention. Si la tumeur a une hauteur comprise entre 3 et 7 mm, il est recommandé d'effectuer un nouvel examen tomodensitométrique 12 mois plus tard. Si la tumeur fait moins de 3 mm de hauteur, il est très peu probable que la tumeur grossisse suffisamment pour entraîner des signes neurologiques. La radiothérapie n'est alors pas indiquée, et il n'est pas nécessaire de renouveler un examen tomodensitométrique.

La radiothérapie doit toujours être associée à un traitement médical pour lutter contre les effets systémiques de l'hypercortisolémie (Feldman et *al.*, 2015 ; Ettinger et *al.*, 2017).

3. Le traitement chirurgical : l'hypophysectomie transsphénoïdale

En médecine humaine, le traitement de choix de l'hypercorticisme ACTH-dépendant repose sur une exérèse partielle de l'hypophyse, avec ablation de l'adénome uniquement. (Melby, 1988). En médecine vétérinaire, la technique chirurgicale décrite consiste en une hypophysectomie *in toto*. Néanmoins, cette dernière n'est que très peu utilisée du fait du taux élevé de complications auquel elle est associée et de sa faible disponibilité.

La technique de microchirurgie employée a été pour la première fois décrite en 1997 dans une étude portant sur 43 chiens Beagles atteints d'hypercorticisme hypophysaire (Meij et *al.*, 1997). Les taux de survie à un an et deux ans étaient respectivement de 84,2% et 80,4%. Par ailleurs, à un an, le taux de rémission parmi les animaux vivants était de 91,7% (Meij et *al.*, 1998). Des résultats similaires ont été établis dans une étude prospective plus récente portant sur 150 chiens atteints d'hypercorticisme et ayant subi une hypophysectomie. Dans cette étude, les taux de survie à un an et deux ans étaient respectivement de 83,5% et de 76,1%. Le taux de rémission parmi les animaux vivants à un an était de 87,9% (Hanson et *al.*, 2005).

Les principales complications rapportées sont un diabète insipide permanent ou transitoire, une diminution ou un arrêt de la production de larmes, une hypernatrémie transitoire modérée ou encore une résurgence de la tumeur hypophysaire (Meij et *al.*, 1998 ; Hanson et *al.*, 2005).

Dans une nouvelle étude portant sur 181 animaux atteints d'hypercorticisme ACTH-dépendant et ayant subi une hypophysectomie, Hanson a montré qu'un âge avancé, une tumeur de grande taille et une augmentation de la concentration en ACTH endogène pré-opératoire étaient des facteurs de risque de décès. Par ailleurs, un âge avancé, une tumeur de grande taille, un os sphénoïde épais, un RCCU augmenté et une concentration d'alpha-MSH augmenté étaient des facteurs de risque de récurrence (Hanson et *al.*, 2007).

Par ailleurs, en 2015, une étude montrait qu'une concentration d'ACTH augmentée 5h après l'intervention chirurgicale et une cortisolémie augmentée 1h et 4h après l'intervention chirurgicale étaient associées à une période de rémission plus courte (Rijn et *al.*, 2015). Enfin, il a également montré qu'un rapport P/B > 0,31 x 10⁻² mm⁻¹ était associé à une durée de vie et une période de rémission significativement plus courtes (Rijn et *al.*, 2016).

Suite à l'intervention, les chiens reçoivent un traitement à base de glucocorticoïdes, de lévothyroxine à vie, du fait du retrait intégral de l'hypophyse, ainsi que de la desmopressine, un analogue de l'ADH, provisoirement dans la majorité des cas (Sanders et *al.*, 2018).

Une nouvelle approche de l'hypophysectomie avec une caméra haute définition (VITOM™) a été décrite sur 26 chiens traités pour hypercorticisme ACTH-dépendant. A un an, le taux de survie était de 81%, et le taux de rémission parmi les animaux vivants était de 91,2% (Mamelak et *al.*, 2014).

L'hypophysectomie est une technique dont l'efficacité a été démontrée, néanmoins, elle reste peu disponible aujourd'hui en médecine vétérinaire.

G. Pronostic et facteurs de risques de décès : point sur les données actuelles

Bien que l'hypercorticisme, ACTH-dépendant ou indépendant, ait fait l'objet de très nombreuses études, il existe, à ce jour, peu de données disponibles sur le pronostic et les facteurs de risque de décès chez les chiens atteints de la maladie de Cushing.

En 2015, Fracassi et *al.* a essayé de mettre en évidence des facteurs de risques de décès, cliniques ou paracliniques, dans une étude portant sur 85 chiens atteints d'hypercorticisme ACTH-dépendant et pris en charge par l'unité de médecine de l'université de Bologne en Italie. Tous les chiens recevaient un traitement à base de trilostane, avec une dose initiale comprise entre 1 et 6 mg/kg, une à deux fois par jour. Cette dose était modifiée selon les résultats des tests de stimulation à l'ACTH réalisés lors des contrôles. De très nombreuses données ont été étudiées : âge, sexe, statut reproducteur, poids, signes cliniques, pression artérielle systolique, hémocrite, numération leucocytaire, numération lymphocytaire, numération en neutrophiles et numération plaquettaire, activité sérique des PAL, ALAT et GGT (gamma glutamyl-transférase), bilirubinémie totale, concentration en protéines sériques, albuminémie, cholestérolémie, urémie, créatininémie, calcémie totale, phosphatémie, natrémie, chlorémie, kaliémie, cortisolémie basale, cortisolémie post-stimulation à l'ACTH et cortisolémie post-freinage à la dexaméthasone, densité urinaire, RPCU, présence d'affections concomitantes, dose d'initiation et fréquence d'administration du trilostane. Toutes ces expositions d'intérêt ont d'abord été intégrées au sein d'un modèle univarié, pour lequel seule l'urémie était associée de façon significative à la durée de survie médiane (avec un $p < 0,05$). Puis, les expositions associées au décès avec une valeur de $p < 0,20$ (âge au diagnostic, poids, comptage plaquettaire, albuminémie, créatinémie, urémie, activité des PAL, phosphatémie et kaliémie) ont été intégrées dans un modèle de Cox multivarié. Avec ce dernier, seuls l'âge au diagnostic (> 10 ans) et une élévation de la phosphatémie étaient associés de façon significative ($p < 0,05$) à une durée de survie plus courte. Par ailleurs, l'analyse de la courbe ROC a permis de mettre en évidence qu'une valeur seuil de phosphatémie de 1,45 mmol/L était la valeur optimale au-delà de laquelle la durée de survie médiane était significativement plus courte (Fracassi et *al.*, 2015).

La plus récente étude, menée par Schofield et ses collaborateurs en 2020 ayant étudié les facteurs de risque de décès lors d'hypercorticisme portait rétrospectivement sur 219 cas d'hypercorticisme canin, surrénalien et hypophysaire.

Dans cette étude, contrairement à l'étude de Nagata *et al.* (Partie 1.2), il n'y avait pas de différence significative entre la médiane de survie des animaux recevant un traitement à base de trilostane et ceux ne recevant pas de traitement (néanmoins, cette étude ayant été réalisée au Japon, il est probable que ses résultats aient été moins biaisés par les euthanasies qui sont, pour des raisons culturelles, moins courantes au Japon).

De la même façon, de très nombreuses expositions d'intérêt ont été étudiées, parmi lesquelles l'âge au diagnostic, le poids, le statut assuré, la présence de signes neurologiques, une augmentation de la dose de trilostane en cours de traitement ainsi que les cortisolémie pré et post-ACTH au moment du diagnostic étaient associés au décès avec une valeur de $p < 0,20$ et ont été intégrées au sein d'un modèle de Cox multivarié. Ce dernier a permis d'identifier deux facteurs de risque de décès au moment du diagnostic d'hypercorticisme : un poids supérieur à 15 kg et un âge de plus de 13 ans. A l'inverse, une augmentation de la dose de trilostane en cours de traitement était associée à un meilleur pronostic. Néanmoins, ces résultats sont à interpréter avec précaution. En effet, l'espérance de vie d'un animal diminuant avec son âge avancé, il n'est pas surprenant qu'un âge avancé au diagnostic soit associé à une durée de survie moins importante. De plus, on sait, d'une part, que l'espérance de vie des chiens de grande taille est plus courte que celle des chiens de petite taille, et d'autre part, que les chiens de plus de 20 kg sont plus fréquemment touchés par des hypercorticismes ACTH-indépendant, eux mêmes associés à un moins bon pronostic. Enfin, un phénomène de causalité inversée a pu entrer en jeu concernant l'augmentation de la dose de trilostane en cours de thérapie. En effet, les chiens ayant survécu plus longtemps ont plus de chance d'avoir vu leur dose modifiée (Schofield *et al.*, 2020).

Dans deux études plus anciennes, l'âge et le poids au diagnostic avaient déjà été identifiés comme facteurs pronostiques, mais les mêmes limites que celles citées ci-dessus étaient présentes (Barker *et al.*, 2005 ; Clemente *et al.*, 2007).

De plus, dans une étude rétrospective datant de 2007 et portant sur 46 chiens atteints d'hypercorticisme ACTH-dépendant (parmi lesquels 19 chiens étaient traités par radiothérapie et 27 non traités par radiothérapie), il a été montré que, au sein du groupe des chiens n'ayant pas reçu de radiothérapie, les macro-adénomes (rapport P/B $< 0,40 \times 10^{-2} \text{ mm}^{-1}$) étaient associés à une durée de survie significativement plus courte que les micro-adénomes. Par ailleurs, dans ce même groupe, une augmentation de la cortisolémie pré-ACTH était associée à une durée de survie plus courte avec une valeur de $p < 0,20$. Néanmoins, les associations significatives mises en évidence dans cette étude étaient brutes et aucune inférence causale ne peut en être conclue (Kent *et al.*, 2007).

Ainsi, les seuls éléments ayant été identifiés dans la littérature comme de potentiels facteurs de risque de décès au moment du diagnostic chez les chiens atteints de la maladie de Cushing sont l'âge au diagnostic, le poids et la phosphatémie. De nouvelles études sont nécessaires pour réévaluer ces facteurs de risque potentiels et rechercher l'existence d'autres facteurs pronostiques.

Deuxième partie : étude expérimentale

I. Introduction

Comme vu précédemment, l'hypercorticisme (toutes causes confondues) a une prévalence relativement faible (0,2 à 0,28% selon les études). Bien que la maladie de Cushing représente à elle seule 80 à 85% des cas d'hypercorticisme, il s'agit, en pratique, d'un motif de consultation relativement peu rencontré en pratique généraliste courante.

Néanmoins, les démarches diagnostique et thérapeutique ainsi que le suivi nécessaire lors de maladie de Cushing sont complexes et requièrent un investissement conséquent de la part des propriétaires, tant sur le plan personnel que financier. Il paraît alors nécessaire de pouvoir fournir des données relatives au pronostic aux propriétaires soucieux de connaître l'espérance de vie de leur chien atteint de la maladie de Cushing.

Les études ayant recherché l'existence de facteurs de risques de décès chez les chiens atteints de la maladie de Cushing sont peu nombreuses. En effet, en 2015, Fracassi et ses collaborateurs montraient que l'âge au diagnostic (>10 ans) et une élévation de la phosphatémie ($\geq 1,45$ mmol/L) étaient associés à une durée de survie plus courte (Fracassi *et al.*, 2015). En 2017, Nagata et ses collaborateurs montraient que l'absence de traitement (à base de trilostane) était associée à une durée de survie plus courte (Nagata *et al.*, 2017). En 2020, Schofield et ses collaborateurs montraient que le poids au moment du diagnostic (≥ 15 kg) et l'âge au diagnostic (≥ 13 ans) étaient associés à un moins bon pronostic. A l'inverse, dans cette même étude, une augmentation de la dose de trilostane en cours de traitement était associée à un meilleur pronostic (Schofield *et al.*, 2020). L'âge et le poids avaient également été identifiés comme facteurs de risque de décès dans deux études plus anciennes (Barker *et al.*, 2005 ; Clemente *et al.*, 2007) Néanmoins, comme vu précédemment, l'ensemble de ces résultats sont discutables, et de nouvelles études sont nécessaires pour réévaluer ces facteurs de risque potentiels de décès et rechercher l'existence d'autres éléments pronostiques chez le chien atteint de maladie de Cushing.

Le but initial de notre étude est donc la recherche de facteurs de risques de décès potentiels chez des chiens atteints de la maladie de Cushing. Il s'agit d'une étude de cohorte rétrospective. Néanmoins, nous nous limiterons à la recherche d'une association statistique entre la durée de survenue du décès et différentes expositions d'intérêt qui seront décrites plus loin, sans faire de lien de causalité. Ainsi, nous utiliserons la méthode de Kaplan-Meier, avec une analyse brute (c'est-à-dire, non ajustée sur d'éventuels facteurs de confusion) des résultats.

II. Matériels et méthodes

A. Population source et population cible

Notre échantillon a été prélevé dans la population source qui est la population des chiens qui se sont présentés au CHUVA et qui ont été diagnostiqués avec la maladie de Cushing.

L'objectif de cette étude est d'étendre les résultats à la population cible qui est la population des chiens en France atteints de la maladie de Cushing.

B. Critères d'inclusion et de non-inclusion

Les chiens recrutés ont été présentés en consultation au CHUVA entre le 1^{er} janvier 2008 et le 31 décembre 2018.

L'inclusion des chiens dans l'étude reposait sur :

- L'existence d'un test biologique de caractérisation d'hypercorticisme (test de stimulation à l'ACTH ou test de freinage à la dexaméthasone) réalisé au CHUVA ou chez le vétérinaire traitant dans le mois précédant la première consultation au CHUVA ;

- L'existence d'un diagnostic étiologique établi au CHUVA et basé sur un test biologique discriminant (freinage de la cortisolémie, dosage de l'ACTH endogène ...) et/ou un examen d'imagerie médicale (échographie abdominale et/ou examen tomodensitométrie) ;

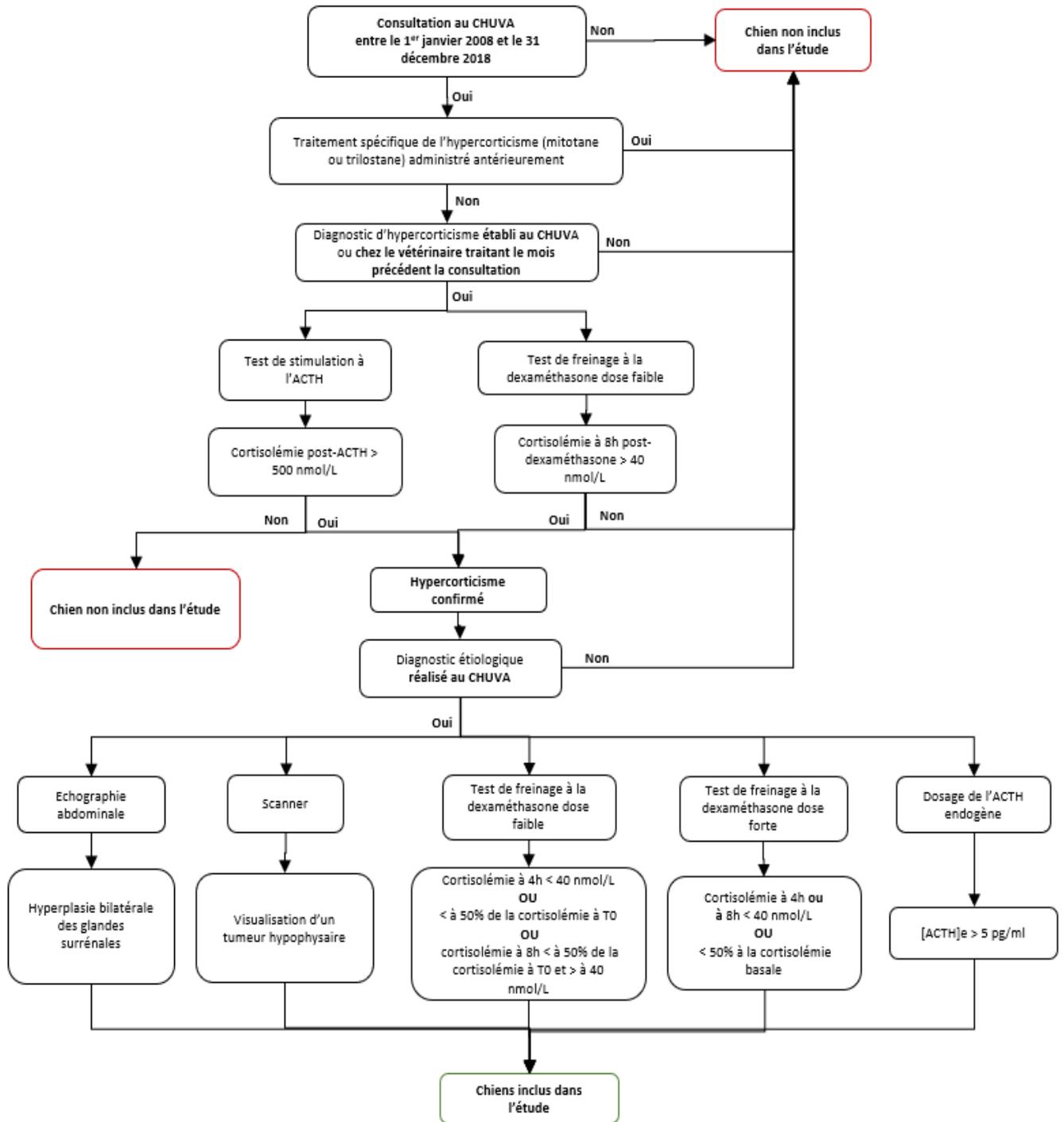
- L'absence d'administration antérieure de traitement de l'hypercorticisme (mitotane ou trilostane) au moment de la présentation au CHUVA.

Les critères de non-inclusion étaient :

- Les chiens atteints d'hypercorticisme ACTH-indépendant ou d'origine indéterminée ;
- Les chiens dont le diagnostic n'avait pas été confirmé ;
- Les chiens dont le test de confirmation avait été réalisé chez le vétérinaire traitant plus d'un mois avant la présentation en consultation au CHUVA ;
- Les chiens ayant déjà reçu un traitement spécifique de l'hypercorticisme (mitotane ou trilostane) au moment de la présentation en consultation au CHUVA.

Le logigramme présenté Figure résume la démarche d'inclusion des chiens sélectionnés pour notre étude.

Figure 15 : Logigramme décisionnel d'inclusion et de non-inclusion des chiens dans l'étude



C. Bilan des individus inclus et non-inclus dans l'étude

Sur les 184 dossiers examinés, 84 répondaient à l'ensemble des critères d'inclusion. Parmi les 100 chiens exclus, 39 chiens avaient été vus en consultation avant 2008, 4 chiens avaient été vus en consultation après 2018, 24 chiens présentaient un hypercorticisme ACTH-indépendant, 21 chiens avaient déjà reçu un traitement au moment de la présentation en consultation, et enfin 12 chiens présentaient un syndrome de Cushing dont l'origine n'avait pas été déterminée.

Dans cette étude, la date d'inclusion (J0) a été fixée au jour de la réalisation de l'examen complémentaire ayant permis d'établir le diagnostic étiologique de l'hypercorticisme. L'analyse de survie était menée sur les chiens présentés entre le 01/01/2008 et le 31/12/2018. La date de point (date à partir de laquelle nous avons choisi de ne plus suivre les chiens) était le 31/12/2020. L'évènement étudié était le décès des individus (toutes causes confondues).

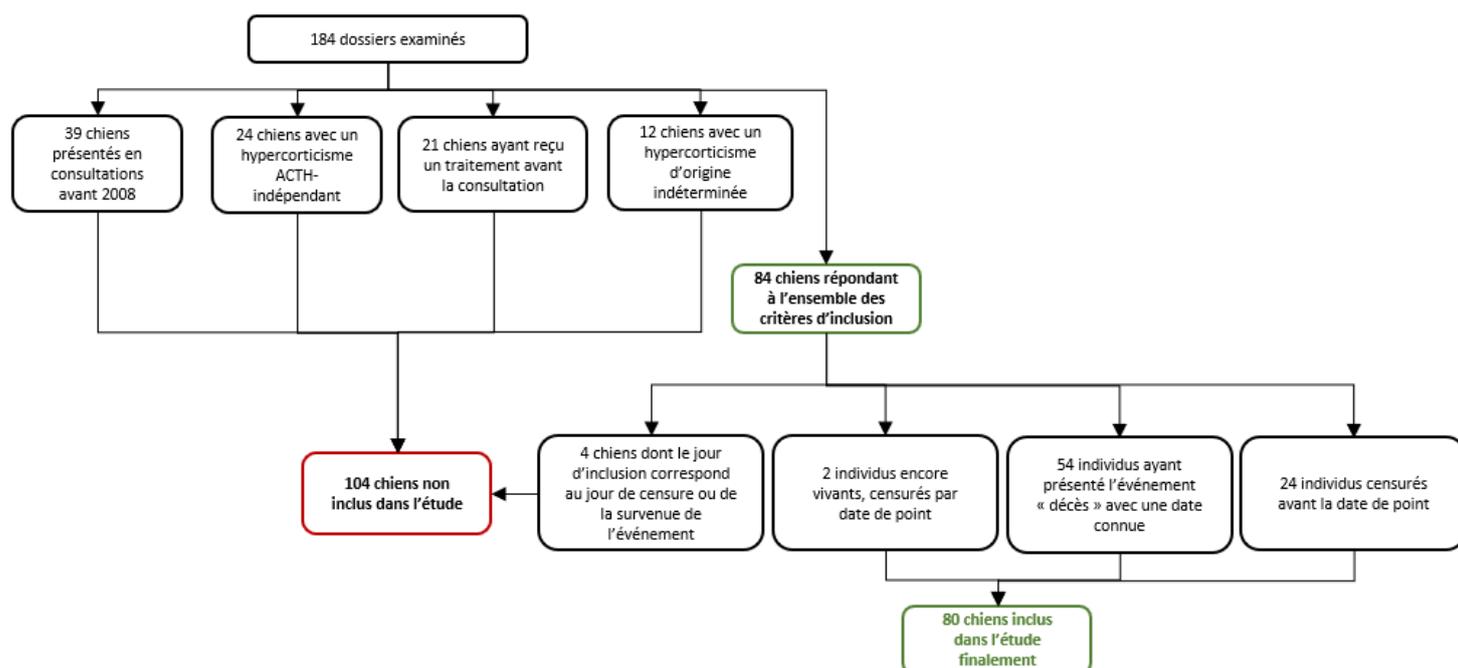
Parmi les 84 chiens inclus dans l'étude, la date de décès était mentionnée dans le dossier médical CLOVIS pour 25 d'entre eux. Les propriétaires des 59 autres animaux ont donc été contactés par appel téléphonique et/ou par courrier électronique lorsque l'adresse e-mail était renseignée. Parmi ces propriétaires, 15 n'ont jamais pu être joints ou ont refusé de partager les informations relatives au décès présumé de leur animal et 9 confirmaient le décès de leur animal mais avec une date de décès inconnue ou trop imprécise. Ces individus ont été inclus dans l'étude et censurés à la date du dernier contact rapporté (dernière consultation au CHUVA, contact téléphonique ou par courrier électronique le cas échéant). Deux individus ont été identifiés comme toujours vivants et ont été inclus dans l'étude avec une censure par date de point. Nous avons donc pu identifier 29 animaux décédés dont les propriétaires étaient capables de fournir la date de décès au mois près. Enfin, parmi l'ensemble des 84 individus répondant aux critères d'inclusions, 4 présentaient une date d'inclusion J0 égale à la date de censure ou de l'évènement. Ces 4 chiens ont été exclus de l'étude.

Finalement, parmi les 84 chiens qui répondaient initialement aux critères d'inclusion, à la date de point, le 31/12/2020 :

- 54 individus étaient décédés (avec une date de décès connue *a minima* au mois près) ;
- 2 individus étaient encore vivants, donc censurés à la date de point ;
- 24 ont été censurés avant la date de point ;
- 4 chiens ont été exclus de l'étude.

Au final, 80 individus étaient inclus dans l'étude. La Figure 16 récapitule la répartition de l'ensemble de ces individus.

Figure 16 : Logigramme récapitulatif des chiens inclus et non-inclus dans l'étude



D. Recueil des données

Toutes les données ont été recueillies à partir des dossiers cliniques renseignés dans le logiciel CLOVIS du CHUVA, après l'obtention téléphonique ou par courrier électronique de l'accord des propriétaires de l'utilisation de ces données.

1. Commémoratifs

Pour chaque cas, la race, la date de naissance et le statut stérilisé ou non de l'animal ont été recueillis. Lorsque l'information n'était pas disponible, l'animal était, par défaut, considéré comme non stérilisé.

2. Signes cliniques et paracliniques

Les signes cliniques recueillis sont ceux qui ont été observés lors de l'admission au CHUVA, que ce soit en consultation de médecine interne ou générale, ou bien au service des urgences.

Les signes cliniques étudiés étaient la PUPD, la polyphagie, la distension abdominale, la léthargie ainsi que la présence de signes cutanés. En effet, comme vu précédemment, il s'agit des signes cliniques les plus fréquemment rencontrés. Leur présence était objectivée par un scoring allant de 1 à 5 que nous nommerons « indice clinique » par la suite, chaque point signant la présence d'un signe clinique parmi les cinq sélectionnés.

La présence de maladies intercurrentes lors de la présentation de l'animal au CHUVA était également recensée. Celles-ci comprenaient les maladies endocriniennes, cardio-vasculaires, uro-néphrologiques, hépato-biliaires, gastro-intestinales, auto-immunes, respiratoires ou encore les processus tumoraux, sans distinction entre ces catégories.

3. Analyses sanguines

Bien que la majorité des analyses aient été réalisées au CHUVA, certaines données provenaient d'analyses réalisées chez le vétérinaire traitant. En effet, les résultats des analyses étaient recueillis si celles-ci avaient été réalisées dans le mois précédant la présentation en consultation au CHUVA.

3.1 Analyse biochimique

Les seules données de l'analyse biochimique utilisées étaient l'activité sérique des enzymes (PAL et ALAT) et l'albuminémie.

