

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**  
**Faculdade de Medicina**  
**Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia,**  
**Metabolismo e Nutrição**

**Tese de Doutorado**

**Aspectos Clínicos e Laboratoriais no**  
**Diagnóstico Diferencial da Doença de Cushing e**  
**Pseudo-Cushing**

**Aluno: Guilherme Alcides Flôres Soares Rollin**

**Orientador: Prof. Mauro Antônio Czepielewski**

**Porto Alegre, janeiro de 2008**

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**  
**Faculdade de Medicina**  
**Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia,**  
**Metabolismo e Nutrição**

**Tese de Doutorado**

**Aspectos Clínicos e Laboratoriais no**  
**Diagnóstico Diferencial da Doença de Cushing e**  
**Pseudo-Cushing**

**Aluno: Guilherme Alcides Flôres Soares Rollin**

**Orientador: Prof. Mauro Antônio Czepielewski**

**Porto Alegre, janeiro de 2008**

## Ficha Catalográfica

**R754a** Rollin, Guilherme Alcides Flôres Soares

Aspectos clínicos e laboratoriais no diagnóstico diferencial da doença de Cushing e pseudo-Cushing / Guilherme Alcides Flôres Soares Rollin ; orient. Mauro Antônio Czepielewski. – 2008.

155 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia. Porto Alegre, BR-RS, 2008.

1. Hipersecreção hipofisária de ACTH 2. Diagnóstico 3. Marcadores biológicos 4. Sintomas clínicos 5. Testes laboratoriais  
I. Czepielewski, Mauro Antônio II. Título.

NLM: WK 550

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

## **Agradecimentos**

- Ao meu orientador, Prof. Dr. Mauro A. Czepielewski, pelo estímulo, amizade, ensinamentos e exemplo de médico e pesquisador.
- Ao Dr. Fernando Gerchman, pelo auxílio na elaboração de gráficos e análise estatística, e pela ajuda com os meus pacientes.
- Ao Prof. Dr. Nelson Pires Ferreira, exímio neurocirurgião, que proporcionou uma ótima interação entre a neuroendocrinologia e neurocirurgia; pelo convívio nesses últimos 10 anos, ajudando no tratamento dos pacientes com doença de Cushing.
- Às colegas da Unidade de Neuroendocrinologia, Dras. Alessandra, Daniela, Betina e Saskia, pelo trabalho em equipe.
- Ao Serviço de Endocrinologia do HCPA, aos professores, pelo exemplo científico e apoio na formação qualificada de médicos e pesquisadores.
- Aos amigos e minha família, pelo apoio e amizade.
- E, principalmente, aos meus filhos e esposa, pelos quais tenho profunda admiração e verdadeiro amor.

**Esta Tese de Doutorado segue o formato proposto pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Metabolismo e Nutrição da Faculdade de Medicina da UFRGS, sendo apresentada na forma de dois artigos originais a serem submetidos para publicação em periódicos Qualis A Internacional na Classificação da CAPES.**

**Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes instituições:**

**- CAPES: através de bolsa de Doutorado**

## SUMÁRIO

<b>Agradecimentos</b> .....	<b>04</b>
<b>Formato da Tese de Doutorado</b> .....	<b>05</b>
<b>Lista de Abreviaturas</b> .....	<b>08</b>
<b>Lista de Tabelas e Figuras</b> .....	<b>09</b>
<b>Introdução</b> .....	<b>11</b>
<b>Justificativa</b> .....	<b>42</b>
<b>Objetivos</b> .....	<b>43</b>
<b>Referências Bibliográficas</b> .....	<b>44</b>
<b>Artigo Original em Português 1</b> .....	<b>55</b>
<b>Título</b> .....	<b>55</b>
<b>Resumo</b> .....	<b>57</b>
<b>Introdução</b> .....	<b>59</b>
<b>Pacientes e Métodos</b> .....	<b>62</b>
<b>Resultados</b> .....	<b>65</b>
<b>Discussão</b> .....	<b>67</b>
<b>Referências Bibliográficas</b> .....	<b>71</b>
<b>Figuras</b> .....	<b>73</b>
<b>Tabelas</b> .....	<b>77</b>
<b>Artigo Original em Português 2</b> .....	<b>79</b>
<b>Título</b> .....	<b>79</b>
<b>Resumo</b> .....	<b>80</b>
<b>Introdução</b> .....	<b>82</b>
<b>Pacientes e Métodos</b> .....	<b>84</b>
<b>Resultados</b> .....	<b>86</b>

<b>Discussão</b>	<b>89</b>
<b>Referências Bibliográficas</b>	<b>94</b>
<b>Figuras</b>	<b>97</b>
<b>Tabelas</b>	<b>102</b>
<b>Artigo original em Inglês 1</b>	<b>107</b>
<b>Title</b>	<b>107</b>
<b>Summary</b>	<b>108</b>
<b>Introduction</b>	<b>110</b>
<b>Patients and Methods</b>	<b>113</b>
<b>Results</b>	<b>116</b>
<b>Discussion</b>	<b>117</b>
<b>References</b>	<b>121</b>
<b>Figures</b>	<b>125</b>
<b>Tables</b>	<b>127</b>
<b>Artigo Original em Inglês 2</b>	<b>129</b>
<b>Title</b>	<b>129</b>
<b>Summary</b>	<b>129</b>
<b>Introduction</b>	<b>132</b>
<b>Patients and Methods</b>	<b>134</b>
<b>Results</b>	<b>136</b>
<b>Discussion</b>	<b>138</b>
<b>References</b>	<b>141</b>
<b>Figures</b>	<b>144</b>
<b>Tables</b>	<b>149</b>
<b>Conclusões</b>	<b>154</b>

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

**ACTH : Hormônio Adrenocorticotrópico**

**CRH: Hormônio Liberador do ACTH**

**CSPI: Cateterismo do Seio Petroso Inferior**

**DC: Doença de Cushing**

**DDAVP: Desmopressina**

**GIP: Peptídeo Inibitório Gastrointestinal**

**HCG: Gonadotropina Coriônica Humana**

**HPLC: Cromatografia Líquida de Alta Performance**

**LH: Hormônio Luteinizante**

**PC: Pseudo-Cushing**

**PPAND: Hiperplasia Nodular Adrenal Pigmentada Primária**

**RM: Ressonância Magnética**

**SC: Síndrome de Cushing**

**SDHEA: Sulfato de Deidroepiandrosterona**

**TC: Tomografia Computadorizada**



## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

### Introdução.

- **Figura 1.** Avaliação Diagnóstica na Suspeita de Síndrome de Cushing.