Trois cas de figure étaient possibles. Soit l'analyse était effectuée au laboratoire Biopôle de l'ENVA (prélèvement sur tube sec gélosé), soit elle était envoyée au laboratoire IDEXX (prélèvement sur tube sec gélosé) ou bien elle était réalisée sur l'analyseur Catalyst One du service des urgences (prélèvement sur tube avec héparinate de lithium à bille).

3.2 Ionogramme

La seule donnée de l'ionogramme analysée était la phosphorémie. En effet, bien que la calcémie ionisée devait, initialement, faire partie des expositions d'intérêt, celle-ci a été, *a posteriori*, retirée en raison d'un nombre de données disponibles chez seulement 27 chiens pour lesquels les résultats étaient plutôt homogènes et la méthode de mesure hétérogène.

De la même façon, le ionogramme pouvait être réalisé au laboratoire Biopôle de l'ENVA (prélèvement sur tube sec), sur l'automate du service des urgences (prélèvement sur tube avec héparinate de lithium à bille), ou au laboratoire IDEXX (prélèvement sur tube sec gélosé).

3.3 Tests de caractérisation

Les tests de caractérisation (test de stimulation à l'ACTH ou test de freinage à la dexaméthasone) n'étaient jamais réalisés dans un contexte d'urgence. Ils étaient systématiquement programmés à l'avance et faisaient fréquemment l'objet d'une hospitalisation journalière. L'animal était à jeun et le demeurait durant toute la durée de la procédure. Le sang était prélevé sur tube sec gélosé et analysé au laboratoire Biopôle de l'ENVA. Quelques exceptions ont fait l'objet d'un envoi au laboratoire IDEXX (prélèvement sur tube sec gélosé).

Toutes les données des tests étaient utilisées dans notre étude : cortisolémie basale, cortisolémie post-ACTH et cortisolémie post-dexaméthasone (à 4h et à 8h) le cas échéant.

4. Analyse d'urine

La donnée d'intérêt pour notre étude de l'analyse urine était la présence d'une protéinurie ou non. Celle-ci était objectivée à l'aide d'une bandelette urinaire et/ou d'une mesure du RPCU. L'animal était considéré protéinurique s'il présentait deux croix de protéines (ou plus) sur la bandelette urinaire (avec une densité urinaire < 1,020), ou si le RPCU était supérieur à 0,5.

Néanmoins, la protéinurie n'était pas prise en compte si celle-ci était associée à une bactériurie. Idéalement, l'absence de bactériurie était attestée par un ECBU (examen cytobactériologique des urines) négatif. À défaut, lorsque celui-ci n'avait pas été réalisé, nous nous contentions d'une absence de bactérie visible à l'examen cytologique des urines.

5. Examen tomodensitométrie

L'examen tomodensitométrie de la tête était réalisé chez plusieurs individus. Celui-ci avait lieu au centre MICEN Vet ou bien au service d'imagerie du CHUVA. La donnée que nous avons analysée est le rapport P/B, directement fournie dans le compte rendu d'interprétation de l'examen, avec une valeur seuil de $0,40 \times 10^{-2} \text{ mm}^{-1}$ (valeur au-delà de laquelle on parle de macroadénome) (Granger *et al.*, 2005).

6. Données relatives au suivi

La date de décès était une donnée indispensable à la réalisation de l'analyse de survie. Chez quelques individus, cette information était présente dans le dossier informatique médical sur CLOVIS. Néanmoins, la majorité des dossiers ne comprenait pas cette information.

Tous les propriétaires dont l'animal répondait aux critères d'inclusion et dont l'information sur le décès n'était pas présente dans le dossier CLOVIS ont été contactés par mail et/ou par appel téléphonique. Afin d'assurer un niveau de précision satisfaisant, il était nécessaire d'obtenir la date de décès a minima au mois près. Lorsque les propriétaires connaissaient le mois et l'année mais ne se souvenaient pas du jour exact du décès, la date de décès était arbitrairement fixée au quinze du mois. Lorsque le chien était encore en vie au moment de l'appel téléphonique (ou de la réponse par mail du propriétaire), le chien était censuré à la date du jour de l'appel téléphonique (ou de la réponse par mail). Lorsque le chien était décédé mais que le propriétaire ne connaissait ni le mois ni l'année de décès, l'animal a été exclu de l'étude.

Lorsque les propriétaires n'ont pu être contactés (absence de réponse malgré plusieurs relances, ou décès des propriétaires), le chien perdu de vue était censuré avec comme date de censure la date de la dernière venue au CHUVA recensée dans le dossier CLOVIS.

E. Analyse statistique des données

1. Recodage des variables relatives aux expositions d'intérêt pour l'analyse de survie

L'âge au diagnostic a été recodé en une variable binaire, avec comme valeur seuil la limite d'âge de 13 ans. En effet, dans les études les plus récentes (notamment celle de Schofield citée précédemment), l'âge au diagnostic, avec un seuil à 13 ans, était associé à une durée de survie plus courte. Nous pourrions ainsi comparer nos résultats à ceux publiés dans la littérature.

Le sexe, le statut de stérilisation, la présence de maladies intercurrente au moment du diagnostic, la protéinurie objectivée à la bandelette urinaire ainsi que la taille de l'hypophyse (rapport P/B) ont été codées en variables binaires : mâle *versus* femelle, stérilisé (*versus* non stérilisé), présence de la maladie intercurrente (*versus* absence), protéinurie (*versus* absence de protéinurie) et macroadénome hypophysaire (*versus* absence de macroadénome).

La variable *Race* a été codée en une variable qualitative nominale selon cinq classes : les Bouledogues Français, les Yorkshire Terriers, les Caniches, les chiens croisés et enfin la classe des « autres races », regroupant les chiens n'appartenant pas aux classes précédentes. Le regroupement « autres races » était nécessaire afin d'obtenir un nombre d'événements satisfaisant pour l'analyse de survie.

La variable *Indice clinique* a été codée en une variable qualitative nominale selon trois classes. En effet, bien que l'indice clinique était un code allant de 1 à 5 selon la présence ou non de chacun des cinq signes cliniques sélectionnés (pour rappel PUPD, polyphagie, distension abdominale, léthargie et présence de signes cutanés), ils ont ensuite été regroupés en trois classes (Tableau 1) pour assurer un nombre d'événements satisfaisant par classe.

Les variables quantitatives relatives à l'enzymologie hépatique (PAL et ALAT) ainsi qu'à la cortisolémie basale ont été recodées en variables qualitatives ordinales en trois classes, selon les tertiles de chaque distribution arrondis à des valeurs ayant cliniquement du sens.

Les variables quantitatives relatives aux valeurs de la *pression artérielle systémique*, de l'*albuminémie* et de la mesure du RPCU ont été recodées en variables binaires : hypertension artérielle systémique (*versus* absence d'hypertension artérielle systémique), hypoalbuminémie (*versus* absence d'hypoalbuminémie, en utilisant la borne inférieure de l'intervalle de référence de l'analyseur utilisé) et protéinurie (*versus* absence de protéinurie)

Les variables quantitatives relatives aux valeurs de la cortisolémie post-freinage (à t4h et à t8h) et de la cortisolémie post-ACTH ont été recodées en variables binaires selon la médiane de chaque distribution arrondie à une valeur faisant cliniquement du sens.

La variable quantitative relative à la phosphorémie a été codée en une variable binaire en prenant pour valeur seuil celle décrite dans la littérature, à savoir 1,45 mmol/L (Fracassi *et al.*, 2015). Pour rappel, dans l'étude de Fracassi et collaborateurs, une phosphorémie supérieure à 1,45 mmol/L était associée à une durée de survie plus courte.

Le Tableau 1 récapitule l'ensemble des critères de recodage des différentes variables relatives aux expositions d'intérêt étudiées.

Tableau 1 : Critères utilisés pour recoder les différentes variables relatives aux expositions d'intérêt

Variables	Type de variable	Critères
Sexe	Binaire	Mâle <i>versus</i> Femelle
Statut de stérilisation	Binaire	Stérilisé <i>versus</i> Non stérilisé
Race	Qualitative nominale en cinq classes	Bouledogue Français, Yorkshire Terrier, Caniche, Croisés et « Autres races »
Maladies intercurrentes	Binaire	≥ une maladie intercurrente <i>versus</i> Absence de maladie intercurrente
Indice clinique (/5)	Qualitative nominale en trois classes	1 – 2 signes cliniques 3 signes cliniques 4 – 5 signes cliniques
Pression artérielle systolique	Binaire	< 160 mmHg <i>versus</i> ≥ 160 mmHg
PAL	Qualitative ordinale en trois classes	< 350 UI/L 350 – 1200 UI/L ≥ 1200 UI/L
ALAT	Qualitative ordinale en trois classes	< 80 UI/L 80 – 160 UI/L > 160 UI/L
Albuminémie	Binaire	Hypoalbuminémie <i>versus</i> Absence d'hypoalbuminémie
Phosphorémie	Binaire	< 1,45 nmol/L <i>versus</i> ≥ 1,45 nmol/L
Cortisol basal	Binaire	< 170 nmol/L <i>versus</i> ≥ 170 nmol/L
Cortisolémie post-ACTH	Binaire	< 1015 nmol/L <i>versus</i> > 1015 nmol/L
Cortisolémies post-freinage à la dexaméthasone (t = 4h et t = 8h)	Binaire	A t = 4h : < 68 nmol/L <i>versus</i> ≥ 68 nmol/L A t = 8h : < 112 nmol/L <i>versus</i> ≥ 112 nmol/L
Protéinurie (bandelette urinaire)	Binaire	≥ deux croix de protéines et absence de bactériurie <i>versus</i> < deux croix ou ≥ deux croix mais présence de bactériurie
Protéinurie (RPCU)	Binaire	RPCU ≥ 0,5 et absence de bactériurie <i>versus</i> RPCU < 0,5 ou RPCU > 0,5 mais présence de bactériurie
Taille de l'hypophyse (rapport P/B)	Binaire	< 0,4 x 10 ⁻² <i>versus</i> ≥ 0,4 x 10 ⁻²

2. Association entre une exposition d'intérêt et la durée de survenue du décès

L'ensemble des données ont été analysées grâce au logiciel XLSTAT Life Sciences. La méthode employée était celle de Kaplan Meier, qui permettait le tracé de courbes de survie.

Pour rappel, la date d'inclusion (J0) a été fixée au jour de la réalisation de l'examen complémentaire ayant permis d'établir le diagnostic étiologique de l'hypercorticisme. La date de point (date à partir de laquelle nous avons choisi de ne plus suivre les chiens) était le 31/12/2020. L'évènement étudié était le décès des individus (toutes causes confondues).

Le temps de survie était le délai entre J0 et soit l'évènement, soit la censure (par perte de vue ou par date de point).

Ensuite, le logiciel fournissait les temps de survie médians des différents groupes pour chaque exposition d'intérêt. Pour rappel, le temps de survie médian d'un échantillon correspond à la durée au bout de laquelle il est estimé que 50% des individus de l'échantillon ont présentés l'évènement (le décès toute cause dans notre étude). Puis, les courbes de survie étaient comparées grâce au test du log-rank, réalisé par le logiciel XLSTAT. Le risque d'erreur de 1^{ère} espèce α était fixé à 0,05. La valeur p était alors fournie directement par le logiciel. Lorsque celle-ci était supérieure à 0,05, cela signifiait qu'il n'existait pas de différence significative entre les différentes courbes de survie tracées pour une même exposition d'intérêt. Lorsque celle-ci était inférieure à 0,05, cela signifiait qu'il existait une différence significative entre les différentes courbes tracées pour chaque exposition d'intérêt, sans toutefois pouvoir conclure sur l'origine de cette différence, n'étant pas forcément attribuée à la courbe se distinguant visuellement des autres (pour les variables en trois classes ou plus).

Notre analyse statistique était une analyse brute, c'est-à-dire non ajustée. Ainsi, aucun biais de confusion n'a pu être pris en compte, ne permettant pas l'inférence causale.

III. Résultats

A. Caractéristiques épidémiologiques de l'échantillon étudié

Le Tableau 2 résume l'ensemble des caractéristiques épidémiologiques générales des 80 chiens de notre échantillon.

Tableau 2 : Caractéristiques épidémiologiques générales de l'échantillon

Variabes	Total (n= 80)
Femelles, % (n)	36,5 (40)
Castré/stérilisé, % (n)	42,5 (45)
Age médian à J0 (en années) [IQR*] (min ; max)	11,1 [9,2 ;13,3] (5 ; 16,2)
Chiens de 13 ans ou plus, % (n)	27,5 (22)
Temps de survie médian (en jours) [IQR] (min ; max)	638 [259 ; 1245] (1 ; 2698)

*IQR : intervalle interquartile

Le Tableau 3 résume l'ensemble des races qui étaient présentes dans notre échantillon. Ce dernier se composait à 20% de chiens croisés. Les races majoritairement représentées étaient les Yorkshire Terrier (18%), les Caniches (9%), les Bouledogues français (8%), les Bichons (6%) et les Cockers (5%).

Tableau 3 : Répartition des races des 80 chiens de l'étude

Race	Pourcentage (effectif)
Croisé	20 (16)
Yorkshire Terrier	17,5 (14)
Caniche	8,8 (7)
Bouledogue Français	7,5 (6)
Bichon	6,3 (5)
Cocker	5 (4)
Teckel	3,8 (3)
American Staffordshire terrier	2,5 (2)
Boxer	2,5 (2)
Cavalier King Charles	2,5 (2)
Griffon Vendéen	2,5 (2)
Jack Russel Terrier	2,5 (2)
Lhasa Apso	2,5 (2)
Retrievers (Labrador Retriever et Golden Retriever)	2,5 (2)
Spitz	2,5 (2)
West Highland White terrier	2,5 (2)
Autres races	8,7 (7)

Le Tableau 4 résume la répartition et la famille des maladies intercurrentes rencontrées dans notre échantillon au moment du diagnostic. Au total, 30 chiens (38%) présentaient une maladie intercurrente au moment du diagnostic étiologique. Les maladies cardiovasculaires, caractérisées par un examen échocardiographique, étaient les plus fréquentes avec environ un quart des individus touchés (n = 20, 25%). Quelques chiens présentaient des maladies endocriniennes autres que le syndrome de Cushing (hypothyroïdie exclusivement) (n = 8, 10%) et uro-néphrologiques (parmi lesquelles on trouvait des cas de maladie rénale chronique (MRC), de glomérulonéphrite infectieuse et hyperplasie glandulo-kystique de la prostate) (n = 3, 4%). Enfin, deux chiens présentaient un processus néoplasique (cas de mastocytomes), et un chien présentait une affection gastro-intestinale (pancréatite chronique). Par ailleurs, 5 chiens (6%) présentaient deux maladies intercurrentes concomitamment.

Tableau 4 : Maladies intercurrentes des 80 chiens inclus dans l'étude

Maladie intercurrente	Pourcentage (effectif)
Maladies cardiovasculaires	25 (20)
Maladies endocriniennes	10 (8)
Maladies uro-néphrologiques	3,8 (3)
Processus néoplasique	2,5 (2)
Maladie gastro-intestinale	1,2 (1)

B. Recueil des données médicales dans notre échantillon

Le Tableau 5 récapitule le nombre de données qui ont pu être collectées pour chaque exposition d'intérêt.

Tableau 5 : Description des données médicales collectées pour les 80 chiens de l'étude

Variables	Pourcentage de chiens (et nombre) pour lesquels le paramètre a pu être recueilli %(n)
PAL	72,5 (58)
ALAT	66,3 (53)
Albuminémie	58,8 (47)
Phosphorémie	26,3 (21)
Pression artérielle systolique	36,3 (29)
Test de stimulation à l'ACTH	31,3 (24)
Test de freinage à la dexaméthasone	66,3 (53)
Protéinurie (bandelette urinaire)	86,3 (69)
Protéinurie (RPCU)	23,8 (19)
Présence de maladie intercurrente	100 (80)
Indice clinique	100 (80)
Taille de l'hypophyse	46,3 (37)

Le Tableau 6 récapitule les données statistiques descriptives (médiane, premier et troisième quartile) de notre échantillon relatives aux différentes variables quantitatives parmi les expositions d'intérêt étudiées.

Tableau 6 : Description de la population pour les variables quantitatives étudiées

Variabes	Médiane (IQR)
PAL (UI/L)	357,5 (318,5-1501)
ALAT (UI/L)	101 (53-66)
Albuminémie (g/L)	33 (29,5-35,5)
Phosphorémie (mmol/L)	1,5 (1,2-1,9)
Pression artérielle systolique (mmHg)	140 (120-170)
Cortisolémie basale (nmol/L)	169,3 (36,9-246,7)
Cortisolémie post-ACTH (nmol/L)	1017,1 (825,5-1388,8)
Cortisolémie post-dexaméthasone (4h) (nmol/L)	67,11 (29,5-113,3)
Cortisolémie post-dexaméthasone (8h) (nmol/L)	111,52 (69,89-184,72)
Rapport P/B ($\times 10^{-2} \text{ mm}^{-1}$)	0,32 (0,27-0,5)

Le Tableau 7, quant à lui, résume, pour chaque exposition d'intérêt, la proportion de chiens appartenant au groupe des « exposés ».

Tableau 7 : Proportion (nombre) de chiens « exposés » dans l'échantillon pour chaque exposition d'intérêt

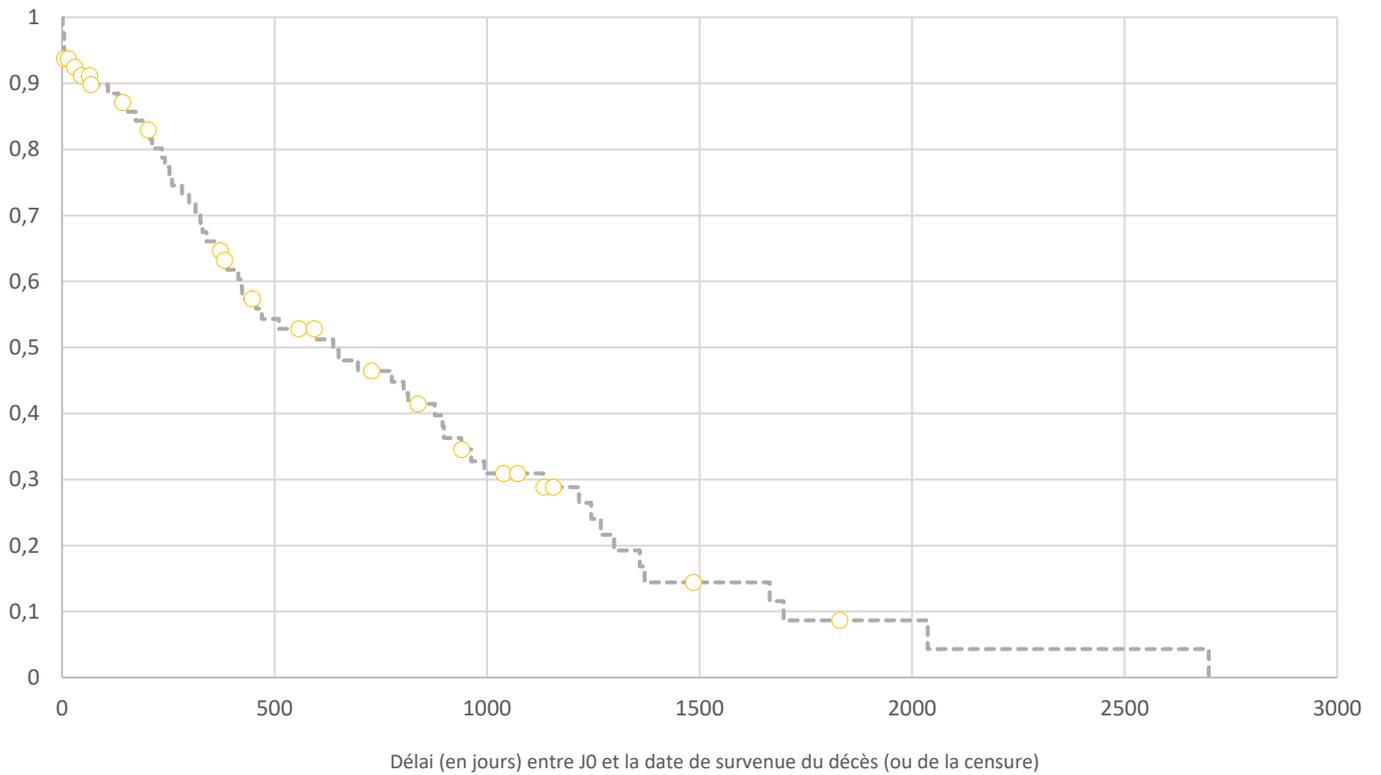
Variables	Critères	% (n)
Age	≥ 13 ans	27,5 (22)
Sexe	Femelles	48,8 (39)
Statut de stérilisation	Stérilisés	52,5 (42)
Race	Bouledogue Français	7,5 (6)
	Yorskshire Terrier	17,5 (14)
	Caniche	8,8 (7)
	Croisés	20 (16)
	« Autres races »	46,2 (37)
Maladies intercurrentes	≥ une maladie intercurrente	37,5 (30)
Indice clinique (/5)	1 – 2 signes cliniques	26,3 (21)
	3 signes cliniques	46,2 (37)
	4 – 5 signes cliniques	27,5 (22)
Pression artérielle systolique	≥ 160 mmHg	34,5 (10)
PAL	< 350 UI/L	31 (18)
	350 – 1200 UI/L	34,5 (20)
	≥ 1200 UI/L	34,5 (20)
ALAT	< 80 UI/L	34 (18)
	80 – 160 UI/L	32 (17)
	> 160 UI/L	34 (18)
Albuminémie	Hypoalbuminémie	25,5 (12)
Phosphorémie	≥ 1,45 nmol/L	52,4 (11)
Cortisol basal	≥ 170 nmol/L	49,4 (37)
Cortisolémie post-ACTH	≥ 1015 nmol/L	50 (12)
Cortisolémies post-freinage à la dexaméthadone	A t = 4h : ≥ 68 nmol/L	49,1 (26)
	A t = 8h : ≥ 112 nmol/L	49,1 (26)
Protéinurie (bandelette urinaire)	≥ 2+ protéines sans bactériurie	37,7 (26)
Protéinurie (RPCU)	RPCU ≥ 0,5 sans bactériurie	63,2 (19)
Taille de l'hypophyse (P/B)	≥ 0,4 x 10 ⁻²	37,8 (14)

C. Analyse de survie

1. Analyse de survie générale

La Figure 15 représente la courbe de survie de l'ensemble des individus inclus dans l'étude. Ainsi, dans notre échantillon, le temps de survie médian était de 638 jours (soit environ un an et neuf mois)

Figure 15 : Courbe de survie générale des 80 chiens inclus dans l'étude

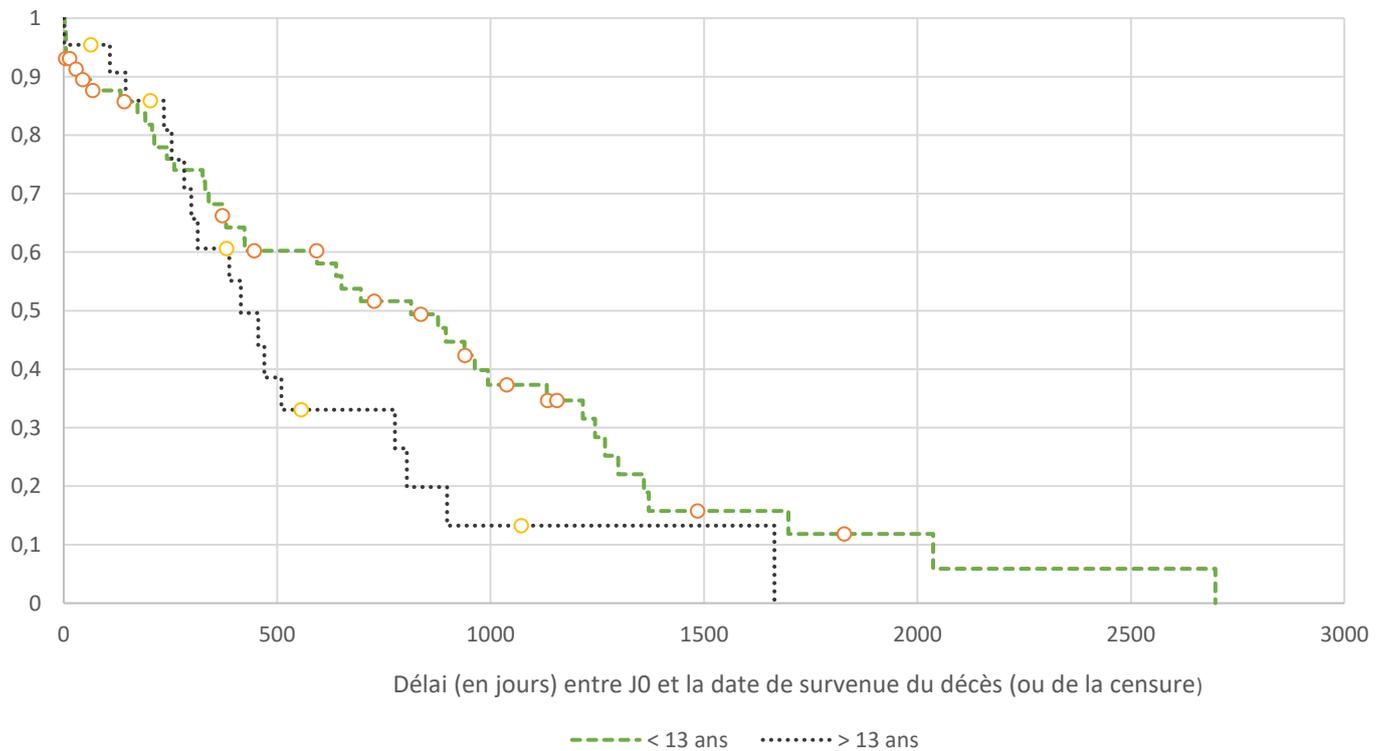


2. Analyse de survie univariée selon les données épidémiologiques

2.1 Analyse de survie univariée selon l'âge au diagnostic

La Figure 16 représente les courbes de Kaplan-Meier selon l'âge au diagnostic. Dans notre échantillon, le temps de survie médian des chiens âgés de moins de 13 ans au moment du diagnostic (814 jours) était plus important que celui des chiens âgés de plus de 13 ans (415 jours). Mais ces deux temps de survie médians n'étaient pas significativement différents ($p = 0,08$).