### Artigo Original em Português 1.

- **Figura 1.** Cortisolúria ( $\mu\text{g}/24\text{h}$ ) basal nos pacientes com Doença de Cushing (DC) e com Pseudo-Cushing (PC).

- **Figura 2.** Cortisol sérico ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) pós teste de supressão com 1 mg de dexametasona “overnight” nos pacientes com Doença de Cushing (DC) e com Pseudo-Cushing (PC).

- **Tabela 1.** Comparações entre Doença de Cushing (DC) e Pseudo-Cushing (PC).

-**Tabela 2.** Comparações entre pacientes com Doença de Cushing (DC) Leve e Pseudo-Cushing (PC).

### Artigo Original em Português 2.

- **Figura 1.** Cortisolúria basal ( $\mu\text{g}/24\text{h}$ ), cortisol à meia-noite ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) e cortisol pós supressão com 1 mg de dexametasona ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) na avaliação diagnóstica de pacientes com Doença de Cushing (DC) e Pseudo-Cushing (PC).

- **Figura 2.** Resposta do ACTH após administração do DDAVP.

- **Figura 3.** Resposta do cortisol após administração do DDAVP.

- **Figura 4.** Curva ROC para o teste do DDAVP: diferentes critérios

- **Figura 5.** ACTH (A) e cortisol (B) comparando os dois grupos de pacientes em relação ao pico, aumento absoluto e aumento percentual.

- **Tabela 1.** Performance dos testes clássicos para o diagnóstico de Doença de Cushing.

- **Tabela 2.** Testes diagnósticos para a Doença de Cushing.

- **Tabela 3.** Comportamento dos níveis de ACTH ( $\text{pg}/\text{ml}$ ) e cortisol ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) no teste do DDAVP em pacientes com Doença de Cushing (DC) e Pseudo-Cushing (PC).

- **Tabela 4.** Performance do teste do DDAVP no diagnóstico da Doença de Cushing

- **Tabela 5.** Teste do DDAVP na Doença de Cushing: avaliação conforme curva ROC.

### **Artigo Original em Inglês 1.**

- **Figure 1.** Urinary Free Cortisol ( $\mu\text{g}/24\text{h}$ ) in patients with Cushing's disease and pseudo-Cushing's.

- **Figure 2.** Serum cortisol ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) after 1 mg dexamethasone overnight suppression test in patients with Cushing's disease (CD) and pseudo-Cushing (PC).

- **Table 1.** Clinical features in patients with Cushing's Disease (CD) and Pseudo-Cushing's states (PC).

- **Table 2.** Clinical features in patients with mild Cushing's Disease (CD) and Pseudo-Cushing's states (PC).

### **Artigo Original em Inglês 2.**

- **Figure 1.** Urinary free cortisol (UFC -  $\mu\text{g}/24\text{h}$ ), midnight serum cortisol ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) and 1mg overnight dexamethasone suppression test (OST -  $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) in diagnosis evaluation of Cushing's Disease (CD) and Pseudo-Cushing's (PC) patients.

- **Figure 2.** ACTH response to DDAVP administration.

- **Figure 3.** Cortisol response to DDAVP administration.

- **Figure 4.** DDAVP test: ROC curves from different criterion.

- **Figure 5.** ACTH (A) and cortisol (B): evaluation of peak, absolute increase and relative increase.

- **Table 1.** Performance of classical tests for the diagnosis of Cushing's Disease.

- **Table 2.** Diagnostic tests for Cushing's Disease.

- **Table 3.** ACTH ( $\text{pg}/\text{ml}$ ) and cortisol ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) levels after DDAVP in patients with Cushing's Disease (CD) and Pseudo-Cushing's (PC).

- **Table 4.** Performance of DDAVP test for the diagnosis of Cushing's Disease.

- **Table 5.** The DDAVP test in Cushing's Disease: evaluation by ROC analysis.

## INTRODUÇÃO

O diagnóstico diferencial de pacientes com síndrome de Cushing (SC) tem-se constituído em importante desafio à prática endocrinológica, mesmo empregando-se os mais avançados métodos laboratoriais e/ou de imagem. Tratando-se de entidade rara (2-5 novos casos por milhão de habitantes/ano), seu diagnóstico diferencial envolve, além da corticoterapia exógena, situações clínicas comuns como obesidade central, diabetes mérito, hipertensão arterial, hirsutismo, irregularidade menstrual (1,2), caracterizando os estados de pseudo-Cushing (PC). Até o momento, o diagnóstico de PC não apresenta critérios bem definidos, sendo estabelecido geralmente em pacientes com manifestações clínicas leves de hipercortisolismo quando a avaliação hormonal não preenche completamente os critérios diagnósticos de SC, cujas manifestações clínicas regridem ou não evoluem com o passar do tempo (1,2,3).

A etiologia da SC pode ser dependente ou não do ACTH, incluindo-se no primeiro grupo, a doença de Cushing (DC) que é causada por um adenoma hipofisário produtor de ACTH, correspondendo a aproximadamente 70% dos casos de SC e a 80% dos casos ACTH-dependentes. Carcinomas produtores de ACTH são extremamente raros, sendo encontrados apenas cerca de 20 casos relatados na literatura (3,4,5). Em aproximadamente 15-20% dos casos de SC ACTH-dependente, o excesso de ACTH pode também ser decorrente de síndrome do ACTH ectópico, ou seja, produção não hipofisária do ACTH, por neoplasias como o carcinoma brônquico de pequenas células, carcinóide brônquico, timoma, tumores das ilhotas de pâncreas, carcinoma medular de tireóide, entre outros. Nos últimos anos, a ocorrência de síndrome do ACTH ectópico oculto tem sido diagnosticada com maior frequência, especialmente decorrentes de carcinóide brônquico e intestinal, que geralmente

são muito pequenos e muitas vezes ocultos. Nestas situações, os aspectos clínicos e hormonais podem ser semelhantes à DC mais severa (6,7,8). Muito raramente, encontra-se a síndrome da secreção ectópica do CRH (secreção de CRH por tumores não hipotalâmicos, especialmente tumores carcinóides). Na síndrome de Cushing não-dependente de ACTH, destacam-se os adenomas e carcinomas do córtex supra-renal produtores de glicocorticóide, e mais raramente as hiperplasias ou displasias (hiperplasia nodular adrenal pigmentada primária bilateral e hiperplasia adrenal macronodular bilateral) (2,3,9,10, 11,12,13).