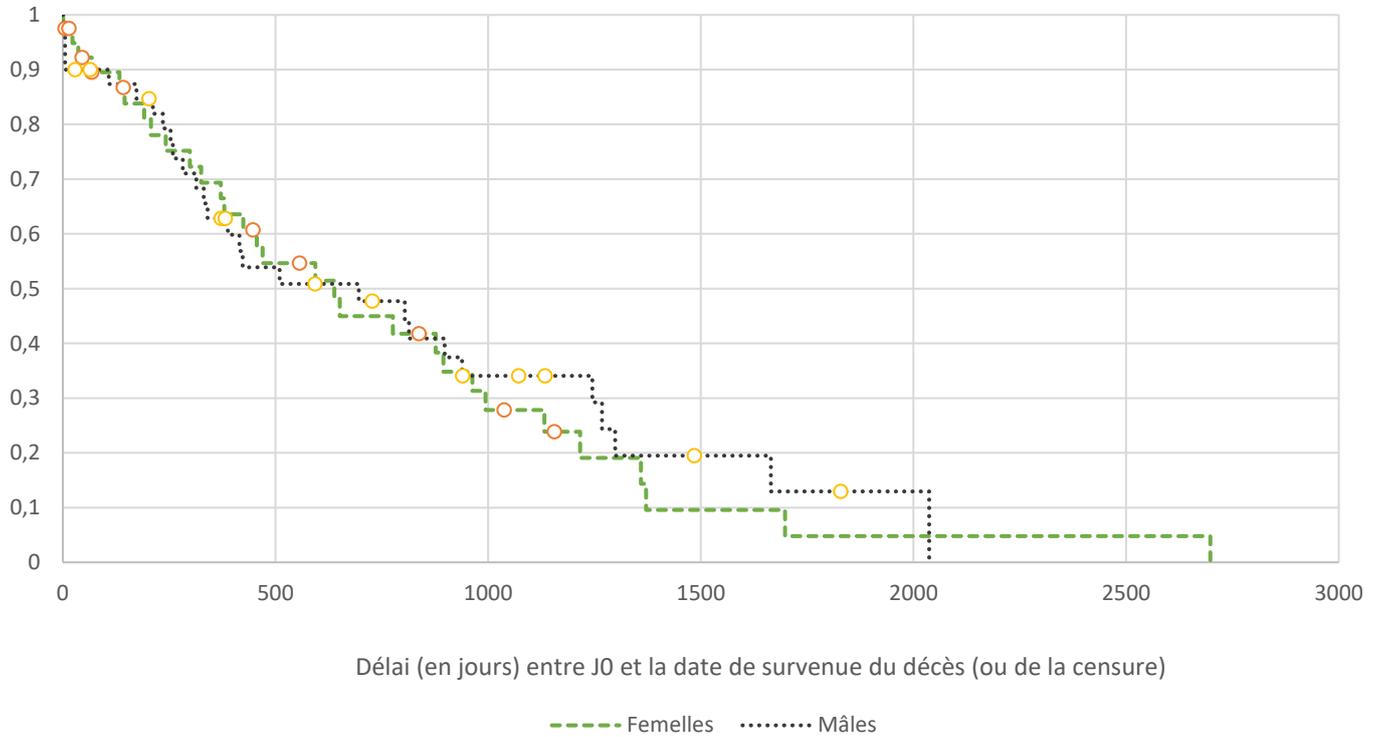
Figure 16 : Courbe de survie des chiens (n=80) selon l'âge au moment du diagnostic



2.2 Analyse de survie univariée selon le sexe

Dans notre échantillon, l'information sur le sexe était disponible pour la totalité des individus. La Figure 17 représente les courbes de Kaplan-Meier selon le sexe.

Figure 17 : Courbe de survie des chiens (n=80) selon le sexe

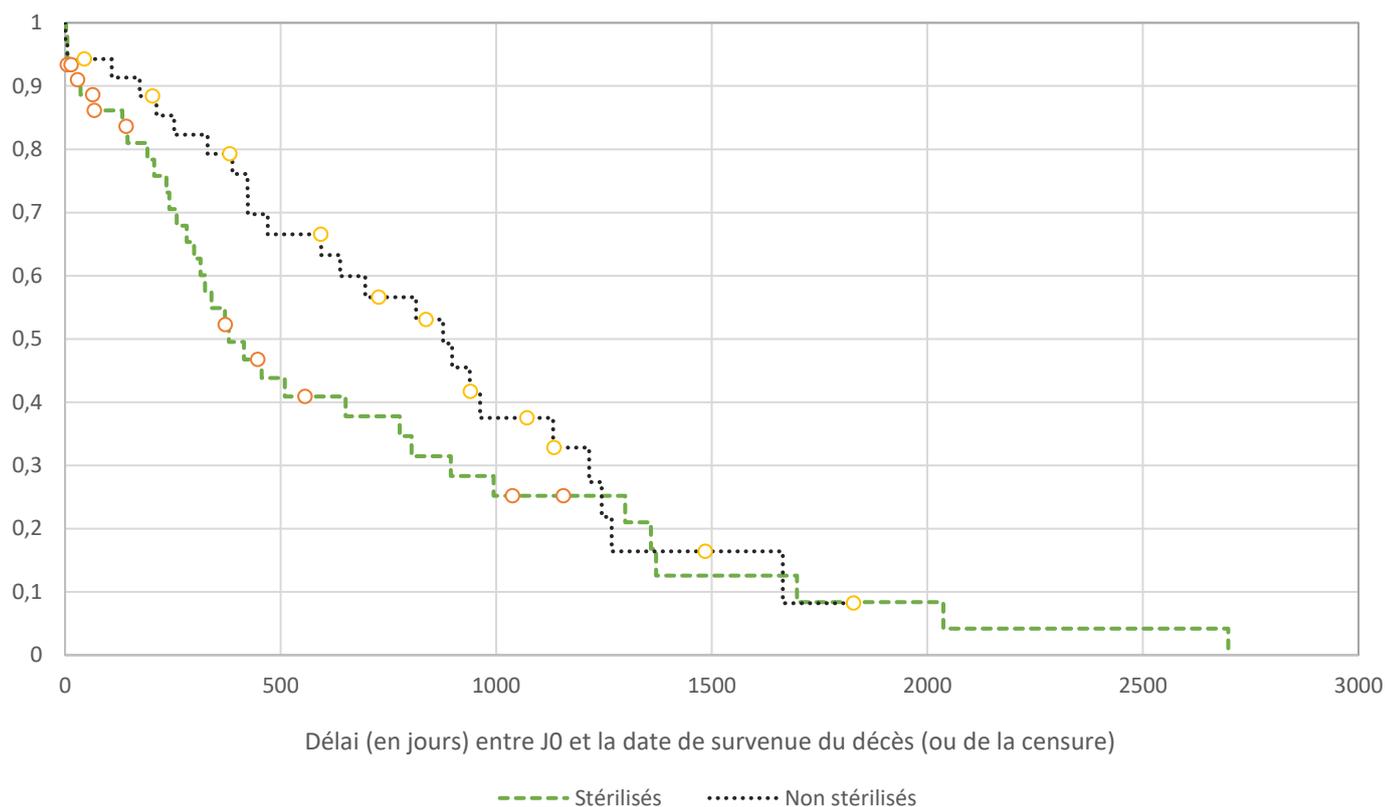


Dans notre échantillon, le temps de survie médian des chiens femelles (638 jours) était plus court que celui des chiens mâles (696 jours). Néanmoins, cette différence n'était pas significative ($p = 0,73$).

2.3 Analyse de survie univariée selon le statut stérilisé ou non

Dans notre échantillon, l'information sur le statut stérilisé ou non était disponible dans la majorité des cas. Néanmoins, les quelques individus pour lesquels l'information n'était pas explicite ont été par défaut considérés comme non stérilisés. La Figure 18 représente les courbes de Kaplan-Meier selon le statut de stérilisation.

Figure 18 : Courbe de survie des chiens (n=80) selon le statut stérilisé ou non

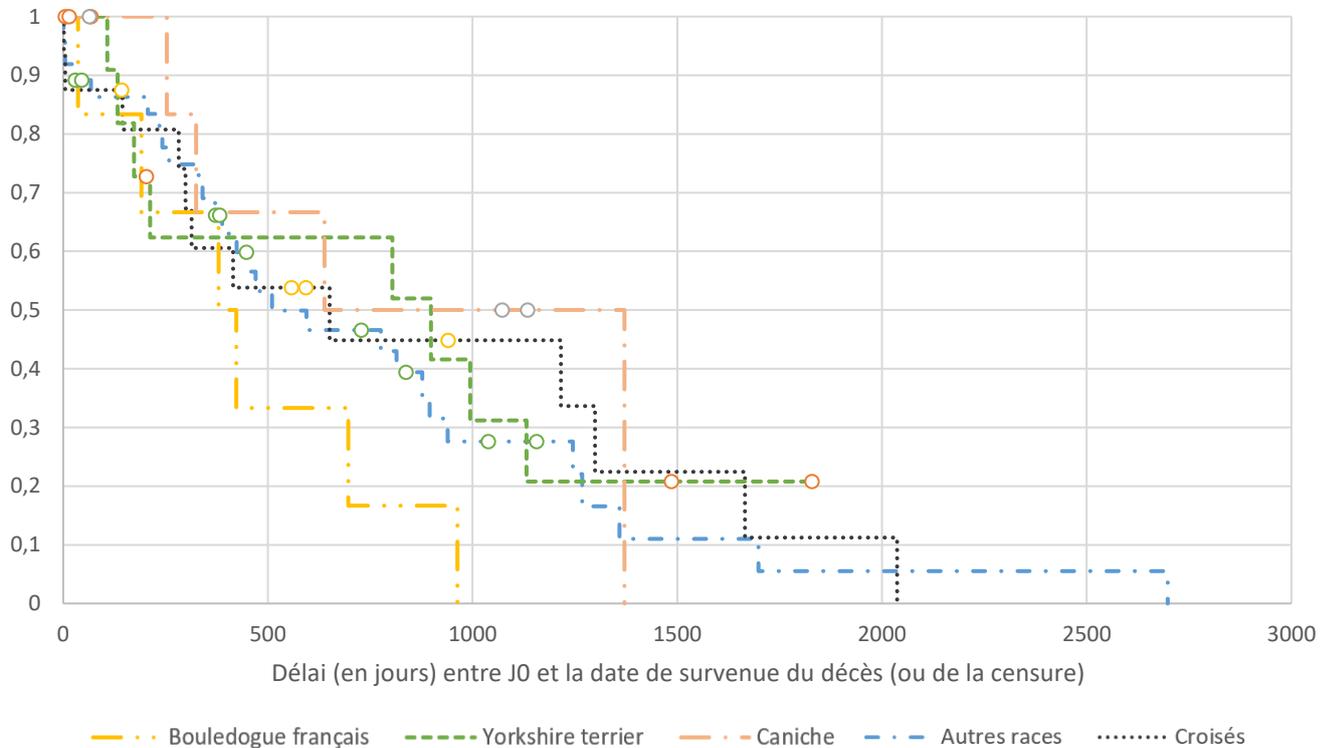


Dans notre échantillon, le temps de survie médian des chiens stérilisés au moment du diagnostic (380 jours) était plus court que celui des chiens non stérilisés (ou pour lesquels le statut n'était pas mentionné) (877 jours). Mais ces deux temps de survie médians n'étaient pas significativement différents ($p = 0,21$).

2.4 Analyse de survie selon la race

L'information sur la race était disponible chez la totalité des individus de notre échantillon. La Figure 19 représente les courbes de Kaplan-Meier selon la race de l'animal.

Figure 19 : Courbe de survie des chiens (n=80) selon la race

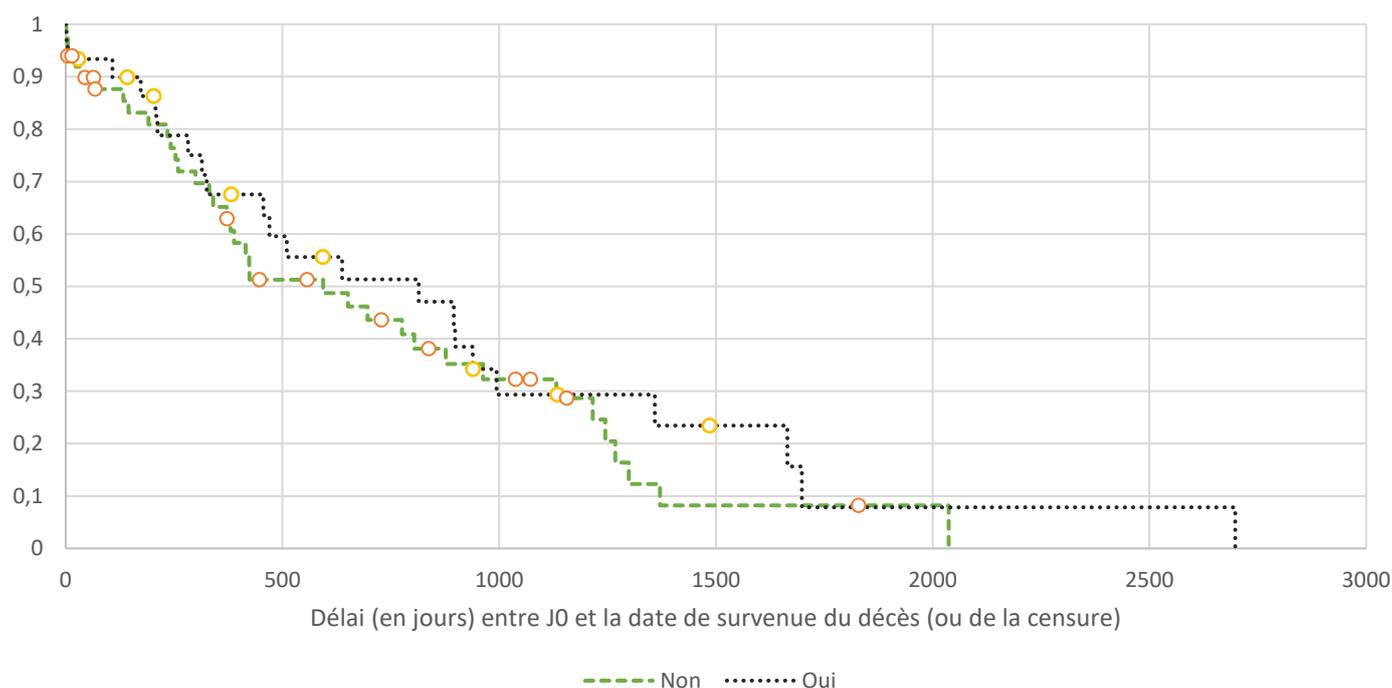


Dans notre échantillon, les temps de survie médians des Bouledogues Français, Yorkshire Terriers, Caniches, chiens croisés, et d'autres races étaient respectivement de 401,5 jours, 898 jours, 1252,5 jours, 651 jours et 510 jours. Ces temps de survie n'étaient pas significativement différents les uns des autres ($p = 0,47$).

2.5 Analyse de survie selon la présence d'une maladie intercurrente

L'information sur la présence d'une maladie intercurrente au moment du diagnostic était disponible chez la totalité des individus de notre échantillon. La Figure 20 représente les courbes de Kaplan-Meier selon la présence de maladie(s) intercurrente(s) au moment du diagnostic.

Figure 20 : Courbe de survie des chiens (n=80) selon la présence de maladie intercurrente



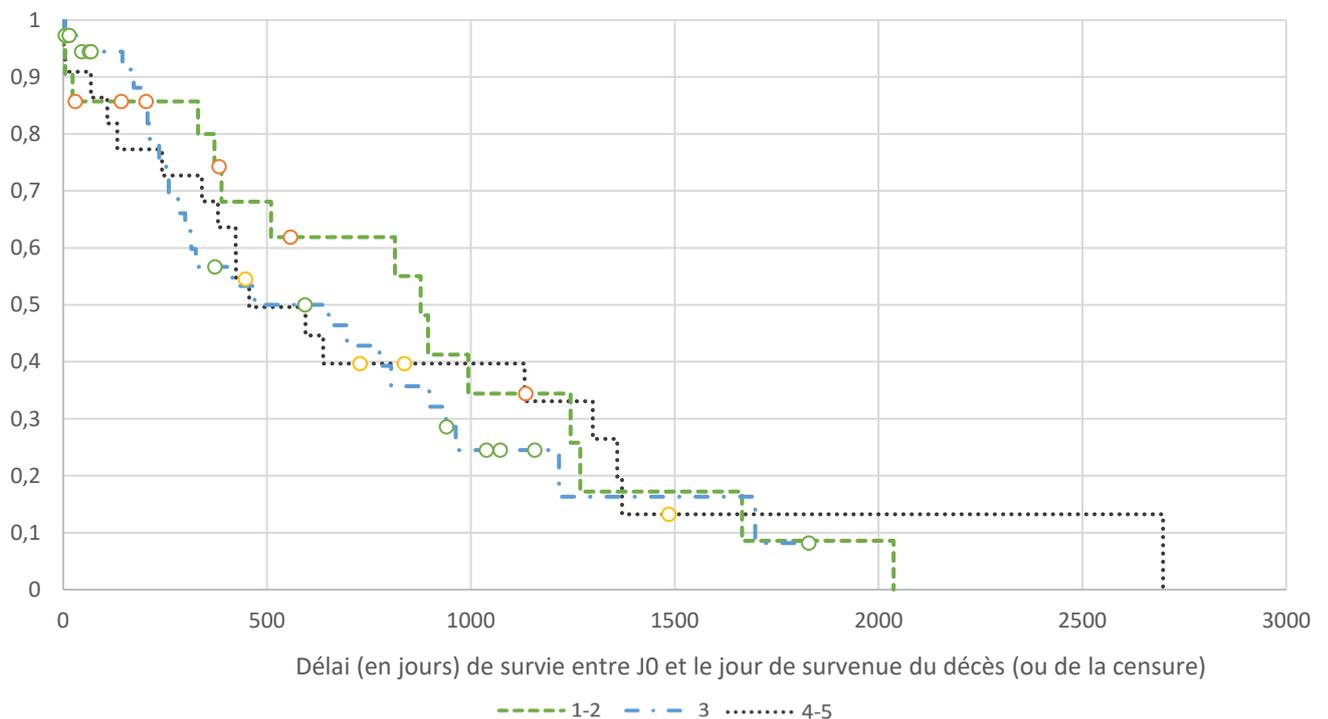
Dans notre échantillon, le temps de survie médian des chiens qui présentaient une maladie intercurrente au moment du diagnostic (814 jours) n'était pas significativement différent de celui des chiens qui ne présentaient pas de maladie intercurrente au moment du diagnostic (594 jours ; $p = 0,42$).

3. Analyse de survie univariée selon les données cliniques

3.1 Analyse de survie selon le nombre de signes cliniques présentés

L'information sur le nombre de signes cliniques au moment de la présentation en consultation était disponible chez la totalité des individus de notre échantillon. La Figure 21 représente les courbes de Kaplan-Meier selon l'indice clinique de l'animal au moment du diagnostic.

Figure 21 : Courbe de survie des chiens (n=80) selon le nombre de signes cliniques présentés

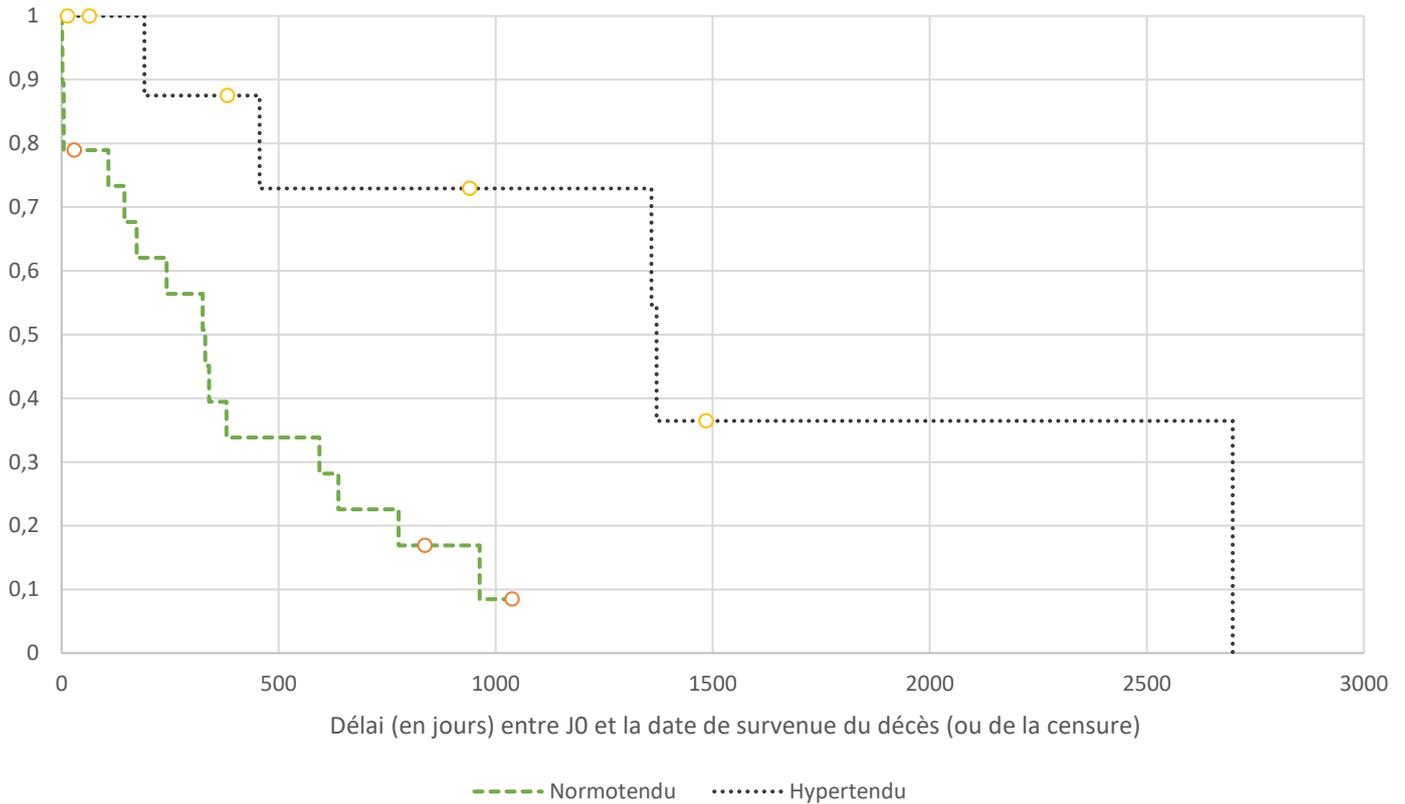


Dans notre échantillon, les temps de survie médians des chiens qui présentaient un indice clinique de 1-2/5, de 3/5 et de 4-5/5 étaient respectivement de 877 jours, 470 jours et 456 jours. Ces temps de survie n'étaient pas significativement différents les uns des autres ($p = 0,80$).

3.2 Analyse de survie selon la pression artérielle

L'information sur la pression artérielle systolique à l'admission était disponible chez 29 individus de notre échantillon. La Figure 22 représente les courbes de Kaplan-Meier selon la présence d'une hypertension artérielle systémique.

Figure 22 : Courbe de survie des chiens (n=29) selon la présence d'une hypertension artérielle systémique



Dans notre échantillon, le temps de survie médian des chiens qui présentaient une hypertension artérielle systémique (1371 jours) était significativement supérieur à celui des chiens qui ne présentaient pas d'hypertension artérielle systémique (331 jours ; $p = 0,004$). Ce résultat sera discuté plus loin.

4. Analyse de survie univariée selon les données paracliniques

4.1 Analyse de survie selon les résultats de l'analyse biochimique

4.1.1 Analyse de survie selon l'enzymologie hépatique

4.1.1.1 Analyse de survie selon l'activité enzymatique des phosphatases alcalines

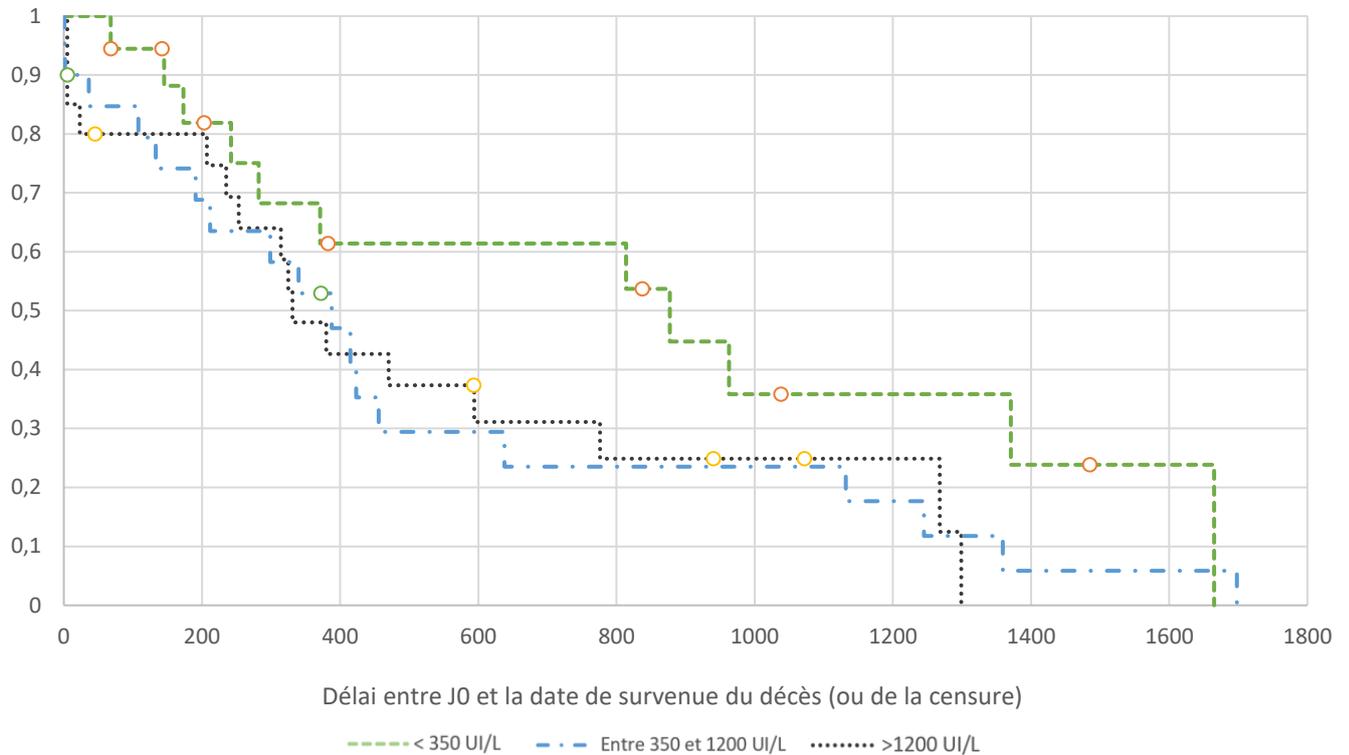
Dans notre échantillon, la valeur de l'activité enzymatique des PAL au moment du diagnostic étiologique de la maladie de Cushing était disponible chez 58 individus.