### **Quadro Clínico**

Inicialmente, devemos salientar que para um diagnóstico precoce da SC é fundamental um alto índice de suspeita clínica. A SC é um distúrbio multisistêmico onde o excesso de glicocorticóide provoca alterações em praticamente todo o corpo, proporcionalmente ao tempo de doença e à severidade do hipercortisolismo (3). As manifestações clínicas mais frequentes geralmente são inespecíficas, como aumento de peso, fadiga, letargia e depressão, com sinais específicos da SC variando conforme o tempo e severidade da doença (6). É importante destacar que distúrbios sistêmicos associados tais como hipertensão, diabete mérito ou osteoporose muitas vezes levam o paciente ao atendimento médico (3,14).

Pacientes com hipercortisolismo severo geralmente apresentam a aparência cushingóide clássica da doença, porém alguns pacientes com síndrome do ACTH ectópico de evolução muito rápida e com hipercortisolismo severo, podem não exibir os estigmas da SC. Por outro lado, muitos dos aspectos clínicos encontrados nos pacientes com SC (obesidade, hipertensão, alterações de humor, diabete mérito e alterações menstruais) podem representar achados comuns na população geral. Neste contexto, a presença de sinais específicos como

miopatia proximal, equimose e pele fina (fragilidade capilar) e estrias violáceas podem orientar o raciocínio diagnóstico em direção à SC (3,6,15,16). Especialmente nos casos de DC leve e nos adenomas adrenais, os estigmas clássicos do hipercortisolismo podem não estar presentes, e o diagnóstico passar despercebido. Algumas características devem chamar a atenção, sempre que presentes, principalmente em pacientes obesos e diabéticos, como fraqueza muscular proximal, atrofia cutânea, fragilidade capilar, estrias violáceas, rubicundez facial e acúmulo central de gordura, principalmente nas fossas supra-claviculares e na região cervical posterior (“giba”) (12). Por outro lado, distúrbios metabólicos graves, como hipocalcemia, associados a fraqueza muscular e fadiga intensa, mesmo na ausência dos sinais clássicos, devem chamar atenção para a síndrome do ACTH ectópico. É importante também considerar sempre o diagnóstico de SC nos pacientes com incidentaloma adrenal, cuja etiologia mais freqüente é o adenoma (9). Finalmente, deve-se sempre estar atento para possibilidade de SC cíclica, onde o hipercortisolismo pode alternar com períodos de normo- e/ou hipocortisolismo, dificultando a interpretação dos testes diagnósticos. Algumas vezes apenas a reavaliação periódica e a longo prazo pode estabelecer o diagnóstico correto (17).

### **Diagnóstico Sindrômico**

Diante da suspeita clínica, em um primeiro momento, deve-se estabelecer o diagnóstico da SC, ou seja, a caracterização da presença ou não do estado de hipercortisolismo. Com este objetivo, os testes preconizados fundamentam-se no conhecimento da secreção normal do cortisol. Nesta situação, classicamente, tem sido utilizados a medida do cortisol livre urinário em 24 horas e o teste de supressão com 1 mg de dexametasona “overnight”. Posteriormente, para confirmar a SC, pode ser realizado o teste com baixas doses de dexametasona (2 mg ao dia por dois dias). Adicionalmente, a análise do

ritmo circadiano da secreção do cortisol, através de sua medida sérica (ou salivar) à meia-noite, tem-se constituído em uma importante ferramenta no diagnóstico da SC.

### **Avaliação Inicial : Cortisol Urinário**

A medida do cortisol livre em urina de 24 horas constitui-se em método simples de avaliação da produção do cortisol. Devemos estar atentos, porém, para os casos de coleta inadequada de urina e para a variabilidade da secreção do cortisol de um dia para o outro. Por isso, recomenda-se a dosagem concomitante da creatinina urinária e a análise de pelo menos três coletas de urina de 24 horas (18). Estes aspectos e principalmente o fato de necessitarmos de várias coletas de urina de 24 horas, causando grande transtorno para os pacientes, dificultam a utilização desta metodologia como método de triagem para a SC. Por outro lado, em algumas situações especiais, como em pacientes pediátricos, em função de não necessitarmos de coletas sanguíneas, esta abordagem pode ser útil em caracterizar o hipercortisolismo (19,20).

A coleta de urina de 24h para estimar os níveis de cortisol livre urinário tem sido amplamente utilizada como teste de triagem para o diagnóstico da SC. Recomenda-se a utilização do radioimunoensaio (RIA) ou cromatografia líquida de alta performance (HPLC) como métodos para a dosagem do cortisol urinário. Estudos recentes demonstraram uma sensibilidade e especificidade diagnóstica de 100% e 98%, respectivamente, na diferenciação da SC de indivíduos normais e obesos (3). Entretanto, os níveis de cortisol livre urinário podem permanecer normais em pacientes com SC leve e, por outro lado, podem estar elevados nas gestantes, pacientes com depressão internados, mulheres com síndrome dos ovários policísticos ou em outro estado de pseudo-Cushing, reduzindo a especificidade para 45 a 71% (6,21,22,23,24,25). HPLC e a cromatografia a gás acoplada a espectrometria de

massa são considerados os métodos de escolha devido suas maiores especificidade na medida do cortisol urinário livre. Estes dois últimos métodos permitem a separação dos vários glicocorticóides urinários e seus metabólitos, enquanto que o RIA pode ser influenciado por alguns metabólitos do cortisol e por vários glicocorticóides sintéticos (6,25). Medicamentos como digoxina e carbamazepina podem aumentar os níveis de cortisol livre urinário medidos por HPLC (3).

A sensibilidade da cortisolúria de 24 horas é de 95-100% para o diagnóstico de SC. Há relatos, no entanto, de que até 6-9% dos pacientes com SC apresentam níveis normais de cortisol urinário. A especificidade, por sua vez, da cortisolúria de 24 horas é de 94-98 % (6,10,11,13,26,27,28,29). A acurácia deste teste é, portanto, bastante adequada para a triagem diagnóstica. Cabe salientar, porém, que a maioria dos testes diagnósticos foram validados em estudos incluindo pacientes com manifestações clínicas típicas da SC, situação na qual a probabilidade pré-teste de encontrarmos um exame alterado é bastante elevada, o que já é indicativo de uma boa acurácia. Na prática clínica, ao contrário, estaremos diante de uma situação na qual a probabilidade maior é de que os pacientes não apresentarão SC, e idealmente, quando a mesma estiver presente, tratar-se-á de um caso de SC leve, caracterizado apenas por um ou alguns dos sinais clássicos. Por isso, em algumas séries mais recentes, o número de pacientes com DC que apresenta cortisolúria normal vem aumentando, chegando à 11,5% na série de Vilar et al. (30) e até 24% na série de Lin et al. (31). Adicionalmente, quando são avaliados mais pacientes com pseudo-Cushing ao invés de controles normais, a prevalência de testes alterados (cortisolúria e 1 mg de dexametasona) aumenta, reduzindo significativamente sua especificidade. Nestas situações, a especificidade reduz bastante, podendo chegar a valores em torno de 50% (25,32). Assim, nos casos de doença leve ou em uma fase inicial com poucas manifestações clínicas, a validade e os valores de referência desses testes ainda não estão bem estabelecidos (14).

### **Avaliação Inicial : Teste com 1 mg de Dexametasona “Overnight”**

Considerando-se a fisiologia do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e o “feedback” negativo que a administração exógena de glicocorticóide exerce, inibindo a secreção de CRH e ACTH, com conseqüente redução da produção de cortisol pelas adrenais, a administração de dexametasona deve suprimir os níveis de cortisol sérico de indivíduos normais. Administra-se 1 mg de dexametasona por via oral às 23 horas ou à meia-noite e dosa-se o cortisol sérico às 8 horas da manhã seguinte. Classicamente, considera-se supressão adequada a queda do cortisol sérico para valores inferiores à 5 µg/dl (2,12,18,26,29). Nos casos em que o cortisol for superior, está indicada investigação complementar para confirmação da SC.

Anteriormente, a sensibilidade e a especificidade do teste com 1 mg de dexametasona “overnight” encontravam-se em torno de 95-98% e 70-90% para o diagnóstico de SC (6,10,11,12,13,26,27,28,33). Mais recentemente, com a avaliação de pacientes com hipercortisolismo leve, estes valores de sensibilidade e especificidade foram modificados, reduzindo a acurácia do teste ao considerar o mesmo critério (supressão normal como < 5,0 µg/dl). Recentemente, tem sido preconizada uma supressão maior do cortisol para excluir a SC, visto que em casos de DC leve pode ocorrer supressão do cortisol para níveis inferiores à 5 µg/dl. Alguns autores, então, tem sugerido considerar supressão adequada valores inferiores a 3 µg/dl (2,9) ou até 1,8 µg/dl (2,3,6,18). Assim, o teste exclui com segurança a presença da SC quando o cortisol atingir níveis inferiores à 1,8 µg/dl, significando uma sensibilidade de 98-100%, porém reduzindo significativamente sua especificidade. Nestas situações, a especificidade reduz bastante, podendo chegar a valores em torno de 50% (2,6,18, 25,32). Valores entre 1,8 e 5 µg/dl indicariam a necessidade de investigação complementar. (3). Mesmo considerando níveis tão baixos como 1,8 µg/dl para supressão do cortisol, existem relatos de pacientes com DC que alcançam inclusive esta supressão (32).



O teste de supressão com 1 mg de dexametasona “overnight” tem sido utilizado na detecção da SC subclínica. Entre pacientes diabéticos do tipo 2 obesos mal controlados, Leibowitz et al. (34) identificaram 5 pacientes que não suprimiram com 1 mg de dexametasona em um grupo de 90 pacientes. Destes 5 pacientes, o diagnóstico de SC foi confirmado em 3 (1 com adenoma adrenal e 2 com DC). Catergi et al. (35) avaliaram 200 pacientes diabéticos do tipo 2, IMC  $\geq 25\text{kg/m}^2$  e hemoglobina glicada  $> 8\%$ , detectando no final da investigação diagnóstica 4 pacientes com SC (3 com DC e 1 com adenoma adrenal). Chiodini et al. (36) avaliaram 294 diabéticos tipo 2, estando a SC presente em 7% dos pacientes estudados. Recentemente, Caetano et al. (37) estudaram 103 pacientes com diabetes tipo 2 com IMC  $\geq 25\text{kg/m}^2$  e estabeleceram o diagnóstico de SC em 3 pacientes. Em todos estes estudos, a triagem foi iniciada a partir do teste de supressão com 1 mg de dexametasona “overnight”, nenhum dos pacientes apresentava quadro clínico sugestivo de hipercortisolismo e em todos os casos o tratamento da SC resultou na melhora do controle do diabetes. Neste contexto, fica evidente a utilidade do teste.