Comme vu précédemment, l'activité enzymatique des PAL est une variable quantitative, qui a dû être convertie en une variable qualitative pour l'utilisation de la méthode de Kaplan-Meier. Le but n'était pas de savoir si la simple augmentation de l'activité enzymatique des PAL était associée à une durée de survie plus courte ou non, mais de savoir si l'intensité de cette augmentation l'était. Ainsi, il semblait plus pertinent de transformer la variable en une variable qualitative ordinale en trois classes, plutôt qu'en variable binaire.

En l'absence de seuil clinique pertinent, les classes utilisées ont été définies de façon statistique. En effet, les premier et deuxième tertiles de la distribution des valeurs de l'activité enzymatique des PAL dans notre échantillon ont été calculés, respectivement à 357,68 UI/L et 1191,76 UI/L. Puis, les valeurs des tertiles ont été arrondies à des valeurs faisant sens cliniquement parlant (respectivement 350 UI/L et 1200 UI/L).

Notre variable, initialement quantitative, a alors été convertie en variable qualitative ordinale selon les trois classes suivantes : une activité enzymatique des PAL inférieure à 350 UI/L, comprise entre 350 et 1200 UI/L et supérieure à 1200 UI/L. La Figure 23 représente les courbes de Kaplan-Meier selon l'appartenance à l'une de ces trois classes.

Figure 23 : Courbe de survie des chiens (n=58) selon l'activité enzymatique des PAL



Dans notre échantillon, le temps de survie médian des chiens qui présentaient une activité enzymatique des PAL inférieure à 350 UI/L (873 jours) étaient plus de deux fois supérieur aux temps de survie médian des chiens qui présentaient une activité enzymatique des PAL comprise entre 350 et 1200 UI/L et ceux qui présentaient une activité enzymatique des PAL supérieure à 1200 UI/L (respectivement 388 et 331 jours). Néanmoins, ces temps de survie médians n'étaient pas significativement différents ($p = 0,23$).

4.1.1.2 Analyse de survie selon l'activité enzymatique des alanine aminotransférases

Dans notre échantillon, la valeur de l'activité enzymatique des ALAT au moment du diagnostic de la maladie de Cushing était disponible chez 53 individus.

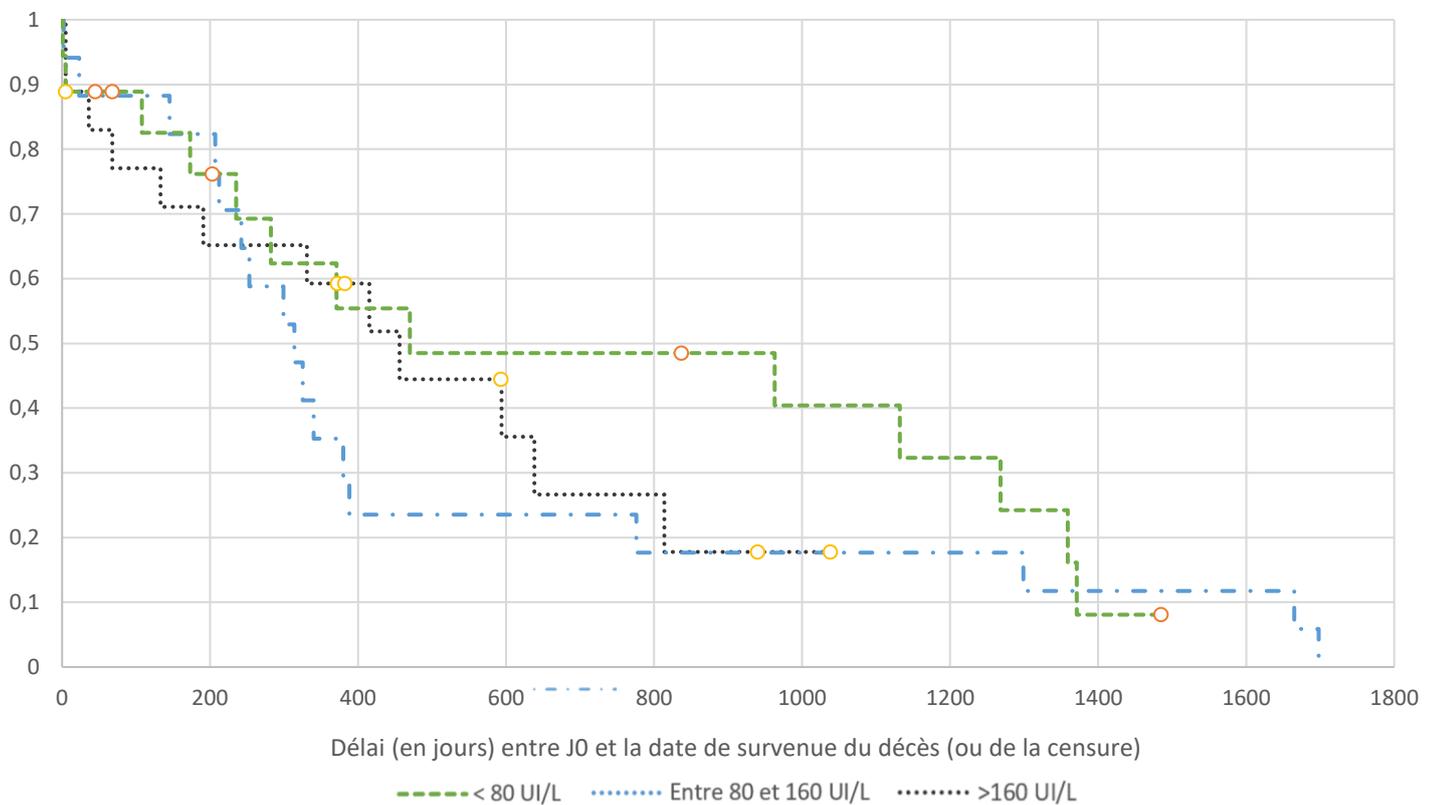
De la même façon que pour les PAL, l'activité enzymatique des ALAT est une variable quantitative, devant être convertie en variable qualitative, et pour laquelle le but n'était pas de savoir si une simple augmentation était associée à une durée de survie plus courte ou non, mais de savoir si l'intensité de cette augmentation l'était.

La variable, quantitative, a donc également été transformée en variable qualitative selon trois classes. En l'absence de seuil clinique pertinent, ces classes ont été définies de façon statistique.

En effet, le premier et le deuxième tertiles de notre distribution de valeurs d'activités des ALAT ont été calculés, respectivement à 78,48 UI/L (ce qui signifie qu'un tiers des individus avaient une activité des ALAT inférieure à 78,48 UI/L) et 158,6 UI/L (ce qui signifie qu'un tiers des individus avaient une activité des ALAT supérieure à 158,6 UI/L, le tiers restant ayant donc une activité des ALAT comprise entre les deux valeurs calculées). Puis, les valeurs des tertiles ont été arrondies à des valeurs faisant un sens cliniquement parlant (respectivement 80 UI/L et 160 UI/L).

Notre variable, initialement quantitative, a alors pu être convertie en variable qualitative selon trois classes : une activité enzymatique des à 80 UI/L, comprise entre 80 et 160 UI/L et supérieure à 160 UI/L. La Figure 24 représente les courbes de Kaplan-Meier selon l'appartenance à l'une de ces trois classes.

Figure 24 : Courbe de survie des chiens (n=53) selon l'activité enzymatique des ALAT



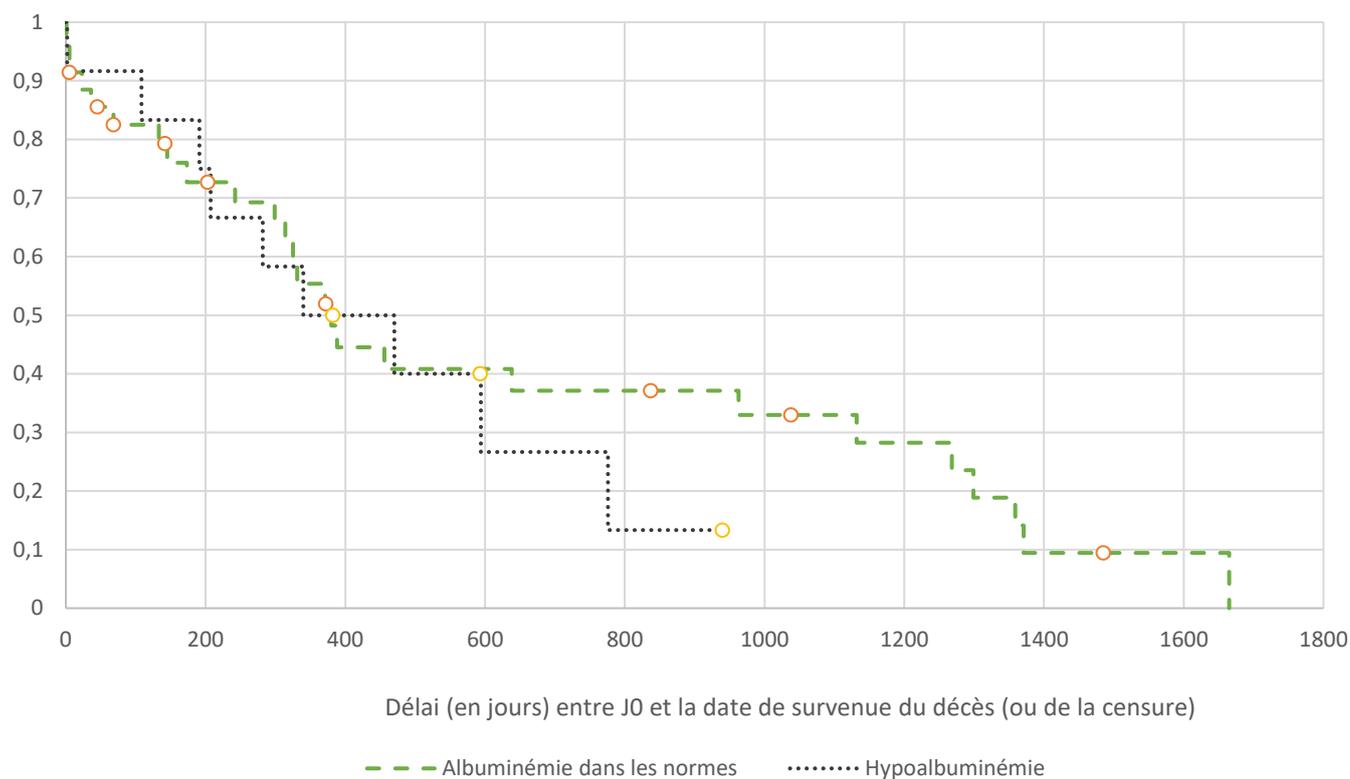
Dans notre échantillon, les temps survie médians des chiens qui présentaient une activité enzymatique des ALAT inférieure à 80 UI/L, comprise entre 80 et 160 UI/L et supérieure à 160 UI/L étaient respectivement de 470, 314 et 456 jours. Ces temps de survie médians n'étaient pas significativement différents ($p = 0,68$).

4.1.2. Albuminémie

Dans notre échantillon, la valeur de l'albuminémie au moment du diagnostic était disponible chez 47 individus.

Comme vu précédemment, l'albuminémie est une variable quantitative qui a été transformée en variable binaire (hypoalbuminémie *versus* absence d'hypoalbuminémie), la valeur seuil employée correspondant à la borne inférieure de l'intervalle de référence de l'analyseur utilisé. La Figure 25 représente les courbes de Kaplan-Meier selon la présence ou non d'une hypoalbuminémie au moment du diagnostic.

Figure 25 : Courbe de survie des chiens (n=47) selon l'albuminémie



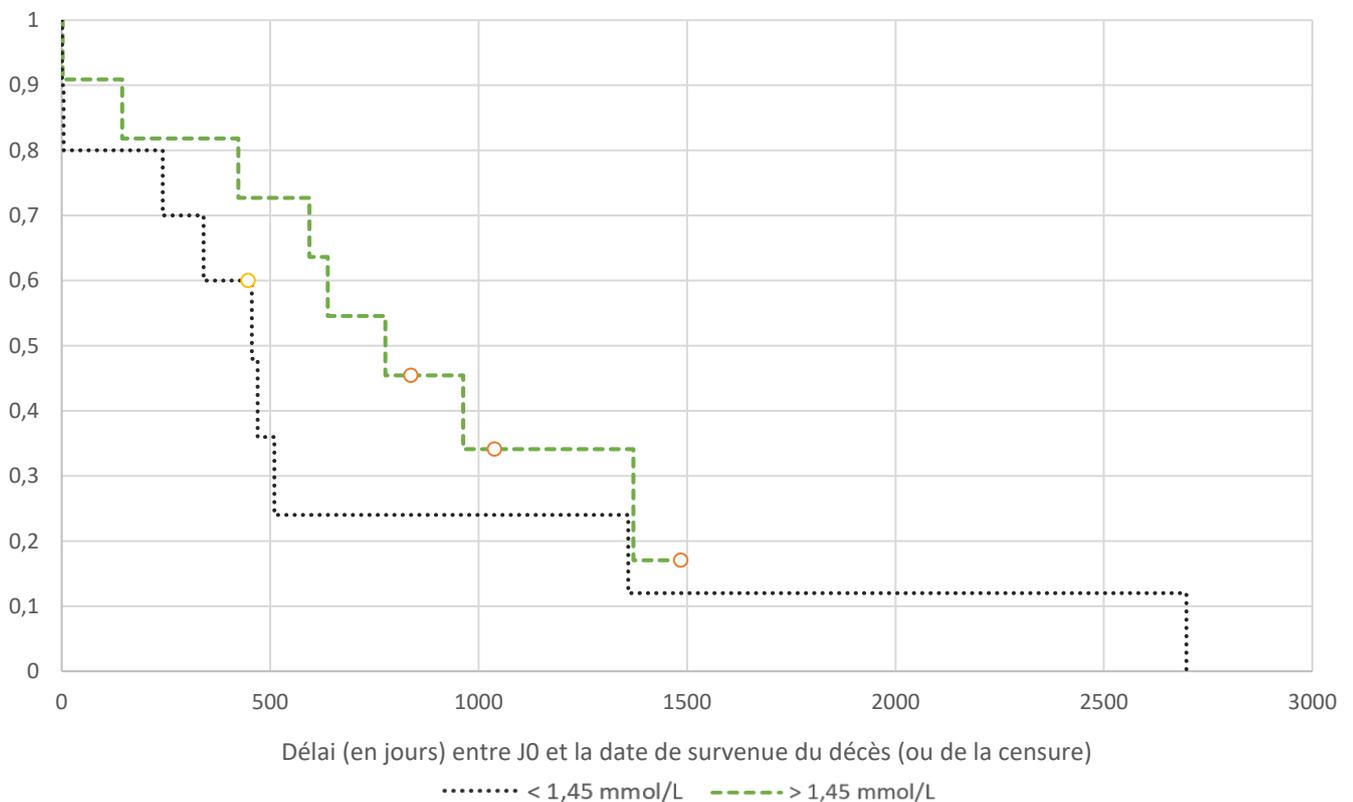
Dans notre échantillon, le temps de survie médian des chiens qui présentaient une hypoalbuminémie (426 jours) n'était pas significativement différent de celui des chiens qui ne présentaient pas d'hypoalbuminémie (380 jours ; $p=0,54$).

4.2 Analyse de survie selon la phosphorémie

Dans notre échantillon, la valeur de la phosphorémie au moment du diagnostic était disponible chez 21 individus.

Pour rappel, la variable quantitative a été codée en une variable binaire en prenant pour valeur seuil celle décrite dans la littérature, à savoir 1,45 mmol/L (Fracassi *et al.*, 2015). Pour rappel, dans l'étude de Fracassi et collaborateurs, une phosphorémie plasmatique supérieure à 1,45 mmol/L était associée à une durée de survie plus courte. La Figure 26 représente les courbes de Kaplan-Meier selon la valeur de la phosphorémie.

Figure 26 : Courbe de survie des chiens (n=21) selon la phosphorémie



Dans notre échantillon, le temps de survie médian des chiens qui présentaient une phosphorémie supérieure à 1,45 mmol/L (776 jours) n'était pas significativement différent de celui des chiens qui présentaient une phosphorémie inférieure à 1,45 mmol/L (456 jours ; $p = 0,29$).

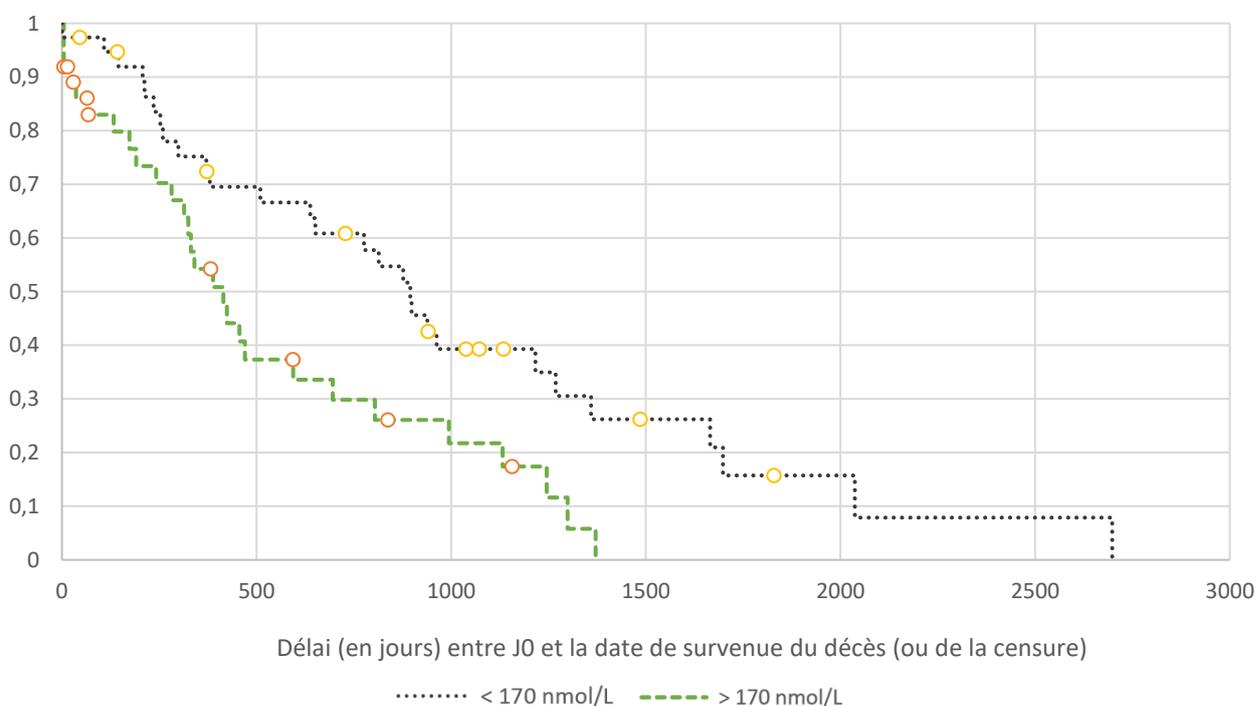
4.3 Analyse de survie selon les données des tests de confirmation

4.3.1 Analyse de survie selon la cortisolémie basale

Dans notre échantillon, tous les chiens (soit 80 individus) ont fait l'objet d'un test de confirmation de l'hypercorticisme (test de stimulation à l'ACTH ou test de freinage à la dexaméthasone), condition *sine qua non* à l'établissement du diagnostic de la maladie de Cushing. Néanmoins, du fait de dossiers Clovis parfois incomplets, la valeur du cortisol basal n'était pas disponible chez cinq individus. Ainsi, pour cette variable, 75 valeurs ont pu être récoltées.

La cortisolémie est une variable quantitative. Pour la réalisation de l'analyse de survie (Figure 27), elle a été convertie en une variable qualitative binaire, avec comme valeur seuil la médiane des cortisolémies basales de notre distribution (169,3 nmol/L), arrondie à un seuil faisant cliniquement du sens, à savoir 170 nmol/L.

Figure 27 : Courbe de survie des chiens (n= 75) selon la cortisolémie basale



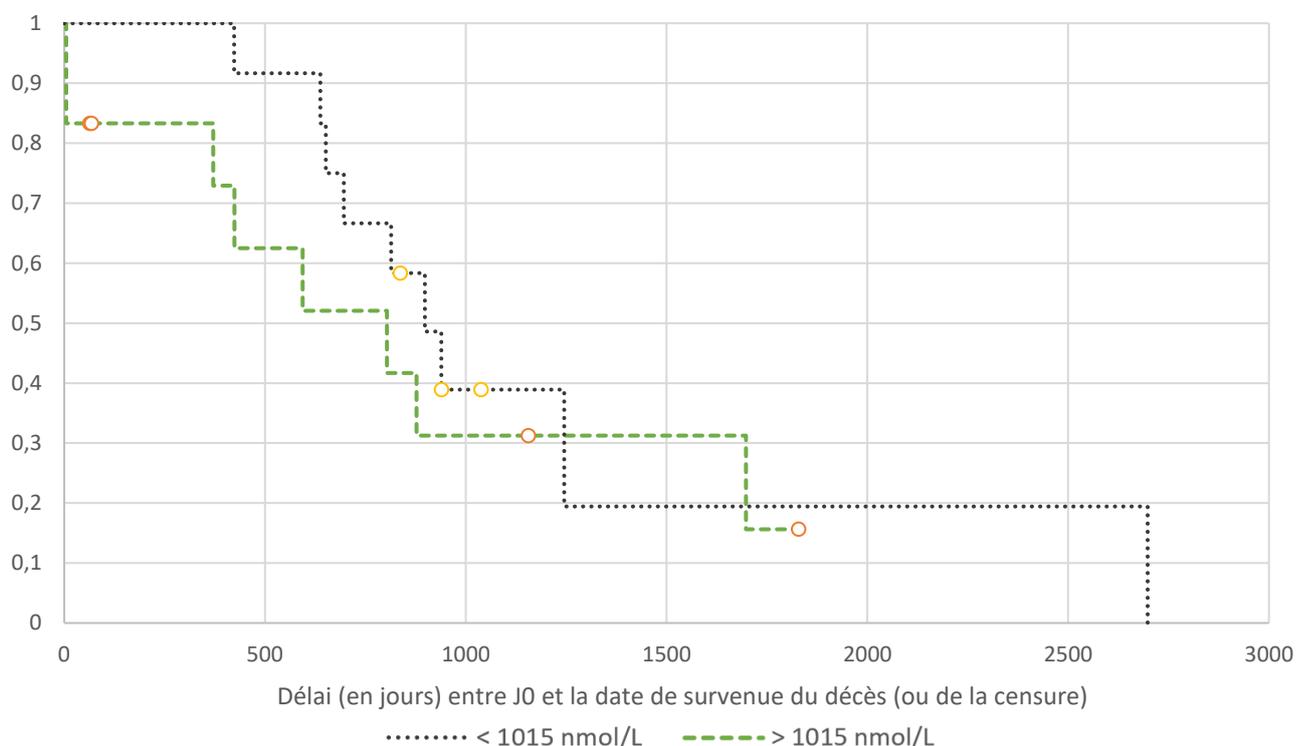
Dans notre échantillon, le temps de survie médian des chiens qui présentaient une cortisolémie basale inférieure à 170 nmol/L (895 jours) était plus de deux fois plus long que le temps de survie médian des chiens qui présentaient une cortisolémie basale supérieure à 170 nmol/L (415 jours). La différence entre ces temps de survie médian était statistiquement significative ($p=0,007$).

4.3.2 Analyse de survie selon les données du test de stimulation à l'ACTH

Dans notre échantillon, 24 individus ont fait l'objet d'un test de stimulation à l'ACTH afin de mettre en évidence la présence d'un hypercorticisme.

Comme précédemment, la cortisolémie post-ACTH a été convertie en une variable qualitative binaire pour l'analyse de survie (Figure 28), en prenant la médiane de cortisolémie post-ACTH de notre distribution (à savoir 1017,14 nmol/L) arrondie à une valeur seuil faisant un sens cliniquement parlant (soit 1015 nmol/L).

Figure 28 : Courbe de survie des chiens (n=24) selon la cortisolémie post-ACTH



Dans notre échantillon, le temps de survie médian des chiens qui présentaient une cortisolémie post-ACTH inférieure à 1015 nmol/L (898 jours) et celui des chiens qui présentaient une cortisolémie post-ACTH supérieure à 1015 nmol/L (804 jours) étaient n'étaient pas significativement différents ($p=0,44$).