### **Teste com 2 mg de dexametasona**

Este teste tem sido utilizado há muito tempo para a confirmação diagnóstica da SC nos casos em que a cortisolúria de 24 horas e o teste com 1 mg “overnight” foram alterados. Tradicionalmente, a supressão normal ocorre quando o cortisol sérico ou a cortisolúria de 24 horas atingirem níveis inferiores à 5,0  $\mu\text{g/dl}$  e 20  $\mu\text{g}/24$  horas após 2 mg de dexametasona por dia por dois dias (0,5 mg a cada 6 horas), respectivamente. Este teste não é útil nos casos de SC grave, nos quais a cortisolúria se encontra acentuadamente elevada e o diagnóstico é inequívoco (18). Tem se demonstrado que o teste começou a apresentar falhas na medida em que o diagnóstico da SC foi se aperfeiçoando e os casos mais leves sendo

diagnosticados mais precocemente. Nota-se uma grande variabilidade na sensibilidade e especificidade relatada em vários estudos: sensibilidade de 56-69% e especificidade de 74-100%. Assim, até 15-25% dos pacientes com pseudo-Cushing não suprimem com 2 mg de dexametasona e diversos pacientes com hipercortisolismo leve devido à doença de Cushing apresentam supressão importante (inclusive para níveis indetectáveis) do cortisol urinário (2,9,10,26). Ao reduzir-se o ponto de corte para níveis de cortisol sérico de 1,8 µg/dl, aumenta-se consideravelmente a sensibilidade do teste (97-100%) (2,3,6,18). Algumas situações clínicas devem ser observadas, pois podem apresentar um resultado falso positivo (não supressão): doença psiquiátrica, alcoolismo, estresse, aumento da concentração da globulina ligadora dos corticosteróides (gestação, uso de estrógeno), resistência aos glicocorticóides, redução da absorção de dexametasona, uso de drogas como fenobarbital e fenitoína (9,18,32). Os falsos negativos podem ocorrer em pacientes com insuficiência renal crônica e hipotireoidismo (9,18,25,32). Devemos lembrar que estas situações podem também se constituir em fatores interferentes no teste de 1 mg de dexametasona.

### **Ritmo Circadiano da Secreção do Cortisol Sérico**

Considerando-se que o indivíduo normal apresenta um ritmo circadiano de secreção do cortisol, com seu nadir ocorrendo durante a noite pouco antes e durante o sono, e que esta característica é perdida na SC, a dosagem do cortisol à meia-noite representa uma importante ferramenta diagnóstica. Ou seja, os pacientes com SC não apresentam níveis baixos de cortisol perto da meia-noite. A dificuldade prática para o emprego em larga escala deste teste diagnóstico é a necessidade de internação hospitalar, já que seu uso não foi estudado adequadamente em pacientes ambulatoriais.

Em pacientes internados, Newell-Price et al. (38) demonstraram que níveis de cortisol à meia-noite acima de 1,8 µg/dl representavam uma sensibilidade de 100% para o diagnóstico de SC quando coletado com paciente dormindo. Ou seja, nenhum paciente com SC apresentou cortisol à meia-noite inferior a 1,8 µg/dl nessa situação. Por outro lado, quando Papanicolaou et al. (39) avaliaram o papel do cortisol à meia-noite no diagnóstico diferencial da SC e estados de pseudo-Cushing, constataram que níveis de cortisol acima de 7,5 µg/dl representavam uma especificidade de 100% e sensibilidade de 96%. Nenhum paciente com pseudo-Cushing apresentou cortisol superior à 7,5 µg/dl. Nesse estudo, a coleta era realizada com paciente em repouso, mas acordado.

Gorges et al. (40), ao avaliarem pacientes com SC e pacientes em que este diagnóstico tinha sido excluído, encontraram uma sensibilidade de 100% para cortisol acima de 5,07 µg/dl e especificidade de 100% para cortisol acima de 13,48 µg/dl. No estudo de Reimondo et al. (41), por sua vez, cortisol sérico  $\geq 8,3$  µg/dl coletado à meia-noite com indivíduo acordado, representou uma sensibilidade de 91,8% e especificidade de 96,4% para o diagnóstico de SC. Como observado, os critérios diagnósticos empregados são diferentes, impossibilitando um consenso relativo ao melhor ponto de corte para a acurácia do teste. De um modo geral, podemos afirmar que níveis de cortisol muito baixos excluem SC, e níveis mais elevados, especialmente acima de 7,5-10 µg/dl, são fortes indicativos deste diagnóstico. Resultados semelhantes tem sido relatados em séries utilizando o cortisol salivar à meia-noite no sentido de diferenciar SC de estados de pseudo-Cushing, com sensibilidade e especificidade semelhantes a do cortisol sérico (3,6,42,43).

É importante destacar a grande variabilidade da sensibilidade e especificidade dos testes clássicos (cortisol urinário basal e testes com 1 e 2 mg de dexametasona) encontrada na literatura. Isto se justifica pois os estudos clássicos iniciais foram baseados na análise de pacientes com SC com hipercortisolismo mais severo. A medida que os casos de

hipercortisolismo leve foram sendo diagnosticados, os valores de sensibilidade e especificidade foram se alterando e a acurácia dos testes, piorando. Por isso, alguns critérios dos testes clássicos foram reavaliados e novos testes surgiram para facilitar a identificação dos casos de DC leve com cortisolúrias normais ou discretamente elevadas que apresentavam supressão normal no teste com 2 mg de dexametasona, situação na qual poderíamos supor que o hipercortisolismo estivesse, inclusive, ausente.

### **Diagnóstico Etiológico**

Após a confirmação da SC, devemos estabelecer sua etiologia no sentido de instituir o tratamento adequado. Neste sentido, inicialmente necessitamos diferenciar os casos de SC dependentes e independentes do ACTH. Num período anterior à disponibilidade da dosagem do ACTH, o teste com altas doses de dexametasona (8 mg/dia), através da não supressão do cortisol, era utilizado para este fim. Porém, o resultado poderia diferenciar a SC de origem adrenal da DC, não diferenciando da síndrome do ACTH ectópico. Atualmente, com a disponibilidade da dosagem do ACTH tornou-se mais simples a diferenciação da SC dependente e independente do ACTH.

Existem algumas características clínicas que podem fornecer pistas a respeito do diagnóstico etiológico da SC. Os pacientes com adenoma adrenal não apresentam manifestações androgênicas como hirsutismo e acne, já que o hipercortisolismo crônico inibe a secreção de ACTH com conseqüente redução da secreção dos andrógenos adrenais, pois o adenoma costuma ser produtor exclusivo de glicocorticóides. Nos casos de carcinoma adrenal, por outro lado, é comum a produção concomitante de andrógenos adrenais, resultando em níveis acentuadamente elevados de andrógenos e geralmente com quadro de virilização. Nos casos de SC dependente de ACTH, pode ocorrer aumento moderado dos andrógenos adrenais

e sinais de hirsutismo e acne. A medida do SDHEA pode auxiliar no diagnóstico, pois nos casos de adenoma adrenal o mesmo se apresenta suprimido (níveis até mesmo indetectáveis), representando a supressão do restante da glândula decorrente do ACTH baixo. No carcinoma adrenal, o SDHEA costuma estar muito elevado, pois o tumor também produz andrógenos. E nos casos de SC dependente do ACTH, o SDHEA se apresenta normal ou elevado. O ACTH elevado também é responsável pela hiperpigmentação cutânea e de mucosas, que não está presente quando se trata de SC de origem adrenal. Pacientes com hipocalcemia severa, emagrecimento e evolução rápida do hipercortisolismo, muitas vezes sem o seu quadro “clássico”, geralmente apresentam síndrome da secreção ectópica do ACTH. Na maioria das vezes, porém, é difícil a diferenciação clínica entre DC e secreção ectópica do ACTH, especialmente nos casos de carcinóide brônquico (1,2,12).

### **Dosagem do ACTH**

A dosagem do ACTH consegue separar com grande acurácia os casos de SC de origem adrenal (ACTH independente) daqueles dependentes de ACTH. No primeiro grupo, o ACTH encontra-se suprimido (geralmente inferior a 10 pg/ml) e representa os casos de adenoma, carcinoma e as hiperplasias (macro e micronodular) das adrenais. No segundo grupo, estão a DC e as síndromes de secreção ectópica de ACTH e CRH. Na DC, o ACTH pode se apresentar normal ou elevado e na síndrome do ACTH ectópico, o ACTH geralmente está mais elevado (3,44). Porém, raramente pacientes com DC podem apresentar níveis indetectáveis de ACTH e nesses casos a medida seriada do ACTH e/ou dosagem do ACTH pós-estímulo com CRH podem ser empregados. Pacientes com DC apresentam uma resposta ao CRH com níveis de ACTH superiores a 20 pg/ml (45,46,47,48). Por outro lado, existe um grupo de pacientes com DC que apresentam grande elevação do ACTH e não podem ser

diferenciados dos casos de ACTH ectópico através da simples dosagem do ACTH em condições basais. Devemos atentar ainda para o fato dos ensaios imunorradiométricos mais modernos, que apresentam alta sensibilidade e baixo limite de detecção, não reconhecerem algumas variantes do ACTH produzidas por fontes ectópicas e subestimar os níveis de ACTH nestes casos. Curiosamente, nestas situações, os radioimunoensaios menos específicos são mais efetivos na medida destas formas circulantes de peptídeos “ACTH-like” (18). Como limitações relacionadas ao emprego da medida do ACTH, destacam-se algumas dificuldades técnicas decorrentes de sua instabilidade no plasma e sensibilidade ao calor. Por isso recomenda-se, para sua coleta adequada, o uso de seringas e tubos plásticos, mantendo os tubos em gelo e imediata centrifugação em centrífugas refrigeradas.

### **Teste com 8 mg de dexametasona**

Com o advento da dosagem do ACTH, este teste tem se tornado importante nos casos de SC dependente de ACTH, com o objetivo de diferenciar as duas principais causas : DC e ACTH ectópico. Teoricamente, o adenoma hipofisário produtor de ACTH ainda apresenta algum grau de supressão pelo glicocorticóide, que se administrado em doses mais altas, pode suprimir os níveis séricos e urinários do cortisol. O teste consiste na administração de 8 mg de dexametasona ao dia por dois dias (2 mg a cada 6 horas). A queda do cortisol sérico ou urinário para níveis inferiores à 50% dos valores basais foi considerado tradicionalmente como critério de supressão e indicativo de SC de origem hipofisária (2,3,9,12,13,18,29).

O teste com altas doses de dexametasona apresenta sensibilidade de 60-100% e especificidade de 65-100% para diferenciar DC da síndrome do ACTH ectópico (3,10,26,29,49). Foram documentados, porém, vários casos de DC (10-20%) que não

suprimem e aproximadamente 20-30% dos pacientes com síndrome do ACTH ectópico apresentam supressão dos níveis de cortisol urinário superior a 50% dos valores basais, sendo que nos casos de carcinóide brônquico este índice pode atingir até 50% (26,49). Por outro lado, quando se considera supressão uma redução do cortisol urinário maior que 90% da cortisolúria basal, a especificidade atinge até 100% (2,6,10). Flack et al. (50) avaliaram a dosagem de cortisol urinário livre e a excreção de 17-hidroxiesteróides no teste de supressão com altas doses de dexametasona no diagnóstico diferencial da SC. Neste estudo, foi observada uma supressão do cortisol urinário livre maior que 90% e uma redução da excreção de 17-hidroxiesteróides maior que 64%, avaliadas isoladamente, significando uma especificidade de 100% e uma sensibilidade de 69 % no diagnóstico de DC. Quando estes dois parâmetros foram analisados em associação, considerando como indicativo de DC um ou outro, a sensibilidade aumentou para 83%, sugerindo que a dosagem da cortisolúria e da excreção de 17-hidroxiesteróides ao mesmo tempo aumenta a acurácia do teste. Por outro lado, no estudo de Aron et al. (49) não foi encontrado um ponto de corte que permita uma especificidade de 100%, e os autores, inclusive, sugerem o abandono desse teste, já que a sua acurácia (em torno de 70-80%) é menor que a probabilidade pré-teste de DC (geralmente em torno de 90%).

Como alternativa ao teste clássico com altas doses de dexametasona, a supressão com 8 mg “overnight” tem sido adotada em alguns centros. Dichek et al. (51) demonstraram uma acurácia semelhante entre o teste clássico e o “overnight” considerando supressão uma redução de 68% ou mais nos níveis de cortisol sérico. Além disso, se utilizados ambos os testes combinados, a sensibilidade e a especificidade aumentam para 91% e 100%, respectivamente.