4.3.3 Analyse de survie selon les données du test de freinage à la dexaméthasone à dose faible

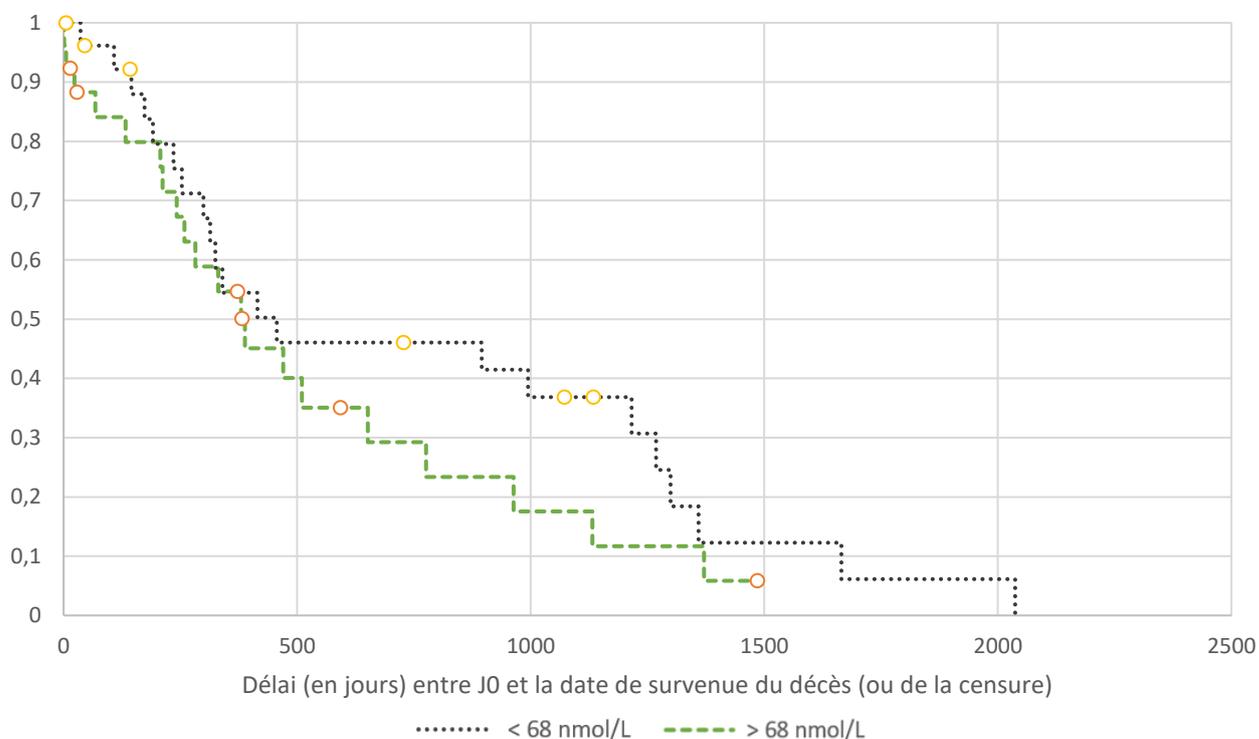
Dans notre échantillon, 53 chiens ont fait l'objet d'un test de freinage à la dexaméthasone dose faible afin de mettre en évidence la présence d'un hypercorticisme.

Comme précédemment, les cortisolémies à $t = 4h$ et $t = 8h$ ont été converties en variables binaires, en prenant respectivement les médianes des cortisolémies de notre distribution (respectivement 67,11 nmol/L et 111,52 nmol/L), arrondies à des valeurs seuils faisant un sens cliniquement parlant (respectivement 68 nmol/L et 112 nmol/L).

4.3.3.1 Cortisolémie à t = 4h post-freinage

La Figure 29 représente les courbes de Kaplan-Meier selon la cortisolémie post-freinage à 4h.

Figure 29 : Courbe de survie des chiens (n=53) selon la cortisolémie à t = 4h post-freinage

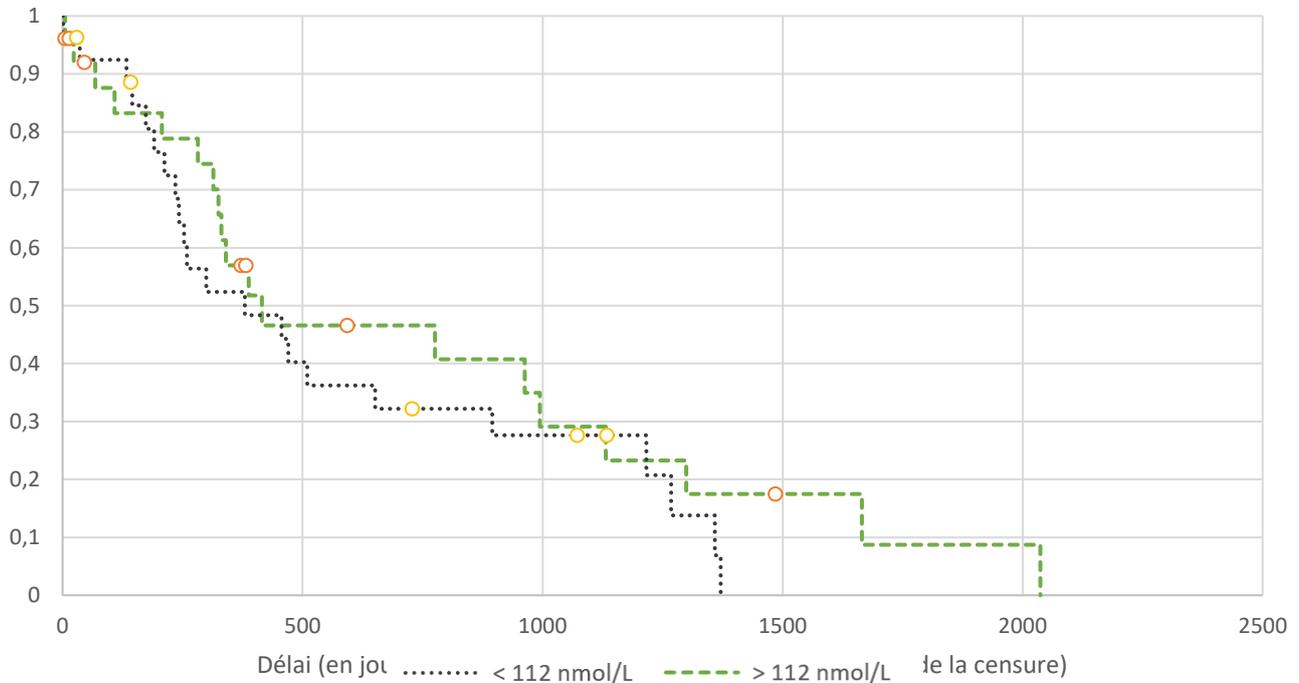


Dans notre échantillon, le temps de survie médian des chiens qui présentaient une cortisolémie à t = 4h post-freinage inférieure à 68 nmol/L (456 jours) était plus important que celui des chiens qui présentaient une cortisolémie à t = 4h post-freinage supérieure à 68 nmol/L (388 jours). Néanmoins, ces temps de survie médians n'étaient pas significativement différents ($p = 0,28$).

4.3.3.2 Cortisolémie à t = 8h post-freinage

La Figure 30 représente les courbes de Kaplan-Meier selon la cortisolémie post-freinage à 8h.

Figure 30 : Courbe de survie des chiens (n=53) selon la cortisolémie à t = 8h post-freinage



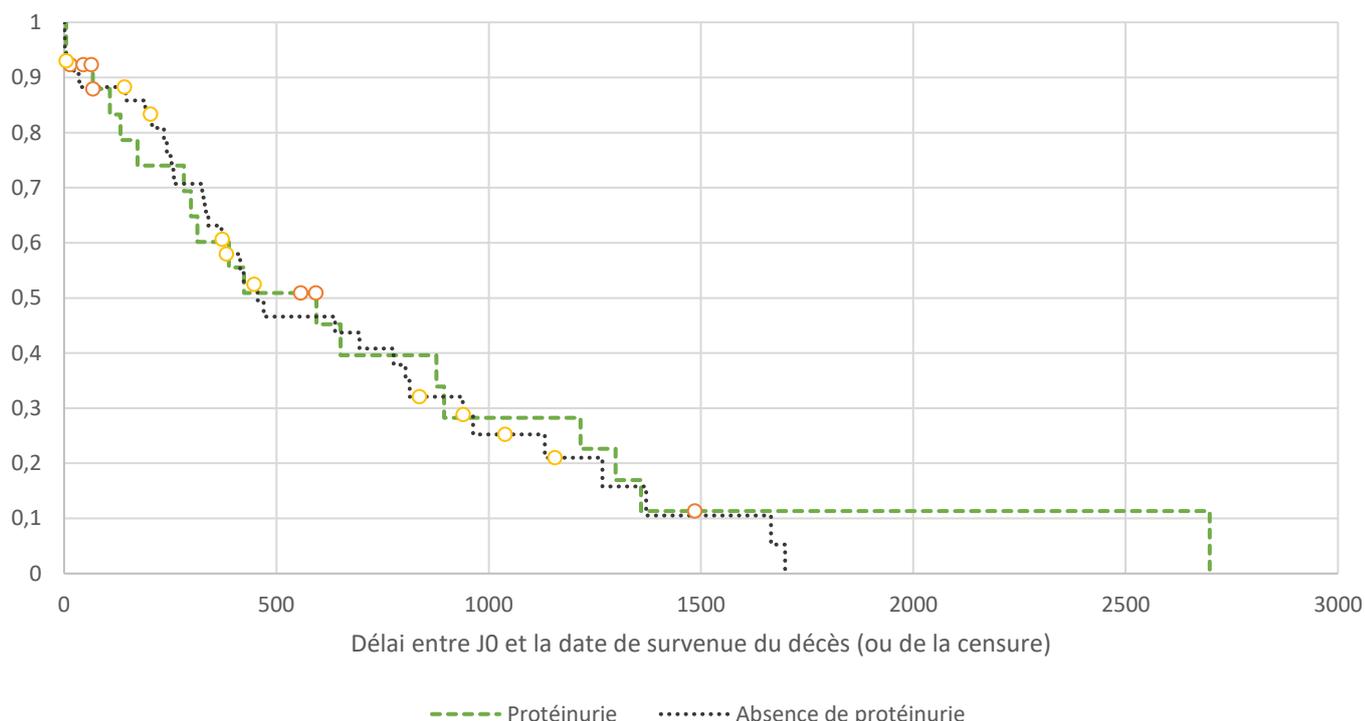
Dans notre échantillon, le temps de survie médian des chiens qui présentaient une cortisolémie à t = 8h post-freinage inférieure à 112 nmol/L (380 jours) était plus court que celui des chiens qui présentaient une cortisolémie à t = 8h post-freinage supérieure à 112 nmol/L (415 jours). Néanmoins, ces temps de survie médians n'étaient pas significativement différents ($p = 0,34$).

4.4 Analyse de survie selon les données de l'analyse urinaire

4.4.1 Analyse de survie selon la protéinurie objectivée par bandelette urinaire

Dans notre échantillon, les informations relatives à la bandelette urinaire étaient disponibles chez 69 individus. La Figure 31 représente les courbes de Kaplan-Meier selon la présence d'une protéinurie à la bandelette urinaire.

Figure 31 : Courbe de survie des chiens (n=69) présentant une protéinurie (sans bactériurie) ou non, objectivée à la bandelette urinaire

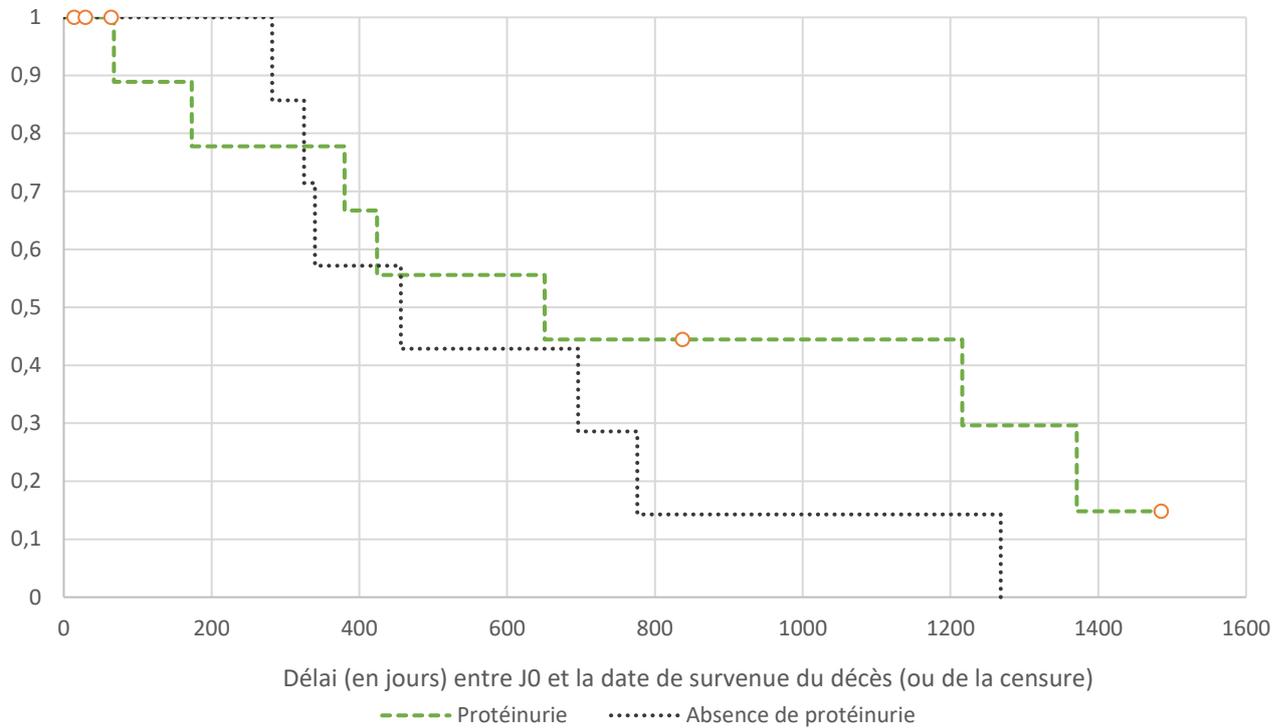


Dans notre échantillon, le temps de survie médian des chiens qui présentaient une protéinurie sans bactériurie à la bandelette urinaire (594 jours) n'était pas significativement différent de celui des chiens qui ne présentaient pas de protéinurie (456 jours ; $p = 0,75$).

4.4.2 Analyse de survie selon la protéinurie objectivée par la mesure du RPCU

Dans notre échantillon, la valeur du RPCU était disponible chez 19 chiens. Comme vu précédemment, les individus étaient considérés protéinuriques s'ils présentaient un RPCU supérieur ou égal à 0,5 en l'absence de bactériurie (attestée par un ECBU négatif ou, à défaut, par l'absence de bactérie visualisable à l'examen du culot urinaire). La Figure 32 représente les courbes de Kaplan-Meier selon la présence d'une protéinurie objectivée par la mesure du RPCU.

Figure 32 : Courbe de survie des chiens (n=19) selon la valeur du rapport cortisol/créatinine urinaire



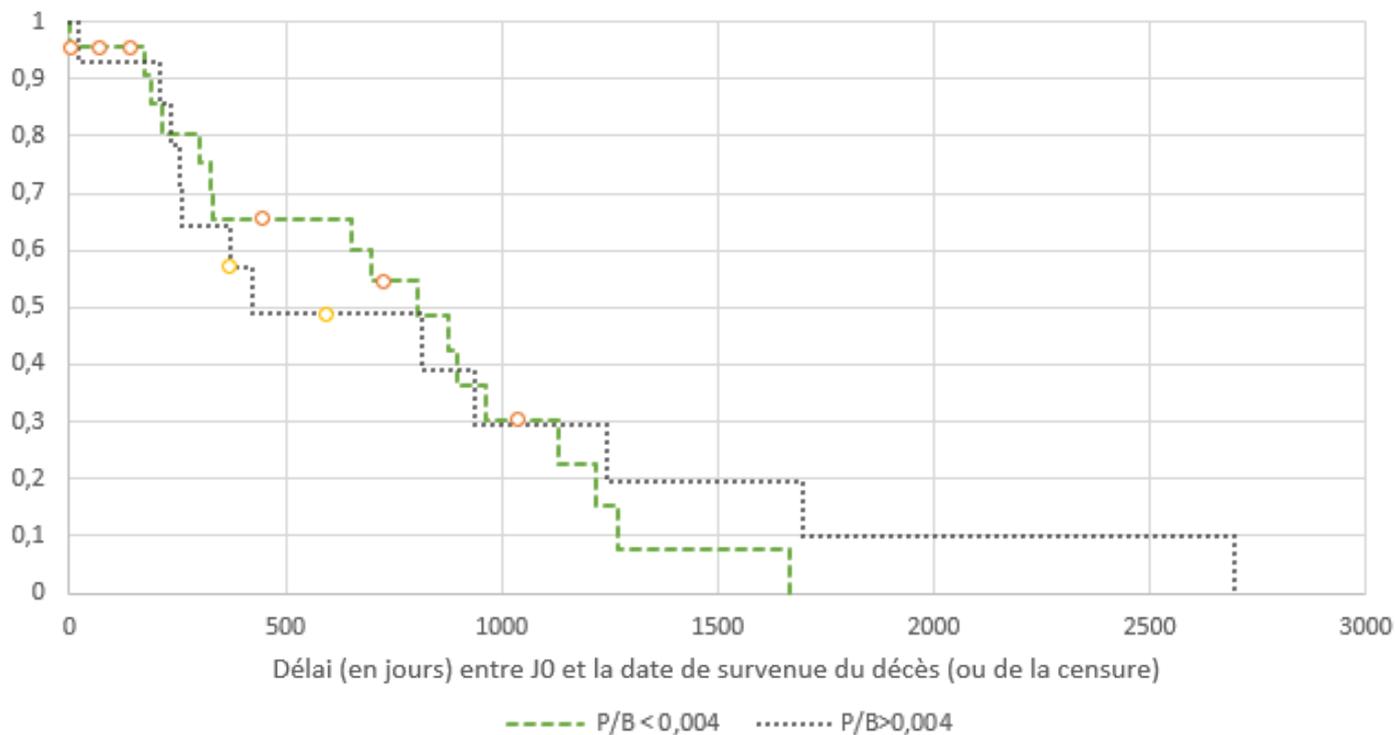
Dans notre échantillon, le temps de survie médian des chiens qui présentaient un RPCU supérieur ou égal à 0,5 en l'absence de bactériurie (651 jours) n'était pas significativement différent de celui des chiens qui présentaient un RPCU inférieur à 0,5 (ou compris entre 0,5 et 2 mais avec présence d'une bactériurie) (456 jours ; $p = 0,75$).

5. Analyse de survie selon les données de l'examen tomодensitométrique

Dans notre échantillon, 37 individus ont fait l'objet d'un examen tomодensitométrique de la tête.

Comme précédemment, la variable étudiée était le rapport P/B, à savoir le rapport entre la hauteur de l'hypophyse et la hauteur de l'encéphale. Cette donnée était fournie dans le compte rendu de l'examen. La variable, quantitative, a été convertie en une variable binaire, en prenant $0,4 \times 10^{-2} \text{ mm}^{-1}$ comme valeur seuil. En effet, comme vu précédemment, il s'agit de la valeur en-dessous de laquelle on parle de microadénome et au-dessus de laquelle on parle de macroadénome (Granger *et al.*, 2005). La Figure 33 représente les courbes de Kaplan-Meier selon la valeur du rapport P/B.

Figure 33 : Courbe de survie des chiens (n=37) selon la mesure du rapport P/B



Dans notre échantillon, le temps de survie médian des chiens qui présentaient un rapport P/B inférieur à $0,4 \times 10^{-2} \text{ mm}^{-1}$ (765 jours) était plus court que celui des chiens qui présentaient un rapport P/B supérieur à $0,4 \times 10^{-2} \text{ mm}^{-1}$ (855 jours). Néanmoins, ces deux temps de survie médians n'étaient pas significativement différents ($p = 0,68$).

IV. Discussion

L'objectif initial de notre étude était la recherche de facteurs de risques de décès potentiels chez les chiens de France atteints de la maladie de Cushing, c'est-à-dire de rechercher une association statistique entre la durée de survenue du décès et les différentes expositions d'intérêt présentées, comprenant des données épidémiologiques, cliniques et paracliniques, sans toutefois établir de lien de causalité. En effet, à ce jour, peu d'études se sont intéressées à la recherche de facteurs pronostiques chez les chiens atteints d'hypercorticisme, toutes origines confondues.

Pour rappel, notre étude était une étude de cohorte rétrospective, portant sur un effectif global de 80 chiens atteints de la maladie de Cushing et pris en charge au Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire d'Alfort qui constituaient notre échantillon. Notre population cible étaient les chiens atteints de la maladie de Cushing en France.

A. Discussion sur les résultats relatifs aux différentes expositions d'intérêt

1. Discussion sur les données épidémiologiques

1.1 Discussion sur l'âge au diagnostic

Dans notre échantillon, l'âge médian au moment du diagnostic de la maladie de Cushing était de 11,1 ans, avec un IC à 95% de [9,2 ; 13,3] ans. Néanmoins, comme vu précédemment, 89% des chiens atteints de la maladie de Cushing sont âgés de plus de 6 ans, et 75% d'entre eux sont âgés de plus de 9 ans (Feldman *et al.*, 2015). L'âge au diagnostic mis en évidence dans notre échantillon est donc très tardif et suggère peut-être un retard dans l'établissement du diagnostic. Ce retard dans l'établissement du diagnostic peut être lié à une reconnaissance tardive des signes cliniques par les propriétaires à identifier les signes cliniques évocateurs d'un hypercorticisme. Ainsi, il semble important d'améliorer la sensibilisation des propriétaires à la maladie de Cushing, notamment lorsque leur chien appartient à une race potentiellement à risque, en les éduquant sur les principaux signes d'appels (notamment polyuro-polydypsie, polyphagie, distension abdominale, léthargie et présence de signes cutanés).

L'âge au diagnostic est l'un des seuls éléments à avoir été identifié comme facteur pronostique de l'hypercorticisme dans les études précédentes. En effet, dans la plus récente étude portant sur les facteurs de risque de décès chez les chiens atteints d'hypercorticisme, un âge supérieur à 13 ans au moment du diagnostic était associé à une durée de survie plus courte (Schofield *et al.*, 2020). De la même façon, dans leur étude, Fracassi *et al.* montraient qu'un âge au diagnostic supérieur à 10 ans était un facteur pronostic négatif (Fracassi *et al.*, 2015) Ce résultat était en accord avec les données des études plus anciennes (Barker *et al.*, 2005 ; Clemente *et al.*, 2007). Néanmoins, ce résultat n'est guère surprenant dans la mesure où l'espérance de vie d'un individu diminue avec l'avancée de son âge, et on s'attendait donc à obtenir le même résultat dans notre étude.

La valeur seuil de 13 ans a été choisie afin de comparer directement nos résultats avec ceux de l'étude de Schofield *et al.*, étant à ce jour la plus récente étude ayant étudié les facteurs de risque de décès chez les chiens atteints d'hypercorticisme. Pour rappel, dans notre échantillon, le temps de survie médian des chiens âgés de moins de 13 ans au moment du diagnostic (814 jours) était plus important que celui des chiens âgés de plus de 13 ans (415 jours). Ces deux temps de survie médians n'étaient pas significativement différents. Néanmoins, il est probable que notre résultat ait manqué de puissance statistique.

L'âge au diagnostic est une exposition d'intérêt complexe assortie d'un nombre important de facteurs de confusion potentiels que nous décrivons plus loin. Aussi, toutes les études n'ont pas identifié l'âge au diagnostic comme facteur pronostique. Enfin, même si l'âge au diagnostic n'était pas associé la durée de survie dans notre échantillon, il semble pertinent d'encourager à établir le diagnostic le plus tôt possible dans la vie de l'animal, afin de mettre en place la démarche thérapeutique et le suivi au plus tôt.

1.2 Discussion sur le sexe et le statut stérilisé

Dans notre échantillon, les femelles étaient minoritaires (36,5%), contrairement aux données des études publiées au sein desquelles les femelles représentent 58 à 75% des cas d'hypercorticisme (toutes causes confondues) (Bennaim *et al.*, 2019a). Néanmoins, comme vu précédemment, l'existence d'une prédisposition liée au sexe est fortement controversée, et de nouvelles études sont nécessaires. De plus, dans notre échantillon, un peu moins de la moitié des individus étaient stérilisés (45%).

Dans notre échantillon, les temps de survie médians des mâles et des femelles (respectivement 696 et 638 jours) n'étaient pas significativement différents ($p=0,73$). Aussi, le temps de survie médian des individus stérilisés était plus court que celui des chiens non stérilisés (380 jours versus 877 jours), néanmoins sans différence statistique significative. Or, compte-tenu de l'écart entre ces médianes de survie, il est probable que notre résultat ait un manque de puissance statistique.

Ainsi, dans notre échantillon, il n'existait pas d'association brute entre la durée de survenue du décès et le sexe, d'une part, ou le statut stérilisé, d'autre part. Aucune étude, à ce jour, n'a identifié le sexe ou la stérilisation comme potentiel facteur de risque de décès chez les chiens atteints de la maladie de Cushing, ou d'hypercorticisme de façon générale. Ce résultat est alors en accord avec les données bibliographiques disponibles.

Néanmoins, il est possible que des individus aient été classés non stérilisés alors qu'ils l'étaient. En effet, lorsque le statut n'était pas précisé dans le dossier, l'animal était, par défaut, considéré non stérilisé, à l'origine d'un possible biais de classement non différentiel dont nous discutons partie C.1.

1.3 Discussion sur la race

Comme vu précédemment, toutes les races peuvent être touchées par la maladie de Cushing. Néanmoins, certaines races, principalement de petites tailles, semblent présenter une prédisposition au développement de cette affection telles que le Teckel (3,8% de notre échantillon), le Bichon (6,5% de notre échantillon), le Cavalier King Charles (2,5% de notre échantillon), le Yorkshire Terrier (17,5% de notre échantillon), le Caniche (8,8% de notre échantillon), le Jack Russel Terrier (2,5% de notre échantillon) et le Fox terrier (Ling *et al.*, 1979 ; O'Neill *et al.*, 2016 ; Carotenuto *et al.*, 2019).

Dans notre échantillon, la quasi-totalité des races prédisposées étaient représentées. De plus, la race Bouledogue Français, peu évoquée par la littérature, était largement représentée (6% de notre échantillon). Ainsi, cinq groupes de race ont été formés : Bouledogue Français, Yorkshire Terrier, Caniches, Croisés et « Autres races ». Pour rappel, il n'existait pas de différence significative entre les temps de survie médians des différentes classes de race.

La seule étude ayant recherché une association entre la race et la durée de survenue du décès est celle de Schofield et ses collaborateurs. Dans son étude, les chiens étaient regroupés en sept classes : Bichon, Jack Russel Terrier, Staffordshire Bull Terrier, Yorkshire Terriers, Croisés et « Autres races ». De la même façon, il n'existait pas d'association significative entre l'appartenance à un de ces groupes et la durée de survie. (Schofield *et al.*, 2020) Ainsi, même si les classes de race ne sont pas strictement identiques, notre résultat est cohérent avec les données bibliographiques disponibles à ce jour.

1.4 Discussion sur la présence de maladie(s) intercurrente(s)

Comme vu précédemment, 38% des chiens de l'étude présentaient une maladie intercurrente au moment du diagnostic (cardiovasculaire, endocrinienne, uro-néphrologique, néoplasique ou gastro-intestinale). Dans notre étude, nous étudions, de façon binaire, la présence ou non de maladie intercurrente au moment du diagnostic de la maladie de Cushing, indépendamment du nombre et de la nature de celle(s)-ci. Il n'existait pas d'association brute significative entre la présence d'une maladie intercurrente et la durée de survenue du décès.

Ce résultat est cohérent avec ceux présentés dans les études de Fracassi *et al.* et de Schofield *et al.*, où la présence de maladie intercurrente au moment du diagnostic n'était pas non plus associée à la durée de survie (Fracassi *et al.*, 2015 ; Schofield *et al.*, 2020).

Dans notre étude, aucune distinction n'a été faite entre les différentes affections chroniques étudiées. Néanmoins, si nous avions séparés les différents types, nous aurions eu un nombre très important de données manquantes, et, ce faisant, une puissance statistique très faible.

Dans leur étude, Schofield *et al.* ont également recherché spécifiquement une association entre la présence d'un diabète sucré au moment du diagnostic et la durée de survie, mais qui n'était pas présente (Schofield *et al.*, 2020).

Néanmoins, il est possible que des erreurs de classement aient été commises sur la présence de maladie(s) intercurrente(s), à l'origine d'un biais de classement dont nous discutons partie C.1

2. Discussion sur les données cliniques

2.1 Discussion sur l'indice clinique

Dans notre échantillon, tous les animaux présentaient au moins l'un des signes cliniques étudiés : PUPD, polyphagie, distension abdominale, léthargie ou présence de signes cutanés. Le signe clinique le plus fréquemment rencontré était la PUPD (présent chez 75% des individus). Ce résultat est cohérent avec les données bibliographiques. En effet, 82 à 91% des chiens atteints d'hypercorticisme présente de la polyuro-polydypsie (Ling *et al.*, 1979 ; Peterson, 1984 ; Reusch et Feldman, 1991 ; Bennaim *et al.*, 2019b).

Dans l'étude de Fracassi et ses collaborateurs, les mêmes signes cliniques ont été étudiés. Dans cette étude, les individus étaient divisés en deux groupes : ceux qui présentaient moins de quatre signes cliniques à l'admission, et ceux qui en présentaient au moins quatre. Il n'existait pas d'association entre le nombre de signes cliniques présentés et la durée de survie (Fracassi *et al.*, 2015).

Pour rappel, dans notre étude, les individus ont été divisés en trois classes : ceux qui présentaient un ou deux signes cliniques, ceux qui présentaient trois signes cliniques et ceux qui présentaient quatre ou cinq signes cliniques. En accord avec les données bibliographiques disponibles, il n'existait pas d'association statistique entre le nombre de signes cliniques présentés et la durée de survenue du décès.

2.2 Discussion sur la pression artérielle systémique

Comme vu précédemment, l'hypercorticisme est accompagné d'une hypertension artérielle systémique légère à modérée dans 31 à 86% des cas, et est, la plupart du temps, sans conséquence clinique (Ettinger *et al.*, 2017). Dans notre échantillon, la prévalence de l'hypertension artérielle était de 34%, ce qui concorde avec les données bibliographiques.

Dans les études de Fracassi *et al.* et de Schofield *et al.*, l'hypertension artérielle systémique a été étudiée comme facteur pronostique potentiel. Néanmoins, aucune association n'a été mise en évidence entre la présence d'une hypertension artérielle (≥ 160 mmHg) et la durée de survenue du décès (Fracassi *et al.*, 2015 ; Schofield *et al.*, 2020). On s'attendait donc à retrouver un résultat similaire dans notre étude.

Pour rappel, dans notre échantillon, le temps de survie médian des chiens qui présentaient une hypertension artérielle systémique (1371 jours) était significativement supérieure à celui des chiens qui ne présentaient pas d'hypertension artérielle systémique (331 jours). Ce résultat était très surprenant, car on s'attendait, en accord avec les résultats de la littérature énoncés, à une absence d'association entre l'hypertension et la durée de survie.

De plus, en raisonnant d'un point de vue clinique et connaissant les effets délétères que peut causer une hypertension artérielle systémique, notamment sur les organes cibles que sont le cœur, les reins, l'encéphale et les yeux, il semble peu probable que celle-ci puisse être un facteur pronostique positif (Acierno *et al.*, 2018). Ainsi, la confiance que nous accordons dans ce résultat est plutôt faible.

En effet, dans notre échantillon, seulement 29 individus ont fait l'objet d'une mesure de la pression artérielle, dont seulement 10 appartenant au groupe des exposés (à savoir ceux ayant une pression artérielle supérieure à 160 mmHg). De plus, au sein de ce groupe, seulement 5 événements ont été recensés. Du fait d'un nombre important de données manquantes et d'événements sur cette exposition d'intérêt, la puissance statistique de l'analyse est donc ici très peu satisfaisante, et la confiance que nous accordons à ce résultat est alors très limitée.

De plus, la méthode de classification des individus entre exposés et non-exposés est discutable. En effet, celle-ci a été décidée sur une mesure de pression artérielle unique, qui plus est dans un contexte hospitalier particulièrement stressant, alors que le diagnostic d'une hypertension artérielle systémique repose sur la réalisation de plus de deux mesures de pression artérielle (ainsi que la présence de signes cliniques le cas échéant) (Acierno *et al.*, 2018). Il est alors possible que des individus aient été, par excès, considérés comme hypertendus, à l'origine d'un biais de classement non différentiel que nous décrivons partie C.1.

3. Discussion sur les données relatives à l'examen biochimique et au ionogramme

3.1 Discussion sur l'enzymologie hépatique

Comme vu précédemment, l'augmentation de l'activité des PAL est l'anomalie biochimique la plus fréquemment rencontrée (76% à 100% des cas d'hypercorticisme), avec des élévations très marquées (plus de 10 fois la valeur supérieure de l'intervalle de référence) (Bennaim *et al.*, 2019a). La mesure de l'activité des PAL est un examen d'orientation peu spécifique mais incontournable dans la démarche diagnostique de la maladie de Cushing, disponible chez 72,5% des individus de notre échantillon. L'augmentation de l'activité enzymatique des ALAT est également très fréquente (80-95% des cas) mais se veut légère à modérée (Bennaim *et al.*, 2019a).

Pour rappel, dans notre étude, les individus ont été divisés en trois classes selon l'activité des PAL (< 350 UI/L, 350-1200 UI/L, > 1200 UI/L). Le temps de survie médian des individus avec l'activité des PAL inférieure à 350 UI/L était deux fois plus longs que ceux ayant une activité des PAL comprise entre 350 et 1200 UI/L ou supérieure à 1200 UI/L. Néanmoins, ces temps de survie médians n'étaient pas significativement différents.

De la même façon, les individus ont été divisés en trois classes selon l'activité des ALAT (<80 UI/L, entre 80 et 160 UI/L et 160 UI/L). Il n'existait pas de différence significative entre les temps de survie médians des différentes classes.

Nos résultats sont cohérents avec les données bibliographiques disponibles à ce jour. En effet, Fracassi et ses collaborateurs sont les seuls à avoir recherché une association entre la valeur de l'activité des enzymes hépatique et la survie. Dans son étude, les valeurs d'activité des PAL et ALAT n'étaient pas associées à la durée de survie du décès (Fracassi *et al.*, 2015).

3.2 Discussion sur l'albuminémie

Dans notre étude, 25,5% des chiens présentaient une hypoalbuminémie au moment du diagnostic de la maladie de Cushing. Dans la littérature, la seule étude ayant recherché l'albuminémie comme facteur pronostique chez les chiens atteints de la maladie de Cushing est celle de Fracassi et ses collaborateurs, dans laquelle il n'existait pas d'association significative entre cette exposition d'intérêt et la durée de survie. Pour rappel, dans notre échantillon, le temps de survie médian des chiens qui présentaient une hypoalbuminémie (426 jours) n'était pas significativement différent de celui des chiens qui ne présentaient pas d'hypoalbuminémie (380 jours). Notre résultat est donc en accord avec les données bibliographiques, bien que les études sur le sujet soient encore limitées en nombre à ce jour.

3.3 Discussion sur la phosphorémie

La phosphorémie est le seul paramètre bioclinique à avoir été identifié comme un facteur pronostique de la maladie de Cushing. En effet, dans l'étude de Fracassi, une phosphorémie supérieure à 1,45 mmol/L était associée à une durée de survie significativement plus courte (Fracassi *et al.*, 2015).

Nos résultats n'étaient pas en accord avec ceux de l'étude de Fracassi. En effet, le temps de survie médian des chiens qui présentaient une phosphorémie inférieure à 1,45 mmol/L était plus court que celui des chiens qui présentaient une phosphorémie supérieure à 1,45 mmol/L. Cette différence n'était, néanmoins, pas significative.

Pour cette exposition d'intérêt, nous n'avons récolté les valeurs de phosphorémie que de 21 animaux. Le nombre de données manquantes rend l'interprétation de ce résultat délicate car ce dernier manque de puissance statistique (en comparaison, l'étude de Fracassi comportait 85 valeurs de phosphorémie).

Il serait donc intéressant de poursuivre le relevé des valeurs de phosphorémie des individus pour lesquels le diagnostic de maladie de Cushing est établi au Centre Hospitalier Universitaire d'Alfort, et de recommencer l'analyse de survie sur un plus grand nombre d'individus.

4. Discussion sur la protéinurie

Il a été démontré que la médiane de survie des chats atteints de MRC était significativement diminuée lorsque ceux-ci présentent une protéinurie défini par un RPCU supérieur à 0,4 (Syme *et al.*, 2006).

Plus largement, les auteurs s'accordent à dire que la présence d'une protéinurie d'origine rénale est un élément pronostique défavorable, quelque soit la cause exacte (Lees *et al.*, 2005). En effet, les protéines contenues dans l'urine en contact avec l'épithélium tubulaire sont des éléments pro-inflammatoires et pro-fibrosants, à l'origine d'une dégradation de la fonction rénale.

Ainsi, on pourrait raisonnablement s'attendre à ce que la protéinurie soit également associée à un pronostic péjoratif chez les chiens atteints de la maladie de Cushing.

Pour rappel, bien que sa pathogénie ne soit encore entièrement élucidée, il semblerait que la protéinurie chez les chiens atteints d'hypercorticisme soit la conséquence d'une glomérulosclérose secondaire à l'hypertension artérielle systémique. Celle-ci est rencontrée dans 62 à 80% des cas (Bennaim *et al.*, 2019a). En comparaison, dans notre étude, 37,7% des chiens atteints de la maladie de Cushing présentaient une protéinurie objectivable à la bandelette urinaire et 63,2% présentaient un RPCU supérieur à 0,5. Cette différence (bandelette urinaire *versus* RPCU) peut s'expliquer par le fait que, fréquemment, le RPCU n'est réalisé que lorsque que la protéinurie a été observée (ou fortement suspectée) à la bandelette urinaire. On peut néanmoins s'interroger sur la sensibilité de la bandelette urinaire dans la détection de la protéinurie de façon générale (estimée à 81,2% si l'on considère le résultat positif dès une croix de protéine mais seulement 32,9% si l'on considère le résultat positif dès deux croix (Grauer, 2011)), mais aussi tout particulièrement chez les chiens atteints de la maladie de Cushing qui présentent fréquemment une diminution de la densité urinaire (avec une densité urinaire inférieure à 1,015 dans 60% des cas (Ling *et al.*, 1979)), à l'origine d'un nombre augmenté de faux négatifs à la bandelette urinaire. Ainsi, on peut s'interroger sur l'intérêt potentiel de systématiser la mesure du RPCU pour les chiens chez qui l'on suspecte ou diagnostique un hypercorticisme.

La seule étude ayant recherché la protéinurie comme facteur de risque de décès potentiel des chiens atteints de la maladie de Cushing est celle de Fracassi et ses collaborateurs. Dans cette étude, la donnée étudiée était le RPCU (la valeur seuil utilisée n'était pas spécifiée), et celui-ci n'était pas associé à la durée de survie ($p=0,78$). Dans notre échantillon, les temps de survie médians étaient similaires entre les chiens qui présentaient une protéinurie et ceux qui n'en présentaient pas (que celle-ci ait été objectivée à la bandelette urinaire ou par la mesure du RPCU)

Néanmoins, la fiabilité de nos résultats peut être discutée. Le premier point de discussion réside dans l'identification de la protéinurie. Comme vu précédemment, par un défaut de sensibilité, des individus chez qui seule une bandelette urinaire a été réalisée ont pu être classés « non protéinuriques » alors qu'ils l'étaient, à l'origine d'un possible biais de classement non différentiel.

Le deuxième point de discussion réside dans la localisation peu rigoureuse de la protéinurie. En effet, comme dit précédemment, celle-ci est un élément pronostique défavorable lorsqu'elle est d'origine rénale. Dans notre étude, nous avons essayé, autant que possible, d'identifier les individus présentant une protéinurie post-rénale, c'est-à-dire secondaire à une ITU, complication fréquente lors d'hypercorticisme. L'idéal, pour ce faire, était la réalisation d'un ECBU. Néanmoins, celui-ci n'a été réalisé que chez quatre des chiens inclus dans l'étude. La méthode, par défaut, d'objectiver une bactériurie était la présence ou l'absence de bactéries visibles à l'examen du culot urinaire.

Néanmoins, celle-ci peut être faussée par une contamination des pots de colorants, une mauvaise coloration de la lame ou encore une erreur de lecture par l'opérateur (risques majorés dans un contexte hospitalier universitaire). Ainsi, des individus ont pu, par erreur, être considérés « protéinuriques » alors que la protéinurie était d'origine post-rénale, dans un contexte d'ITU non détectée, causant ainsi un nouveau biais de classement non différentiel.

Ainsi, il conviendrait de renouveler l'analyse de survie, en systématisant la mesure du RPCU et l'ECBU chez tous les animaux pour lesquels un syndrome de Cushing est suspecté et/ou avéré.

5. Discussion sur les données relatives aux tests de caractérisation de l'hypercorticisme

5.1 Discussion sur la cortisolémie basale

Dans notre étude, la cortisolémie basale était disponible chez 75 individus. En effet, l'ensemble des individus a fait l'objet d'au moins un test de caractérisation de l'hypercorticisme (stimulation à l'ACTH ou freinage à la dexaméthasone) et donc ce faisant d'une mesure de la cortisolémie basale. Néanmoins, les valeurs n'étaient pas renseignées dans les dossiers de cinq individus.

Le but de notre étude n'était pas d'étudier l'augmentation simple de la cortisolémie, attendue chez l'ensemble des animaux atteints d'hypercorticisme, mais plutôt de rechercher une valeur seuil au-delà de laquelle la durée de survie était diminuée. En l'absence de données bibliographiques, la médiane de notre distribution, arrondie à une valeur faisant cliniquement du sens, a été choisie, à savoir 170 nmol/L.

Dans notre échantillon, le temps de survie médian des chiens qui présentaient une cortisolémie basale inférieure à 170 nmol/L était deux fois plus long que celui des chiens qui présentaient une cortisolémie basale supérieure à 170 nmol/L, avec une différence significative. Par ailleurs, les courbes de survie des deux groupes (exposés *versus* non-exposés) présentaient un nombre d'événements important (respectivement 28), rendant la puissance statistique de ce résultat satisfaisante.

La cortisolémie basale a été étudiée comme exposition d'intérêt dans les études de Fracassi *et al.* et Schofield *et al.* Néanmoins, dans les deux études, il n'existait pas d'association brute significative entre la cortisolémie basale et la durée de survie (Fracassi *et al.*, 2015 ; Schofield *et al.*, 2020). Dans l'étude de Kent *et al.*, plus ancienne, une élévation de la cortisolémie pré-ACTH était associée de façon non significative à une durée de survie plus courte ($p < 0,20$). Dans cette étude, la valeur seuil employée n'était pas précisée (Kent *et al.*, 2007).

Ainsi, il aurait été intéressant d'aller plus loin dans l'exploitation de notre résultat, notamment en utilisant un modèle de Cox brut afin de quantifier cette association par le calcul d'une valeur de risque relatif (ou d'Odd Ratio).

Pour aller encore plus loin, cette exposition d'intérêt aurait pu être intégrée à un modèle multivarié afin de rechercher l'existence ou non d'un lien de causalité entre la cortisolémie basale et la durée de survenue du décès. En effet, sans prise en compte des nombreux facteurs de confusion potentiels existants et ajustement sur ces derniers, l'association brute mise en évidence ici ne présume en rien de l'existence d'un lien de causalité entre l'exposition et l'événement étudié.

Néanmoins, en imaginant que la cortisolémie basale puisse être identifiée comme un facteur pronostique, l'application clinique de ce résultat devra être prudente car la cortisolémie est une donnée assortie de variations quotidiennes importantes et soumise à l'environnement de l'individu.

5.2 Discussion sur les données relatives au test de stimulation à l'ACTH

La cortisolémie post-ACTH a également été étudiée comme facteur de risque de décès potentiel dans les études de Fracassi *et al.* et Schofield *et al.* Néanmoins, dans l'une comme dans l'autre, il n'existait pas d'association entre la cortisolémie post-ACTH et la durée de survenue du décès (Fracassi *et al.*, 2015 ; Schofield *et al.*, 2020). Dans notre échantillon, 24 individus ont fait l'objet d'un test de stimulation à l'ACTH. Avec une valeur seuil de 1015 nmol/L (médiane de la distribution arrondie à l'unité), il n'y avait pas d'association brute entre la cortisolémie post-ACTH et la durée de survie, ce qui concorde avec les données bibliographiques disponibles.

5.3 Discussion sur les données relatives au test de freinage à la dexaméthasone dose faible

Les valeurs de cortisolémie à t = 4h et t = 8h post-freinage à la dexaméthasone ont aussi été étudiées comme facteurs de risque de décès potentiels par Fracassi et ses collaborateurs. Dans leur étude, il n'existait pas d'association entre l'un ou l'autre de ces valeurs et la durée de survie.

Dans notre échantillon, 53 individus ont fait l'objet d'un test de freinage à la dexaméthasone à dose faible. Avec des valeurs seuils de cortisolémie à t = 4h et à t = 8h post-freinage de 68 nmol/L et 112 nmol/L respectivement (médianes des distributions respectives arrondies à l'unité), il n'y avait pas d'association brute entre la durée de survenue du décès et la cortisolémie à t = 4h ni la cortisolémie à t = 8h post-freinage. Ces résultats sont donc compatibles avec les données bibliographiques disponibles à ce jour.

6. Discussion sur la taille de l'hypophyse à l'examen tomодensitométrique

Pour rappel, dans notre étude, nous recherchions une association brute entre l'augmentation de la taille de l'hypophyse et la durée de survenue du décès. Pour ce faire, nous avons utilisé le rapport P/B qui permet de s'affranchir des variations individuelles liées à la race ou la taille de l'animal, avec la valeur seuil bibliographique de $0,4 \times 10^{-2} \text{ mm}^{-1}$ au-delà de laquelle on parle de macroadénome pituitaire (versus microadénome en-dessous de cette valeur) (Granger *et al.*, 2005).

Dans notre échantillon, 38,8% des chiens présentaient un macroadénome hypophysaire. Cette prévalence est légèrement supérieure aux données bibliographiques disponibles, à savoir que 10 à 30% des chiens atteints d'hypercorticisme ACTH dépendant ont un rapport P/B supérieur à $0,4 \times 10^{-2} \text{ mm}^{-1}$ (Sarfaty *et al.*, 1988 ; Nelson *et al.*, 1989).

Comme vu précédemment, il existe une association entre la taille de la tumeur hypophysaire et la gravité des signes neurologiques, qui a elle-même été identifiée comme un facteur pronostique négatif post-radiothérapie, le cas échéant (Théon et Feldman, 1998b). De plus, en l'absence de radiothérapie, il a été montré que les macro-adénomes étaient associés à une durée de survie significativement plus courte que les micro-adénomes (Kent *et al.*, 2007). Néanmoins, dans notre étude, la réalisation ou non d'une radiothérapie n'était pas recensée. Dans notre échantillon, les temps de survie médians des chiens avec un rapport P/B supérieur à $0,4 \times 10^{-2} \text{ mm}^{-1}$ et celui des chiens avec un rapport P/B inférieur à $0,4 \times 10^{-2} \text{ mm}^{-1}$ ne présentaient pas de différence significative, ce qui n'est pas en accord avec les données bibliographiques disponibles. Néanmoins, l'étude de Kent est la seule ayant recherché une association entre la taille de l'hypophyse et la durée de survie. Des études supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ou non ce résultat. De plus, dans notre étude, le rapport P/B n'a été recueilli que chez 37 individus, ce qui en fait un échantillon de taille relativement faible. Il serait intéressant de poursuivre la collecte des rapport P/B au-delà de 2018 afin de renouveler l'analyse de survie.

B. Discussion sur les modalités de l'étude statistique

1. Discussion sur les caractéristiques de l'échantillon

1.1 Discussion sur la taille de l'échantillon

Pour rappel, l'échantillon de notre étude comportait 80 individus. Cette taille d'échantillon semble, de prime abord, plutôt satisfaisante en comparaison notamment aux études de Fracassi *et al.* et de Nagata *et al.*, qui incluaient respectivement 85 et 43 individus (Fracassi *et al.*, 2015 ; Nagata *et al.*, 2017). Cela reste néanmoins moindre par rapport à l'étude de Schofield *et al.* qui comprenait 219 individus, issus de différentes cliniques en Angleterre.

À ce jour, il s'agit de la plus récente et vaste étude ayant recherché des facteurs pronostiques chez les chiens atteints d'hypercorticisme (Schofield *et al.*, 2020). Néanmoins, celle-ci incluait également les chiens atteints d'hypercorticisme ACTH-indépendant, contrairement à notre étude qui s'est strictement limitée aux chiens atteints d'hypercorticisme ACTH-dépendant.

Toutefois, bien que la taille d'échantillon puisse sembler satisfaisante, certaines expositions d'intérêt ont été assorties d'un grand nombre de données manquantes, à l'origine d'un manque de puissance statistique, notamment pour les analyses de survie selon l'hypertension artérielle systémique et selon l'hyperphosphorémie.

Un échantillon de taille supérieure aurait permis l'amélioration de notre puissance statistique. Néanmoins, l'intégralité des chiens atteints de la maladie de Cushing répondant à l'ensemble des critères d'inclusion et présentés au CHUVA entre 2008 et 2018 ont été inclus dans l'étude. Ainsi, les deux seules façons d'augmenter la taille de notre échantillon auraient été :

- Étendre la période de recrutement (avant 2008 et/ou après 2018) ;
- Et/ou diminuer l'exigence d'un ou plusieurs critère(s) d'inclusion(s).

1.2 Discussion sur le mode de recrutement des individus et le biais de sélection

Pour rappel, dans notre étude la population cible était la population des chiens atteints de la maladie de Cushing en France. La population source était les chiens présentés au CHUVA et atteints de la maladie de Cushing. Notre échantillon a donc été prélevé au sein de cette population source. En effet, notre échantillon était constitué de l'ensemble des chiens atteints de la maladie de Cushing et présentés au CHUVA entre 2008 et 2018.

Ce choix était motivé par le souhait d'obtenir une taille d'échantillon et un nombre d'événements suffisants, et de s'assurer ainsi qu'un nombre de données relatives aux expositions d'intérêt satisfaisant. En effet, avant 2008, la plupart des dossiers Clovis étaient très incomplets, et inclure dans l'étude des individus présentés au CHUVA avant cette date n'aurait été que très peu contributif.

De plus, l'inclusion des chiens reposait sur plusieurs critères relativement stricts, afin d'optimiser l'exactitude de nos résultats, bien que celle-ci ne puisse être quantifiée. Une grande rigueur a notamment été accordée à la détermination du caractère ACT H-dépendant de l'hypercorticisme. En effet, notre étude portait uniquement sur les chiens atteints de la maladie de Cushing *sensu stricto*.

Tous les individus pour lesquels le diagnostic étiologique semblait équivoque ont été exclus de l'étude. Pour rappel, le diagnostic étiologique devait avoir été établi par un examen biologique discriminant (freinage à 4h, freinage à la dexaméthasone à dose forte, dosage de l'ACTH endogène ...) ou un examen d'imagerie (échographie abdominale et/ou examen tomodensitométrie de la tête).

Néanmoins, malgré la rigueur souhaitée sur ce critère de sélection, des erreurs ont pu être commises notamment lorsque le diagnostic étiologique était basé sur la seule échographie abdominale. En effet, un examen de caractérisation de l'hypercorticisme (test de freinage à la dexaméthasone à dose faible et/ou test de stimulation à l'ACTH) associé à une échographie abdominale révélant une hyperplasie bilatérale diffuse, homogène et symétrique nous permettait de conclure au diagnostic de maladie de Cushing.

Néanmoins, comme vu précédemment, 5% des chiens atteints d'hypercorticisme ACTH-dépendant présentent un ou plusieurs nodules surrenaliens à l'échographie abdominale, qui peuvent alors amener à conclure par erreur à un hypercorticisme ACTH-indépendant (Grooters et *al.*, 1996). A l'inverse, 10% des chiens atteints d'hypercorticisme ACTH-indépendant présentent des tumeurs bilatérales, qui peuvent, par erreur, être interprétées comme une hyperplasie bilatérale évocatrice d'une origine hypophysaire (Hoerauf et Reusch, 1999).