Recentemente, Isidori et al. (52) compararam a performance dos testes com baixas (2 mg) e altas doses (8 mg) de dexametasona na diferenciação de DC do ACTH

ectópico. Constataram que na maioria dos casos a informação obtida com o testes de altas doses pode ser predita com o de baixas doses. Assim, uma supressão do cortisol sérico maior que 30% no teste com baixas doses, invariavelmente estava associada a uma supressão maior que 50% no de altas doses. Por isso e por todas as limitações do teste com altas doses de dexametasona, muitos autores têm sugerido o abandono deste teste, já que fornecem poucas informações para o diagnóstico diferencial da SC ACTH-dependente (3,44,52).

### **Exames de Imagem**

As técnicas de imagem são utilizadas para a localização dos diversos tumores seja hipofisários, adrenais ou tumores que causam produção ectópica do ACTH. Considerando que a maioria dos tumores hipofisários produtores de ACTH são pequenos, o índice de imagem hipofisária normal em paciente com DC pode chegar à 40-50% (18), mesmo utilizando-se a Ressonância Magnética (RM) e o gadolínio como contraste. Outro fator de confusão é a presença de incidentalomas hipofisários em um número significativo de pessoas normais (53). Aproximadamente 5% dos microadenomas produtores de ACTH podem captar o gadolínio, tornando-se iso-intenso em relação à hipófise normal na fase pós-contraste. Por isso, deve-se sempre estar atento à fase sem contraste, onde o tumor deve apresentar uma intensidade menor que a hipófise normal (3).

Em relação à adrenal, os exames de imagem de pacientes com SC dependente de ACTH podem demonstrar adrenais com aumento bilateral, eventualmente aumento assimétrico podendo sugerir comprometimento unilateral da glândula e, em alguns casos, adrenais normais. Por isso, o exame de imagem deve ser o último procedimento a ser realizado, após a avaliação endocrinológica indicar a fonte do hipercortisolismo. Quando a avaliação indica causa adrenal, a Tomografia Computadorizada (TC) ou a RM das adrenais



confirma o diagnóstico, facilmente localiza a(s) massa(s) adrenal(ais) e é útil na diferenciação das lesões benignas e malignas (18,53,54). Em até 30% dos pacientes com DC as adrenais podem estar normais, enquanto que em virtualmente todos os casos de síndrome do ACTH ectópico estão aumentadas homogeneamente (44)

Quando a suspeita é de secreção ectópica de ACTH, inicialmente realiza-se TC de alta resolução ou RM do tórax e abdômen, especialmente a procura de tumores carcinóides. Se esta investigação for negativa, pode-se realizar cintilografia com pentreotide marcado com indio111 ( “Octreoscan” ), já que a maioria desses tumores tem origem neuroendócrina e devem apresentar alta expressão de receptores de somatostatina (55). O octreoscan apresenta uma sensibilidade de aproximadamente 70% para detectar carcinóides brônquicos maiores que 5 mm, sendo essa sensibilidade maior para detecção de tumores carcinóides do trato gastro-intestinal (56). O uso do PET-scan não apresentou benefício adicional para detecção de tumores ectópicos produtores de ACTH em uma pequena série de 17 pacientes (57). Mesmo com todo este arsenal diagnóstico e após ampla investigação, em 5-15% dos casos a fonte de produção do ACTH permanece oculta. Com o tempo e a repetição dos exames, alguns tumores acabam sendo encontrados, porém pode levar até 20 anos para o diagnóstico final (44).

### **Dificuldades Diagnósticas com Testes Clássicos**

Na prática clínica, nos deparamos com algumas dificuldades que os testes clássicos não são capazes de solucionar, incluindo-se os casos de DC leve, DC com imagem hipofisária normal e casos de síndrome do ACTH ectópico que suprimem com 8 mg de dexametasona.

Muitas vezes, os pacientes com DC leve não apresentam estigmas clássicos da SC e podem ser confundidos com pacientes diabéticos, com obesidade centrípeta, ou hipertensos com características da síndrome de resistência insulínica e com estados que podemos denominar de pseudo-Cushing (obesidade, depressão, alcoolismo, síndrome de ovários policísticos). Estados de pseudo-Cushing podem ser definidos pela presença de um fenótipo clínico similar ao da SC verdadeira associada a alguma evidência de hipercortisolismo (58). É importante ressaltar que em vários casos de anorexia nervosa, depressão maior e/ou alcoolismo, são encontradas alterações laboratoriais que caracterizam hipercortisolismo, porém o fenótipo pode ser completamente diferente dos pacientes com SC e, por isso, na prática clínica esses casos não representam dificuldade diagnóstica. Por outro lado, pacientes obesos, diabéticos, hipertensos, com acúmulo de gordura abdominal, sinais de hiperandrogenismo (síndrome dos ovários policísticos nas mulheres), portadores de síndrome metabólica, acabam apresentando um fenótipo muito parecido com o da SC e representam uma dificuldade no diagnóstico diferencial. Além disso, nos casos em que um ou mais testes de triagem para SC apresentam resultados alterados, esses pacientes passam a apresentar um verdadeiro desafio diagnóstico, já que apresentam manifestações clínicas e alterações laboratoriais sobreponíveis à SC, especialmente ao considerar pacientes com DC leve. Neste contexto, o paciente com DC leve pode apresentar cortisolúria normal e supressão com 2mg de dexametasona. Por outro lado, existe o obeso hipertenso e diabético com cortisolúria discretamente elevada e que não suprime adequadamente com 1 mg de dexametasona “overnight”. Nestas situações, a avaliação do ritmo circadiano do cortisol (dosagem do cortisol à meia-noite) e a resposta do ACTH no teste do DDAVP tem sido utilizados. Assim sendo, a diferenciação de pacientes com DC leve com aqueles com pseudo-Cushing, é muito complicada, podendo ser necessário um período de observação prolongado até a definição diagnóstica, já que nos pacientes com pseudo-Cushing não ocorre evolução do quadro clínico.

Considerando que em alguns centros até 40-50% dos pacientes com DC apresentam imagem hipofisária normal, não é raro o caso de hipercortisolismo cujos testes clássicos são duvidosos e a imagem é normal. Neste contexto, chamamos atenção para dois tipos de pacientes: aqueles com DC leve e pacientes com DC mais severa, com teste de supressão com 8 mg cujo resultado é discutível, tornando-se difícil a diferenciação do ACTH ectópico. Nesta última situação, também pode ser utilizado o teste do DDAVP ou CRH e, especialmente, o cateterismo seletivo bilateral do seio petroso inferior (com estímulo pelo DDAVP ou CRH).