2. Discussion sur le recueil des données

L'une des principales limites de notre étude était que, malgré une taille d'échantillon plutôt satisfaisante, il y avait un nombre important de données manquantes. Pour rappel, le Tableau 5 récapitule le nombre de données qui ont pu être collectées pour chaque exposition d'intérêt.

Les expositions d'intérêt ayant été assorties du plus grand nombre de données manquantes sont la phosphorémie, la pression artérielle, la cortisolémie post-ACTH et la protéinurie objectivée par la mesure du RPCU (avec respectivement 21, 29, 24 et 19 données disponibles seulement). Comme vu précédemment, ce manque de données a été à l'origine d'un grand manque de puissance statistique pour les résultats concernant la pression artérielle et la phosphorémie.

Le nombre important de données manquantes s'explique d'abord par la non-exhaustivité des analyses lors de la présentation des chiens en consultation. En effet, bien que l'ensemble des examens complémentaires se justifient dans le cadre de l'exploration d'un hypercorticisme au sens large, leur réalisation est souvent assortie d'une contrainte financière importante amenant le clinicien à devoir prioriser certains examens par rapport à d'autres.

Aussi, certains examens complémentaires réalisés plus d'un mois avant l'établissement du diagnostic n'ont pu être pris en compte pour notre étude. Pour rappel, nous avons recueilli les données paracliniques réalisées au CHUVA ou chez le vétérinaire traitant si celle-ci avaient été établies dans le mois précédent l'établissement du diagnostic étiologique.

Enfin, le manque de certaines données s'expliquait parfois par des dossiers Clovis incomplets. En effet, certains examens étaient parfois réalisés mais les résultats non reportés dans le dossier de l'animal (ce qui explique notamment le fait que nous n'avions que 75 valeurs de cortisolémie disponibles alors que l'ensemble des 80 chiens inclus ont fait l'objet d'un test de stimulation à l'ACTH et/ou de freinage à la dexaméthasone). Cela était d'autant plus fréquent que les dossiers étudiés étaient anciens, confirmant le fait qu'étendre l'inclusion des cas avant 2008 aurait, certes, augmenté la taille de notre échantillon, mais n'aurait pas nécessairement amélioré le nombre de données disponibles de façon efficace. Les dossiers les plus récents étaient, quant à eux, très complets.

Cela est vraisemblablement dû à une amélioration de la rigueur, à la demande du personnel encadrant, dans le remplissage des comptes rendus cliniques par les étudiants de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort au fil des années. Ce niveau de rigueur doit être maintenu dans les années à venir, afin de permettre la réalisation de nouvelles études de cohortes, tous sujets confondus, les plus complètes possibles.

3. Discussion sur les caractéristiques de l'événement « décès »

Une autre limite majeure de notre étude était la non connaissance de la cause du décès. En effet, l'événement étudié était le décès toute cause. Aucun chien de l'étude n'a fait l'objet d'une autopsie, et, même lorsque la cause du décès était connue ou fortement suspectée, et que celle-ci semblait ne pas avoir de lien avec l'hypercorticisme (par exemple, il était connu qu'un des chiens était décédé des suites d'une noyade), l'animal était inclus dans l'étude.

Aussi, sur les 54 chiens de l'étude ayant présenté l'événement décès, 19 (35%) ont été euthanasiés, les 35 autres étant décédés spontanément. Or, même si on peut raisonnablement penser que la majorité des euthanasies ont été réalisées à des niveaux de dégradation clinique avancés, il n'en demeure pas moins une certaine subjectivité propre à chaque cas, dépendante du contexte financier, culturel et personnel de chaque propriétaire.

4. Discussion sur la méthode statistique

Pour rappel, notre étude était une étude observationnelle, ce qui signifie que l'investigateur n'est pas intervenu dans l'exposition ou la non-exposition des sujets (contrairement à une étude interventionnelle où l'investigateur décide quels individus sont exposés ou non). En effet, en considérant la liste de nos expositions d'intérêt, il semble évident que leur attribution par l'investigateur était impossible. De plus, il s'agissait d'une étude de cohorte, c'est-à-dire que les individus ont été recrutés, suivis dans le temps puis le caractère exposé ou non exposé était relevé *a posteriori* (contrairement à une étude cas-témoin où l'investigateur recrute volontairement des individus exposés et non-exposés) (Desquilbet, 2021).

Les études observationnelles de cohorte présentent différents avantages, notamment en termes d'éthique et de faisabilité. Elles sont également plus représentatives de la « vraie vie » que les études interventionnelles. De plus, elles garantissent l'antériorité de l'exposition par rapport à la maladie (décès toute cause ici) et sont adaptées à l'analyse de survie. Néanmoins, elles sont souvent assorties de nombreux biais de confusion, dont nous discuterons plus loin, pouvant rendre l'inférence causale (non réalisée dans notre étude) difficile à mettre en place (Desquilbet, 2021).

La méthode de Kaplan-Meier, mise en œuvre par le logiciel XLSTAT, était idéale pour notre analyse de survie. Pour aller plus loin, nous pourrions, toujours à l'aide du logiciel XLSTAT, réaliser des modèles de Cox pour chaque exposition d'intérêt. En effet, l'avantage majeur du modèle de Cox par rapport à la méthode de Kaplan-Meier est, pour chaque exposition d'intérêt, la quantification de l'association par le calcul du risque relatif ou de l'Odd Ratio. Néanmoins, l'utilisation du modèle de Cox repose sur deux hypothèses. La première est l'hypothèse des risques proportionnels, c'est-à-dire que, pour une exposition d'intérêt considérée, le risque relatif ne dépend pas du temps. Dans notre étude, toutes les expositions d'intérêt vérifiaient l'HPRP (hypothèse des risques proportionnels). La seconde hypothèse, plus complexe à vérifier car elle nécessite la création de variables dites indicatrices, est celle de la linéarité de l'association. Cette hypothèse n'a pas été vérifiée dans notre étude.

Enfin, dans notre étude, aucune inférence causale n'a été faite. En effet, l'inférence causale repose sur la construction d'un modèle dit multivarié, qui repose lui-même sur la prise en compte du plus grand nombre de facteurs de confusions possibles et, le cas échéant, sur l'ajustement sur ces derniers.

C. Discussion sur les différents biais d'association

Pour chaque exposition d'intérêt, le biais d'association est un écart systématique entre la valeur de l'association entre exposition d'intérêt et la maladie étudiée (ici, le décès toute cause) estimée et la valeur de cette association que l'on vise dans la population cible (Desquilbet, 2021). Il existe trois types de biais d'association : le biais de sélection (dont nous discutons partie 1.2), le biais de classement et le biais de confusion.

1. Discussion sur les biais de classement

Un biais de classement intervient lorsqu'une ou plusieurs erreurs de classement ont été commises sur l'exposition d'intérêt et/ou sur la maladie (considérer un animal exposé alors qu'il ne l'était pas ou inversement et/ou considérer un animal décédé alors qu'il ne l'était pas et inversement). Par ailleurs, il existe deux types de biais de classement :

- Le biais de classement non différentiel, lorsque l'erreur commise sur l'exposition est indépendante du statut malade ou non malade (le décès toute cause ici), ou lorsque l'erreur commise sur la maladie est indépendante du statut exposé ou non exposé ;
- Le biais de classement différentiel, lorsque l'erreur commise sur l'exposition dépend du statut malade ou non malade (le décès toute cause ici), ou lorsque l'erreur commise sur la maladie dépend du statut exposé ou non exposé (Desquilbet, 2021).

Ainsi, on peut raisonnablement penser que la présence de biais de classement différentiel est peu probable dans la mesure où, si elles existent, les erreurs sur les commémoratifs, les signes cliniques ou les résultats des examens complémentaires réalisés du vivant de l'animal sont *a priori* totalement indépendantes du statut vivant/décédé du chien à la date de point.

Néanmoins, des erreurs de classement à l'origine d'un biais de classement non différentiel ont pu être commises.

Pour rappel, voici la liste des expositions d'intérêt :

- L'âge ;
- Le sexe ;
- Le statut de stérilisation ;
- La race ;
- La présence de maladie(s) intercurrente(s) ;
- L'indice clinique ;
- La pression artérielle systolique ;
- L'activité des enzymes hépatiques (PAL et ALAT) ;
- L'albuminémie ;
- La phosphorémie ;
- La cortisolémie basale, post-ACTH et post-freinage à la dexaméthasone dose faible ;
- La protéinurie objectivable à la bandelette urinaire et par la mesure du RPCU ;
- La taille de l'hypophyse objectivée par le rapport P/B.

Pour la quasi-totalité des données initialement quantitatives (enzymologie hépatique, albuminémie, phosphorémie, cortisolémie basale, post-ACTH et post-freinage à la dexaméthasone, RPCU et taille de l'hypophyse), on peut raisonnablement penser que le risque d'erreurs de classement est faible, sans toutefois pouvoir l'exclure totalement. En effet, des erreurs dans l'envoi des prélèvements, d'automate ou de report des résultats ont pu être commises.

Pour l'âge, le sexe et la race, on peut également considérer que le risque d'erreur de classement est très faible, sans pouvoir l'exclure totalement.

Pour le statut de stérilisation, le risque d'erreur de classement non différentiel est possible. En effet, certains dossiers ne comportaient pas cette information, et, lorsque le statut n'était pas explicité, l'animal était alors considéré non stérilisé par défaut.

Pour la présence de maladie(s) intercurrente(s), des erreurs de classement ont pu être commises. Pour rappel, 38% des chiens présentaient une comorbidité (parmi celles considérées) au moment du diagnostic.

Néanmoins, compte-tenu de l'âge médian relativement avancé des chiens au moment du diagnostic (pour rappel 11,1 ans), il est possible qu'un certain nombre de comorbidités n'aient pas été identifiées (par défaut de médicalisation de certains animaux par leurs propriétaires) ou rapportées (par manque de transmission des informations relatives à l'animal, lorsque celui-ci était référé ou suivi par un autre vétérinaire). A l'inverse, il est peu probable que des chiens aient été considérés atteints d'une ou plusieurs maladie(s) intercurrente(s) alors qu'ils ne l'étaient pas, mais nous ne pouvons l'exclure.

Concernant la protéinurie, il est fort probable que des erreurs de classement aient eu lieu : des individus classés « non protéinuriques » qui l'étaient, lorsque seule une bandelette urinaire a été réalisée, et, inversement, des individus classés « protéinuriques » alors que la protéinurie était d'origine post-rénale, lorsque l'ECBU n'était pas réalisé.

Concernant la pression artérielle, nous avons vu précédemment que les modalités de diagnostic de l'hypertension artérielle systémique de notre étude (reposant sur une mesure unique, isolée) ne correspondaient pas aux recommandations (Acierno *et al.*, 2018) et que, ce faisant, certains individus ont pu être classés « hypertendus » alors qu'il ne l'étaient pas. L'inverse est, néanmoins, peu probable.

Enfin, aucune erreur n'a pu, *a priori*, être commise sur le statut vivant/décédé du chien.

Ainsi, certains résultats de notre étude sont vraisemblablement assortis d'un biais de classement non différentiel dont l'importance est difficilement évaluable mais qui existe et doit être considéré. L'impact du biais de classement non différentiel est une diminution de la force de l'association, le cas échéant (Desquilbet, 2021). Par conséquent, les associations entre la durée de survie et, respectivement, le statut de stérilisation, la présence ou non de maladie(s) intercurrente(s) et/ou la présence ou non d'une protéinurie, qui étaient, *a priori*, toutes non significatives auraient pu l'être, si elles n'avaient pas été biaisées par ces biais de classement non différentiels.

2. Discussion sur les biais de confusion

Pour rappel, une exposition est qualifiée de facteur de confusion si elle est statistiquement associée à l'exposition d'intérêt et à la maladie (décès toute cause dans notre étude), sans être la conséquence directe de l'une ou de l'autre. Les facteurs de confusion sont à l'origine d'un biais dit de confusion (Desquilbet, 2021).

Dans notre étude, nous nous limitons à la recherche d'association(s) brute(s) (c'est-à-dire sans prise en compte des facteurs de confusion) entre les différentes expositions d'intérêt et la durée de survenue du décès.

Par exemple, il convient de rappeler que l'association significative mise en évidence entre la cortisolémie basale et le temps de survie médian est une association brute et qu'aucune inférence causale n'a pu être réalisée à ce stade. Ainsi, la recherche rigoureuse de ces facteurs de confusion n'était pas indispensable. En effet, comme vu précédemment, l'inférence causale nécessite la prise en compte de tous les facteurs de confusion dont la recherche est complexe. Bien que celle-ci n'ait pas été réalisée, nous pouvons essayer d'identifier les facteurs de confusions potentiels parmi la liste des expositions d'intérêt étudiées.

Dans notre étude, les facteurs de confusion potentiels étaient des expositions qui remplissaient les deux critères suivants :

- Ne pas être une conséquence de l'exposition d'intérêt, ni de la maladie (décès toute cause ici) ;
- Être associée au décès avec une valeur de p inférieure ou égale à 0,20.

Le Tableau 8 récapitule l'ensemble des valeurs de p du log-rank relatives à chaque exposition d'intérêt. Seuls l'hypertension artérielle, la cortisolémie basale et l'âge au diagnostic étaient associés à la survenue d'un décès avec un degré de signification p inférieur à 0,20. Par conséquent, seules ces trois expositions pouvaient potentiellement jouer des rôles de facteurs de confusion potentiels dans l'étude des associations. L'étape suivante aurait été de prendre en compte chacune de ces expositions dans un modèle multivarié et de regarder si, pour chaque exposition d'intérêt, l'association brute aurait été modifiée après ajustement sur au moins une de ces trois expositions.

Tableau 8 : Liste des expositions testées classées par ordre de croissance du logrank testant l'association avec la survenue du décès.

Variables	p log-rank
Hypertension artérielle	0,004
Cortisolémie basale	0,007
Âge au diagnostic	0,08
Stérilisation	0,21
PAL	0,25
Cortisolémie post-freinage à la dexaméthasone (t=4h)	0,28
Hyperphosphatémie	0,29
Cortisolémie post-freinage à la dexaméthasone (t=8h)	0,34
Présence de maladie(s) intercurrente(s)	0,42
Cortisolémie post-stimulation à l'ACTH	0,44
Race	0,47
Hypoalbuminémie	0,54
Taille de l'hypophyse (rapport P/B)	0,68
ALAT	0,68
Sexe	0,73
Protéinurie (sur bandelette urinaire)	0,75
Protéinurie (RPCU)	0,75
Indice clinique	0,80

Conclusion

La maladie de Cushing est une affection diagnostiquée de plus en plus fréquemment et, le cas échéant, de plus en plus précocement. Néanmoins, bien qu'elle soit très bien décrite dans la littérature, la démarche diagnostique et la prise en charge thérapeutique représentent un investissement personnel et financier très important de la part du propriétaire. Ainsi, il paraît nécessaire de pouvoir fournir des éléments pronostiques aux propriétaires, soucieux de connaître l'espérance de vie de leur animal. Or, au cours des dernières années, seules trois études se sont attachées à la recherche de facteurs pronostiques chez les chiens atteints d'hypercorticisme, au sens large. Dans ces travaux, seuls l'âge, le poids et la valeur de la phosphatémie au moment du diagnostic ont été identifiés comme facteurs pronostiques (Fracassi *et al.*, 2015 ; Nagata *et al.*, 2017 ; Schofield *et al.*, 2020).

Dans notre étude, qui portait sur 80 chiens présentés au CHUVA et atteints de la maladie de Cushing, nous recherchions une association entre différentes données épidémiologiques, cliniques et paracliniques et la durée de survenue du décès. Dans notre échantillon, l'hypertension artérielle systémique était significativement associée à une durée de survie plus longue. Néanmoins, la puissance statistique de ce résultat était très faible. De plus, une cortisolémie basale supérieure à 170 nmol/L était significativement associée à une durée de survie plus courte. La confiance accordée dans ce résultat était plutôt bonne. Néanmoins, il s'agissait d'une association brute, c'est-à-dire non ajustée sur des facteurs de confusion. Par ailleurs, dans notre étude, nous avons identifié trois facteurs de confusion potentiels : l'hypertension artérielle, la cortisolémie basale et l'âge au diagnostic.

Par conséquent, les perspectives d'évolution de cette thèse seraient l'identification la plus exhaustive possible des facteurs de confusion et leur prise en compte pour l'étude des associations dans un modèle multivarié, rendant l'inférence causale possible. Par ailleurs, l'inclusion des individus pourrait être étendue au-delà de l'année 2018, afin d'augmenter la taille de l'échantillon et ainsi la puissance statistique de nos résultats. Enfin, compte-tenu du peu de données bibliographiques disponibles à ce jour, il serait pertinent que des travaux similaires soient poursuivis sur la recherche de facteurs pronostiques chez les chiens atteints de la maladie de Cushing.

Liste des références bibliographiques

- ACIERNO M.J., BROWN S., COLEMAN A.E., *et al.* (2018) ACVIM consensus statement: Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. *J. Vet. Intern. Med.* 32(6), 1803-1822
- ALENZA D.P., ARENAS C., LOPEZ M.L., MELIAN C. (2006) Long-Term Efficacy of Trilostane Administered Twice Daily in Dogs With Pituitary-Dependent Hyperadrenocorticism. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 42(4), 269-276
- ARENAS C., MELIÁN C., PÉREZ-ALENZA M.D. (2013) Evaluation of 2 trilostane protocols for the treatment of canine pituitary-dependent hyperadrenocorticism: twice daily versus once daily. *J. Vet. Intern. Med.* 27(6), 1478-1485
- AUGUSTO M., BURDEN A., NEIGER R., RAMSEY I. (2012) A comparison of once and twice daily administration of trilostane to dogs with hyperadrenocorticism. *Tierarztl. Prax. Ausg. K Klientiere Heimtiere* 40(6), 415-424
- BARGELLINI P., ORLANDI R., PALONI C., *et al.* (2013) Contrast-enhanced ultrasonographic characteristics of adrenal glands with pituitary dependent hyperadrenocorticism. *Vet. Radiol. Ultrasound* 54(3), 283-292
- BARKER E.N., CAMPBELL S., TEBB A.J., *et al.* (2005) A Comparison of the Survival Times of Dogs Treated with Mitotane or Trilostane for Pituitary-Dependent Hyperadrenocorticism. *J. Vet. Intern. Med.* 19(6), 810-815
- BARONE R., BORTOLAMI R. (2004) Neurologie I : système nerveux central. Paris, Vigot
- BARONE R., SIMOENS P. (2010) Neurologie II: système nerveux périphérique, glandes endocrines, esthésiologie. Paris, Vigot
- BARTHEZ P.Y., NYLAND T.G., FELDMAN E.C. (1995) Ultrasonographic evaluation of the adrenal glands in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 207(9), 1180-1183
- BEHREND E.N., KEMPPAINEN R.J., BRUYETTE D.S., BUSCH K.A., LEE H.P. (2006) Intramuscular administration of a low dose of ACTH for ACTH stimulation testing in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 229(4), 528-530
- BEHREND E.N., KOOISTRA H.S., NELSON R., REUSCH C.E., SCOTT-MONCRIEFF J.C. (2013) Diagnosis of Spontaneous Canine Hyperadrenocorticism: 2012 ACVIM Consensus Statement (Small Animal). *J. Vet. Intern. Med.* 27(6), 1292-1304
- BELL R., NEIGER R., MCGROTTY Y., RAMSEY I.K. (2006) Study of the effects of once daily doses of trilostane on cortisol concentrations and responsiveness to adrenocorticotrophic hormone in hyperadrenocorticoid dogs. *Vet. Rec.* 159(9), 277-281
- BELLUMORI T.P., FAMULA T.R., BANNASCH D.L., BELANGER J.M., OBERBAUER A.M. (2013) Prevalence of inherited disorders among mixed-breed and purebred dogs: 27,254 cases (1995–2010). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 242(11), 1549-1555
- BENCHEKROUN G., DE FORNEL-THIBAUD P., RODRÍGUEZ PIÑEIRO M.I., *et al.* (2010) Ultrasonography Criteria for Differentiating ACTH Dependency from ACTH Independency in 47 Dogs with Hyperadrenocorticism and Equivocal Adrenal Asymmetry: Equivocal Adrenal Asymmetry in Canine Hyperadrenocorticism. *J. Vet. Intern. Med.* 24(5), 1077-1085

- BENNAIM M., SHIEL R.E., FORDE C., MOONEY C.T. (2018) Evaluation of individual low-dose dexamethasone suppression test patterns in naturally occurring hyperadrenocorticism in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 32(3), 967-977
- BENNAIM M., SHIEL R.E., MOONEY C.T. (2019a) Diagnosis of spontaneous hyperadrenocorticism in dogs. Part 1: Pathophysiology, aetiology, clinical and clinicopathological features. *Vet. J.* 252, 105342
- BENNAIM M., CENTOLA S., RAMSEY I., SETH M. (2019b) Clinical and Clinicopathological Features in Dogs with Uncomplicated Spontaneous Hyperadrenocorticism Diagnosed in Primary Care Practice (2013–2014). *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 55(4), 178-186
- BENTO P.L., CENTER S.A., RANDOLPH J.F., YEAGER A.E., BICALHO R.C. (2016) Associations between sex, body weight, age, and ultrasonographically determined adrenal gland thickness in dogs with non-adrenal gland illness. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 248(6), 652-660
- BERRY C.R., ACKERMAN N., MONCE K. (1994) Pulmonary mineralization in four dogs with Cushing's syndrome. *Vet. Radiol. Ultrasound* 35(1), 10-16
- BONADIO C.M., FELDMAN E.C., COHEN T.A., KASS P.H. (2014) Comparison of adrenocorticotrophic hormone stimulation test results started 2 versus 4 hours after trilostane administration in dogs with naturally occurring hyperadrenocorticism. *J. Vet. Intern. Med.* 28(4), 1239-1243
- BRADDOCK J., CHURCH D., ROBERTSON I., WATSON A. (2003) Trilostane treatment in dogs with pituitary-dependent hyperadreno-corticism. *Aust. Vet. J.* 81(10), 600-607
- CABRERA BLATTER M.F., DEL PRADO A., GALLELLI M.F., *et al.* (2012) Blindness in dogs with pituitary dependent hyperadrenocorticism: Relationship with glucose, cortisol and triglyceride concentration and with ophthalmic blood flow. *Res. Vet. Sci.* 92(3), 387-392
- CAROTENUTO G., MALERBA E., DOLFINI C., *et al.* (2019) Cushing's syndrome: an epidemiological study based on a canine population of 21,281 dogs. *Open Vet. J.* 9(1), 27
- CHAPMAN P.S., KELLY D.F., ARCHER J., BROCKMAN D.J., NEIGER R. (2004) Adrenal necrosis in a dog receiving trilostane for the treatment of hyperadrenocorticism. *J. Small Anim. Pract.* 45(6), 307-310
- CHO K.-D., KANG J.-H., CHANG D., NA K.-J., YANG M.-P. (2013) Efficacy of low- and high-dose trilostane treatment in dogs (< 5 kg) with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J. Vet. Intern. Med.* 27(1), 91-98
- CHOI J., KIM H., YOON J. (2011) Ultrasonographic Adrenal Gland Measurements in Clinically Normal Small Breed Dogs and Comparison with Pituitary-Dependent Hyperadrenocorticism. *J. Vet. Med. Sci.* 73(8), 985-989
- CLEMENTE M., DE ANDRÉS P.J., ARENAS C., *et al.* (2007) Comparison of non-selective adrenocorticolysis with mitotane or trilostane for the treatment of dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Vet. Rec.* 161(24), 805-809
- COHEN T.A., FELDMAN E.C. (2012) Comparison of IV and IM Formulations of Synthetic ACTH for ACTH Stimulation Tests in Healthy Dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 26(2), 412-414
- CORSINI A., DONDI F., SERIO D.G., *et al.* (2021) Calcium and phosphate homeostasis in dogs with newly diagnosed naturally occurring hypercortisolism. *J. Vet. Intern. Med.* 35(3), 1265-1273

- DE CHALUS T., COMBES A. (2012) Ultrasonographic Adrenal Gland Measurements in Healthy Yorkshire Terriers and Labrador Retrievers. *Anat Histol Embryol* 42(1), 57-64
- DE FORNEL P., DELISLE F., DEVAUCHELLE P., ROSENBERG D. (2007) Effects of radiotherapy on pituitary corticotroph macrotumors in dogs: a retrospective study of 12 cases. *Can. Vet. J.* 48(5), 481-486
- DESQUILBET L. (2021) Polycopié d'Epidémiologie clinique. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.
- DOERR K.A., OUTERBRIDGE C.A., WHITE S.D., *et al.* (2013) Calcinosis cutis in dogs: histopathological and clinical analysis of 46 cases. *Vet. Dermatol.* 24(3), 355-e79
- ETTINGER S.J., FELDMAN E.C., CÔTÉ E. (2017) Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and the cat, 8ème. ed. St. Louis, Elsevier
- FELDMAN E.C. (1983a) Comparison of ACTH response and dexamethasone suppression as screening tests in canine hyperadrenocorticism. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 182(5), 506-510
- FELDMAN E.C. (1983b) Distinguishing dogs with functioning adrenocortical tumors from dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 183(2), 195-200
- FELDMAN E.C., NELSON R.W., FELDMAN M.S. (1996) Use of low- and high-dose dexamethasone tests for distinguishing pituitary-dependent from adrenal tumor hyperadrenocorticism in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 209(4), 772-775
- FELDMAN E.C. (2011) Evaluation of twice-daily lower-dose trilostane treatment administered orally in dogs with naturally occurring hyperadrenocorticism. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 238(11), 1441-1451
- FELDMAN E.C., NELSON R.W., REUSCH C., SCOTT-MONCRIEFF J.C.R. (Éd.) (2015) Canine and feline endocrinology, 4ème. ed. St. Louis, Missouri, Elsevier Saunders
- FORRESTER S.D., TROY G.C., DALTON M.N., HUFFMAN J.W., HOLTZMAN G. (1999) Retrospective Evaluation of Urinary Tract Infection in 42 Dogs with Hyperadrenocorticism or Diabetes Mellitus or Both. *J. Vet. Intern. Med.* 13(6), 557-560
- FRACASSI F., CORRADINI S., FLORIANO D., *et al.* (2015) Prognostic factors for survival in dogs with pituitary-dependent hypercortisolism treated with trilostane. *Vet. Rec.* 176(2), 49-49
- GALLELLI M.F., CABRERA BLATTER M.F., CASTILLO V. (2010) A comparative study by age and gender of the pituitary adenoma and ACTH and α -MSH secretion in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Res. Vet. Sci.* 88(1), 33-40
- GOOSSENS M.M., FELDMAN E.C., THEON A.P., KOBLIK P.D. (1998) Efficacy of cobalt 60 radiotherapy in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 212(3), 374-376
- GOULD S.M., BAINES E.A., MANNION P.A., EVANS H., HERRTAGE M.E. (2001) Use of endogenous ACTH concentration and adrenal ultrasonography to distinguish the cause of canine hyperadrenocorticism. *J. Small Anim. Pract.* 42(3), 113-121
- GOY-THOLLOT I., PECHEREAU D., KEROACK S., DEZEMPTÉ J.-C., BONNET J.-M. (2002) Investigation of the role of aldosterone in hypertension associated with spontaneous pituitary-dependent hyperadrenocorticism in dogs. *J. Small Anim. Pract.* 43(11), 489-492

- GRANGER N., FORNEL P., DEVAUCHELLE P., *et al.* (2005) Plasma Pro-opiomelanocortin, Pro-adrenocorticotropin Hormone, and Pituitary Adenoma Size in Dogs with Cushing's Disease. *J. Vet. Intern. Med.* 19(1), 23-28
- GRAUER G.F. (2011) Proteinuria: Measurement and Interpretation. *Top. Companion Anim. Med.* 26(3), 121-127
- GRECO D.S., PETERSON M.E., DAVIDSON A.P., FELDMAN E.C., KOMUREK K. (1999) Concurrent pituitary and adrenal tumors in dogs with hyperadrenocorticism: 17 cases (1978-1995). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 214(9), 1349-1353
- GROOTERS A.M., BILLER D.S., THEISEN S.K., MIYABAYASHI T. (1996) Ultrasonographic Characteristics of the Adrenal Glands in Dogs With Pituitary-Dependent Hyperadrenocorticism: Comparison With Normal Dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 10(3), 110-115
- HANSON J.M., HOOFD M.M. van 't, VOORHOUT G., *et al.* (2005) Efficacy of Transsphenoidal Hypophysectomy in Treatment of Dogs with Pituitary-Dependent Hyperadrenocorticism. *J. Vet. Intern. Med.* 19(5), 687-694
- HANSON J.M., KOOISTRA H.S., MOL J.A., TESKE E., MEIJ B.P. (2006) Plasma profiles of adrenocorticotropin hormone, cortisol, α -melanocyte-stimulating hormone, and growth hormone in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism before and after hypophysectomy. *J. Endocrinol.* 190(3), 601-609
- HANSON J.M., TESKE E., VOORHOUT G., *et al.* (2007) Prognostic factors for outcome after transsphenoidal hypophysectomy in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J. Neurosurg.* 107(4), 830-840
- HEGSTAD R.L., JOHNSTON S.D., PASTERNAK D.M. (1990) Effects of sample handling on adrenocorticotropin concentration measured in canine plasma, using a commercially available radioimmunoassay kit. *Am. J. Vet. Res.* 51(12), 1941-1947
- HOERAUF A., REUSCH C. (1999) Ultrasonographic characteristics of both adrenal glands in 15 dogs with functional adrenocortical tumors. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 35(3), 193-199
- HOFFMAN J.M., LOURENÇO B.N., PROMISLOW D.E.L., CREEVY K.E. (2018) Canine hyperadrenocorticism associations with signalment, selected comorbidities and mortality within North American veterinary teaching hospitals: Sex, breed and comorbidity in canine HAC. *J. Small Anim. Pract.* 59(11), 681-690
- JENSEN A.L., IVERSEN L., KOCH J., HØIER R., PETERSEN T.K. (1997) Evaluation of the urinary Cortisol: creatinine ratio in the diagnosis of hyperadrenocorticism in dogs. *J. Small Anim. Pract.* 38(3), 99-102
- JONES C.A., REFSAL K.R., LIPPERT A.C., NACHREINER R.F., SCHWACHA M.M. (1990) Changes in adrenal cortisol secretion as reflected in the urinary cortisol/creatinine ratio in dogs. *Domest. Anim. Endocrinol.* 7(4), 559-572
- KEMPPAINEN R.J., CLARK T.P., PETERSON M.E. (1994) Preservative effect of aprotinin on canine plasma immunoreactive adrenocorticotropin concentrations. *Domest. Anim. Endocrinol.* 11(4), 355-362
- KEMPPAINEN R.J., BEHREND E.N. (1997) Adrenal physiology. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 27(2), 173-186

- KEMPPAINEN R.J., SARTIN J.L. (1984) Evidence for episodic but not circadian activity in plasma concentrations of adrenocorticotrophin, cortisol and thyroxine in dogs. *J. Endocrinol.* 103(2), 219-226
- KENT M.S., BOMMARITO D., FELDMAN E., THEON A.P. (2007) Survival, neurologic response, and prognostic factors in dogs with pituitary masses treated with radiation therapy and untreated dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 21(5), 1027-1033
- KERL M.E., PETERSON M.E., WALLACE M.S., MELIÁN C., KEMPPAINEN R.J. (1999) Evaluation of a low-dose synthetic adrenocorticotrophic hormone stimulation test in clinically normal dogs and dogs with naturally developing hyperadrenocorticism. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 214(10), 1497-1501
- KIDNEY B.A., JACKSON M.L. (1988) Diagnostic value of alkaline phosphatase isoenzyme separation by affinity electrophoresis in the dog. *Can J Vet Res* 52(1), 106-110
- KINTZER P.P., PETERSON M.E. (1991) Mitotane (o,p'-DDD) treatment of 200 dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J. Vet. Intern. Med.* 5(3), 182-190
- KOOISTRA H.S., VOORHOUT G., MOL J.A., RIJNBERK A. (1997) Correlation between impairment of glucocorticoid feedback and the size of the pituitary gland in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J. Endocrinol.* 152(3), 387-394
- LABELLE P., KYLES A.E., FARVER T.B. (2004) Indicators of Malignancy of Canine Adrenocortical Tumors: Histopathology and Proliferation Index. *Vet Pathol* 41(5), 490-497
- LEES G.E., BROWN S.A., ELLIOTT J., GRAUER G.F., VADEN S.L. (2005) Assessment and Management of Proteinuria in Dogs and Cats: 2004 ACVIM Forum Consensus Statement (Small Animal). *J. Vet. Intern. Med.* 19(3), 377-385
- LIEN Y.-H., HSIANG T.-Y., HUANG H.-P. (2010) Associations among systemic blood pressure, microalbuminuria and albuminuria in dogs affected with pituitary- and adrenal-dependent hyperadrenocorticism. *Acta Vet. Scand.* 52(1), 61
- LING G.V., STABENFELDT G.H., COMER K.M., GRIBBLE D.H., SCHECHTER R.D. (1979) Canine hyperadrenocorticism: pretreatment clinical and laboratory evaluation of 117 cases. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 174(11), 1211-1215
- MAMELAK A.N., OWEN T.J., BRUYETTE D. (2014) Transsphenoidal surgery using a high definition video telescope for pituitary adenomas in dogs with pituitary dependent hypercortisolism: Methods and results: Transsphenoidal Surgery for Pituitary Adenomas in Dogs. *Vet. Surg.* 43(4), 369-379
- MARIANI C.L., SCHUBERT T.A., HOUSE R.A., *et al.* (2015) Frameless stereotactic radiosurgery for the treatment of primary intracranial tumours in dogs. *Vet. Comp. Oncol.* 13(4), 409-423
- MAWBY D.I., WHITTEMORE J.C., FECTEAU K.A. (2014) Canine Pancreatic-Specific Lipase Concentrations in Clinically Healthy Dogs and Dogs with Naturally Occurring Hyperadrenocorticism. *J. Vet. Intern. Med.* 28(4), 1244-1250
- MAZZI A., FRACASSI F., DONDI F., GENTILINI F., FAMIGLI BERGAMINI P. (2008) Ratio of urinary protein to creatinine and albumin to creatinine in dogs with diabetes mellitus and hyperadrenocorticism. *Vet. Res. Commun.* 32(S1), 299-301

- MEIJ B.P., VOORHOUT G., INGH T.S.G.A.M.V.D., HAZEWINDEL H.A.W., VERLAAT J.W.V. (1997) Transsphenoidal Hypophysectomy in Beagle Dogs: Evaluation of a Microsurgical Technique. *Vet. Surg.* 26(4), 295-309
- MEIJ B.P., VOORHOUT G., INGH T.S.G.A.M.V.D., HAZEWINDEL H.A.W., RIJNBERK A. (1998) Results of Transsphenoidal Hypophysectomy in 52 Dogs With Pituitary-Dependent Hyperadrenocorticism. *Vet. Surg.* 27(3), 246-261
- MEIJ B.P. (2001) Hypophysectomy as a treatment for canine and feline Cushing's disease. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 31(5), 1015-1041
- MELBY J.C. (1988) Therapy of Cushing Disease: A Consensus for Pituitary Microsurgery. *Ann. Intern. Med.* 109(6), 445
- MICELI D.D., PIGNATARO O.P., CASTILLO V.A. (2017) Concurrent hyperadrenocorticism and diabetes mellitus in dogs. *Res. Vet. Sci.* 115, 425-431
- MUELLER C., SIEBER-RUCKSTUHL N., WENGER M., KASER-HOTZ B., REUSCH C.E. (2006) Low-dose dexamethasone test with « inverse » results: a possible new pattern of cortisol response. *Vet. Rec.* 159(15), 489-491
- NAGATA N., KOJIMA K., YUKI M. (2017) Comparison of Survival Times for Dogs with Pituitary-Dependent Hyperadrenocorticism in a Primary-Care Hospital: Treated with Trilostane versus Untreated. *J. Vet. Intern. Med.* 31(1), 22-28
- NEIGER R., HURLEY K.J., RAMSEY I., O'CONNOR J., MOONEY C.T. (2002) Trilostane treatment of 78 dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Vet. Rec.* 150(26), 799-804
- NELSON R.W., IHLE S.L., FELDMAN E.C. (1989) Pituitary macroadenomas and macroadenocarcinomas in dogs treated with mitotane for pituitary-dependent hyperadrenocorticism: 13 cases (1981-1986). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 194(11), 1612-1617
- NIVY R., REFSAL K.R., ARIEL E., *et al.* (2018) The interpretive contribution of the baseline serum cortisol concentration of the ACTH stimulation test in the diagnosis of pituitary dependent hyperadrenocorticism in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 32(6), 1897-1902
- O'NEILL D.G., SCUDDER C., FAIRE J.M., *et al.* (2016) Epidemiology of hyperadrenocorticism among 210,824 dogs attending primary-care veterinary practices in the UK from 2009 to 2014: Hyperadrenocorticism in dogs. *J. Small Anim. Pract.* 57(7), 365-373
- ORTEGA T.M., FELDMAN E.C., NELSON R.W., WILLITS N., COWGILL L.D. (1996) Systemic arterial blood pressure and urine protein/creatinine ratio in dogs with hyperadrenocorticism. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 209(10), 1724-1729
- PETERSON M.E. (1984) Hyperadrenocorticism. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 14(4), 731-749
- PETERSON M.E., ALTSZULER N., NICHOLS C.E. (1984) Decreased insulin sensitivity and glucose tolerance in spontaneous canine hyperadrenocorticism. *Res. Vet. Sci.* 36(2), 177-182
- PETERSON M.E., ORTH D.N., HALMI N.S., *et al.* (1986) Plasma Immunoreactive Proopiomelanocortin Peptides and Cortisol in Normal Dogs and Dogs with Addison's Disease and Cushing's Syndrome: Basal Concentrations. *Endocrinology* 119(2), 720-730

- PETERSON M.E. (1987) Pathophysiology of Canine Pituitary-Dependent Hyperadrenocorticism (Canine Cushing's Disease). In *Comparative Pathophysiology of Regulatory Peptides*. Eds Rinjberk A, van Wimersma Greidanus TB. Utrecht, Pays-Bas, Karger, pp 37-47
- PEY P., DAMINET S., SMETS P.M.Y., *et al.* (2013) Contrast-enhanced ultrasonographic evaluation of adrenal glands in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Am. J. Vet. Res.* 74(3), 417-425
- POLLARD R.E., REILLY C.M., UERLING M.R., WOOD F.D., FELDMAN E.C. (2010a) Cross-Sectional Imaging Characteristics of Pituitary Adenomas, Invasive Adenomas and Adenocarcinomas in Dogs: 33 Cases (1988–2006). *J. Vet. Intern. Med.* 24(1), 160-165
- RAMSEY I.K., TEBB A., HARRIS E., EVANS H., HERRTAGE M.E. (2005) Hyperparathyroidism in dogs with hyperadrenocorticism. *J. Small Anim. Pract.* 46(11), 531-536
- RAMSEY I.K., RICHARDSON J., LENARD Z., TEBB A.J., IRWIN P.J. (2008) Persistent isolated hypocortisolism following brief treatment with trilostane. *Aust. Vet. J.* 86(12), 491-495
- REUSCH C.E., FELDMAN E.C. (1991) Canine Hyperadrenocorticism Due to Adrenocortical Neoplasia: Pretreatment Evaluation of 41 Dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 5(1), 3-10
- RIJN S.J., GALAC S., TRYFONIDOU M.A., *et al.* (2016) The Influence of Pituitary Size on Outcome After Transsphenoidal Hypophysectomy in a Large Cohort of Dogs with Pituitary-Dependent Hypercortisolism. *J. Vet. Intern. Med.* 30(4), 989-995
- ROBERTS K.E., PITTS R.F. (1953) The effects of cortisone and desoxycorticosterone on the renal tubular reabsorption of phosphate and the excretion of potassium in dogs. *Endocrinology* 52(3), 324-330
- RODRÍGUEZ PIÑEIRO M.I., BENCHEKROUN G., DE FORNEL-THIBAUD P., *et al.* (2009) Accuracy of an Adrenocorticotrophic Hormone (ACTH) Immunoluminometric Assay for Differentiating ACTH-Dependent from ACTH-Independent Hyperadrenocorticism in Dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 23(4), 850-855
- RODRÍGUEZ PIÑEIRO M.I., DE FORNEL-THIBAUD P., BENCHEKROUN G., *et al.* (2011) Use of Computed Tomography Adrenal Gland Measurement for Differentiating ACTH Dependence from ACTH Independence in 64 Dogs with Hyperadenocorticism: Adrenal CT Scan in Canine Hyperadrenocorticism. *J. Vet. Intern. Med.* 25(5), 1066-1074
- SANDERS K., KOOISTRA H.S., GALAC S. (2018) Treating canine Cushing's syndrome: Current options and future prospects. *Vet. J.* 241, 42-51
- SARFATY D., CARRILLO J.M., PETERSON M.E. (1988) Neurologic, endocrinologic, and pathologic findings associated with large pituitary tumors in dogs: eight cases (1976-1984). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 193(7), 854-856
- SCHOFIELD I., BRODBELT D.C., WILSON A.R.L., *et al.* (2020) Survival analysis of 219 dogs with hyperadrenocorticism attending primary care practice in England. *Vet. Rec.* 186(11), 348-348
- SCHWARZ T., STORK C.K., MELLOR D., SULLIVAN M. (2000) Osteopenia and other radiographic signs in canine hyperadrenocorticism. *J. Small Anim. Pract.* 41(11), 491-495
- SERUCA C., RÓDENAS S., LEIVA M., PEÑA T., AÑOR S. (2010) Acute postretinal blindness: ophthalmologic, neurologic, and magnetic resonance imaging findings in dogs and cats (seven cases): acute postretinal blindness. *Vet. Ophthalmol.* 13(5), 307-314

- SMETS P.M.Y., LEFEBVRE H.P., MEIJ B.P., *et al.* (2012) Long-Term Follow-Up of Renal Function in Dogs after Treatment for ACTH-Dependent Hyperadrenocorticism. *J. Vet. Intern. Med.* 26(3), 565-574
- SMILEY L.E., PETERSON M.E. (1993) Evaluation of a Urine Cortisol:Creatinine Ratio as a Screening Test for Hyperadrenocorticism in Dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 7(3), 163-168
- SOLTER P.F., HOFFMANN W.E., HUNGERFORD L.L., PETERSON M.E., DORNER J.L. (1993) Assessment of corticosteroid-induced alkaline phosphatase isoenzyme as a screening test for hyperadrenocorticism in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 203(4), 534-538
- SWINNEY G., FOSTER S., CHURCH D., MALIK R. (1998) Myotonia associated with hyperadrenocorticism in two dogs. *Aust. Vet. J.* 76(11), 722-724
- SYME H.M., MARKWELL P.J., PFEIFFER D., ELLIOTT J. (2006) Survival of Cats with Naturally Occurring Chronic Renal Failure Is Related to Severity of Proteinuria. *J. Vet. Intern. Med.* 20(3), 528-535
- TAODA T., HARA Y., MASUDA H., *et al.* (2011) Magnetic resonance imaging assessment of pituitary posterior lobe displacement in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J. Vet. Med. Sci.* 73(6), 725-731
- TESHIMA T., HARA Y., TAKEKOSHI S., *et al.* (2009) Expression of genes related to corticotropin production and glucocorticoid feedback in corticotroph adenomas of dogs with Cushing's disease. *Domest. Anim. Endocrinol.* 36(1), 3-12
- THÉON A.P., FELDMAN E.C. (1998) Megavoltage irradiation of pituitary macrotumors in dogs with neurologic signs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 213(2), 225-231
- VAESSEN M.M.A.R., KOOISTRA H.S., MOL J.A., RIJNBERK A. (2004) Urinary corticoid:creatinine ratios in healthy pet dogs after oral low-dose dexamethasone suppression tests. *Vet. Rec.* 155(17), 518-521
- VAN DER VLUGT-MEIJER R.H., MEIJ B.P., VAN DEN INGH T.S.G.A.M., RIJNBERK A., VOORHOUT G. (2003) Dynamic computed tomography of the pituitary gland in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *J. Vet. Intern. Med.* 17(6), 773-780
- VAN WIJK P.A., RIJNBERK A., CROUGHS R.J., *et al.* (1992) Corticotropin-releasing hormone and adrenocorticotrophic hormone concentrations in cerebrospinal fluid of dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Endocrinology* 131(6), 2659-2662
- VAN BOKHORST K.L., KOOISTRA H.S., BOROFFKA S.A.E.B., GALAC S. (2019) Concurrent pituitary and adrenocortical lesions on computed tomography imaging in dogs with spontaneous hypercortisolism. *J. Vet. Intern. Med.* 33(1), 72-78
- VAN RIJN S.J., HANSON J.M., ZIERIKZEE D., *et al.* (2015) The Prognostic Value of Perioperative Profiles of ACTH and Cortisol for Recurrence after Transsphenoidal Hypophysectomy in Dogs with Corticotroph Adenomas. *J. Vet. Intern. Med.* 29(3), 869-876
- VAUGHAN M.A., FELDMAN E.C., HOAR B.R., NELSON R.W. (2008) Evaluation of twice-daily, low-dose trilostane treatment administered orally in dogs with naturally occurring hyperadrenocorticism. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 232(9), 1321-1328
- VONDEREN I.K., KOOISTRA H.S., RIJNBERK A. (1998) Influence of Veterinary Care on the Urinary Corticoid: Creatinine Ratio in Dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 12(6), 431-435

- VOORHOUT G. (1990) X-ray-computed tomography, nephrotomography, and ultrasonography of the adrenal glands of healthy dogs. *Am. J. Vet. Res.* 51(4), 625-631
- WENGER M., SIEBER-RUCKSTUHL N.S., MULLER C., REUSCH C.E. (2004) Effect of trilostane on serum concentrations of aldosterone, cortisol, and potassium in dogs with pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *Am. J. Vet. Res.* 65(9), 1245-1250
- WHITE S.D., CERAGIOLI K.L., BULLOCK L.P., MASON G.D. (1989) Cutaneous markers of canine hyperadrenocorticism. *Compend Contin Educ* 11(4), 450-464
- ZEUGSWETTER F., BYDZOVSKY N., KAMPNER D., SCHWENDENWEIN I. (2010) Tailored reference limits for urine corticoid:creatinine ratio in dogs to answer distinct clinical questions. *Vet. Rec.* 167(26), 997-1001
- ZUR G., WHITE S.D. (2011) Hyperadrenocorticism in 10 Dogs with Skin Lesions as the Only Presenting Clinical Signs. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 47(6), 419-427

RECHERCHE DE FACTEURS DE RISQUE DE DÉCÈS POTENTIELS CHEZ LES CHIENS ATTEINTS DE LA MALADIE DE CUSHING : ÉTUDE RÉTROSPECTIVE SUR 80 CAS DIAGNOSTIQUÉS AU CHUVA ENTRE 2008 ET 2018

AUTEUR : Valentine GERARD-HIRNE

RÉSUMÉ :

La maladie de Cushing est une dysendocrinie de prévalence relativement faible mais de plus en plus diagnostiquée en pratique. Secondaire à la présence d'une tumeur hypophysaire, il s'agit de la forme d'hypercorticisme la plus fréquente. Le but de cette étude était l'identification de facteurs de risque de décès potentiels chez les chiens atteints de la maladie de Cushing. En effet, à ce jour, très peu d'études se sont attachées à la recherche de ces facteurs pronostiques. Dans ces travaux, seuls l'âge, le poids et la valeur de la phosphatémie au moment du diagnostic ont été identifiés comme facteurs pronostiques. Le premier objectif était de vérifier si nous retrouvions ces résultats dans notre étude. L'objectif secondaire était d'identifier de nouveaux facteurs de risques de décès potentiels encore non établis dans la littérature.

Pour ce faire, nous avons utilisé les dossiers des animaux atteints de maladie de Cushing et pris en charge au Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire d'Alfort entre le 1^{er} janvier 2008 et le 31 décembre 2018. Au total, 80 animaux étaient inclus dans l'étude. Nous recherchions alors l'existence d'une association brute entre différentes données épidémiologiques, cliniques et paracliniques et la durée de survenue du décès. Dans ce travail de thèse, aucune inférence causale n'a été faite, ce pourquoi nous parlons de facteurs de risque de décès potentiels. Les expositions d'intérêt étudiées étaient l'âge au diagnostic, le sexe, le statut de stérilisation, la race, la présence de maladie(s) intercurrente(s), l'indice clinique, la pression artérielle, l'activité des enzymes hépatiques (PAL et ALAT), l'albuminémie, la phosphorémie, la cortisolémie basale, post-ACTH et post-freinage à la dexaméthasone à dose faible, la protéinurie objectivable à la bandelette urinaire et par la mesure du RPCU et la taille de l'hypophyse par le rapport P/B. Dans notre échantillon, une cortisolémie basale supérieure à 170 nmol/L était significativement associée à une durée de survie plus courte. La confiance accordée dans ce résultat était plutôt bonne. Par ailleurs, dans notre étude, l'hypertension artérielle, la cortisolémie basale et l'âge au diagnostic ont pu jouer le rôle de facteurs de confusion.

Ainsi, dans ce travail, nous avons montré qu'une cortisolémie basale supérieure à 170 nmol/L est un facteur de risque de décès potentiel chez les chiens atteints de maladie de Cushing. La prochaine étape serait la prise en compte de l'ensemble des facteurs de confusion et l'ajustement sur ces derniers dans un modèle multivarié, rendant ainsi l'inférence causale possible.

MOTS CLÉS : MALADIE DE CUSHING / HYPERCORTICISME / CORTISOL / SURVIE / FACTEUR DE RISQUE DE DÉCÈS / ÉTUDE RÉTROSPECTIVE/ CHUVA

JURY:

Présidente du jury : Pr Fanny PILOT-STORCK

Directrice : Dr Ghita BENCHEKROUN

Examinatrice : Dr Morgane CANONNE-GUIBERT

Invité : Pr Loïc DESQUILBET

RESEARCH OF POTENTIAL MORTALITY RISK FACTORS IN DOGS WITH CUSHING DISEASE: RETROSPECTIVE STUDY OVER 80 CASES ADMITTED IN THE ALFORT VETERINARY SCHOOL HOSPITAL BETWEEN 2008 AND 2018

AUTHOR: Valentine GERARD-HIRNE

SUMMARY:

Cushing disease is an endocrine disease with a relatively low prevalence but which is increasingly diagnosed in practice. Due to a pituitary tumor, it is the most common type of hyperadrenocorticism. The aim of the study was to identify potential mortality risk factors in dogs with Cushing's disease. Very few studies about prognosis of Cushing disease in dogs have been carried out and published yet. In these papers, only age, weight and phosphate level have been identified as mortality risk factors. The first goal of this study was to confirm these previous results in our study sample. The second goal was to look for new mortality risk factors which have not been identified in the scientific literature yet.

To do so, we used the medical data of dogs with Cushing's disease which had been admitted in the teaching hospital of the Alfort Veterinary School between the January 1st 2008 and the December 31st 2008. A total of 80 animal have been included in this study. The aim was to investigate associations between survival time and some epidemiologic, paraclinical and clinical exposures such as: age, sex, neutering state, breed, comorbidities, clinical index, systemic blood pressure, liver enzymes activity (ALP and ALT), albumin level, phosphorus level, basal cortisol, post-ACTH cortisol, cortisol levels 4 and 8 hours after dexamethasone injection, proteinuria, and the pituitary size. In this work, no causal inference was drawn because only crude associations were investigated. That is why we talk about *potential* mortality risk factors. In our sample, basal serum cortisol level above 170 nmol/L was significantly associated with a shorter survival time, with a quite good level of statistical confidence. Furthermore, blood pressure, basal cortisol level and age at diagnosis may have intervened as confounding factors.

Based on our results, basal serum cortisol level above 170 nmol/L seems a potential mortality risk factors in dogs with Cushing disease. The next step would be the identification of confounding factors and adjustment for them within a multivariate model, which may allow causal inference.

KEYWORDS: CUSHING DISEASE / HYPERCORTICISM/ CORTISOL / SURVIVAL / RETROSPECTIVE STUDY / ALFORT VETERINARY SCHOOL HOSPITAL

JURY:

Chairperson: Pr Fanny PILOT-STORCK

Thesis director: Dr Ghita BENCHEKROUN

Reviewer: Dr Morgane CANONNE-GUIBERT

Guest: Pr Loïc DESQUILBET