### **Cateterismo do Seio Petroso Inferior Bilateral (CSPI)**

O diagnóstico diferencial entre DC e síndrome da secreção ectópica de ACTH é frequentemente um desafio, visto que os testes endocrinológicos dinâmicos e/ou exames de imagem podem não ser conclusivos. Diversos autores (3,54,59,60,61,62,63,64) têm considerado a coleta de sangue diretamente do seio petroso inferior para dosagem de ACTH como o teste mais acurado para estabelecer este diagnóstico diferencial. Para este procedimento, deve-se coletar simultaneamente amostras sanguíneas diretamente dos seios petrosos inferior esquerdo e direito e de uma veia periférica. A utilização de estímulo para secreção do ACTH através da administração do CRH ou do DDAVP aumenta ainda mais a acurácia do teste. Uma razão central para periferia no basal maior igual a 2 ou após estímulo maior igual a 3 é bastante sugestiva de DC. Em centros experientes, a sensibilidade e a especificidade deste teste diagnóstico pode chegar muito perto de 100%. Sua indicação ainda é controversa, especialmente por se tratar de um método invasivo, porém sempre deve ser considerada a experiência local na realização do procedimento, uma vez que em mãos

experientes o cateterismo é seguro e complicações graves (isquemia do tronco cerebral, trombose jugular ou femoral e embolia pulmonar) raramente ocorrem.

Alguns recomendam o CSPI como procedimento de rotina para diferenciar DC da secreção ectópica do ACTH (60,61,64), especialmente nos casos de imagem hipofisária duvidosa (62,65). Outros sugerem que este procedimento só deve ser realizado se os testes não invasivos (supressão com altas doses de dexametasona e testes do CRH ou DDAVP) forem inconclusivos (59,66). Embora o uso seletivo do CSPI nos pacientes com resultados inconclusivos nos testes dinâmicos pareça ser uma abordagem bastante racional, sua acurácia neste subgrupo de pacientes ainda não está definida. Invitti et al. (67) relataram os resultados de uma revisão retrospectiva de 21 pacientes com resultados equivocados nos testes com altas doses de dexametasona e ou no teste do CRH. Nestes pacientes, a sensibilidade e a acurácia diagnóstica do teste foram de 76% e 77% antes da administração do CRH, e de 76% e 81% após estímulo, respectivamente. Uma revisão das maiores séries publicadas avaliando os resultados do CSPI bilateral revelou uma sensibilidade de 96% e especificidade de 100% para o diagnóstico de DC quando aplicado o critério da relação ACTH central/periferia superior à 2 (basal) e superior à 3 (pós-estímulo com CRH) (3). Em uma série com 128 pacientes com SC ACTH-dependente, uma razão ACTH central/periferia maior que 2 obtida 5 minutos após administração do CRH mostrou sensibilidade de 97% e especificidade de 100% para o diagnóstico de DC. Apenas 2 pacientes com SC ativa e com comprovação histológica de DC apresentaram resultado falso negativo (3). Resultados falso-positivos são extremamente raros e podem ocorrer nos casos de SC cíclica ou durante o uso de agentes que reduzem a secreção de cortisol, já que ao reduzirem efetivamente os níveis de cortisol sérico podem dessuprimir o corticotrofo normal e, então, ocorrendo resposta ao CRH (6,68). Machado et al. (69) avaliaram a estimulação com DDAVP durante o CSPI bilateral e constataram que pode ser uma ótima alternativa ao uso do CRH. Foram avaliados 56 pacientes (5 ACTH ectópico e 51

DC). O gradiente de ACTH central/periferia não foi encontrado em nenhum dos casos de ACTH ectópico e foi constatado em 47 dos 51 pacientes com DC. Não houve falso-positivo, a sensibilidade foi de 92,1% e a especificidade de 100%.

A causa mais comum de falso-negativo no CSPI bilateral é a incapacidade de colocar o cateter no local correto para a coleta das amostras. Nesta situação, um paciente portador de DC não apresentará o gradiente do ACTH central-periferia, caracterizando um falso-negativo. Para certificar-se da coleta adequada das amostras, além da análise criteriosa da localização do cateter por angiografia, podem ser utilizadas as dosagens de outros hormônios hipofisários. Por exemplo, durante o CSPI bilateral um gradiente central-periferia dos níveis de prolactina próximo a 1, sugere cateterização inadequada e se o resultado das dosagens do ACTH apontar para síndrome do ACTH ectópico, pode representar um falso-negativo. Porém a utilidade da dosagem basal de outros hormônios hipofisários para aumentar a sensibilidade do CSPI bilateral ainda não está bem estabelecida, sendo necessários mais estudos para validar esta abordagem (44).

Em relação à capacidade de prever a lateralização do microadenoma, Lefournier et al. (70) observaram uma acurácia de apenas 57%. Este índice aumenta para 71% se a posição do cateter e a venografia são simétricos. Assim, a realização do cateterismo é importante para diferenciar a origem da secreção do ACTH (hipofisária vs ectópica), mas não para definir a localização do microadenoma na DC.

Devido à raridade da síndrome do ACTH ectópico em crianças, o CSPI muitas vezes é indicado para demonstrar a lateralização da secreção do ACTH. Em mãos experientes, este procedimento tem um valor preditivo positivo para lateralização de 75-80% na população pediátrica (71,72). Na série de Chan et al (71) foram avaliados 24 pacientes e a lateralização foi observada em 79% dos pacientes. Na série de Batista et al. (73), por sua vez, foram estudados 94 pacientes e a concordância entre a lateralização e os achados cirúrgicos foi de

apenas 58%. No entanto, a correlação aumentou para 70% quando foram excluídos 18 casos em que o adenoma estava centralizado e 4 casos de lesões bilaterais.

### **Teste do DDAVP**

O teste da desmopressina (DDAVP) tem sido utilizado para diferenciar a DC da síndrome do ACTH ectópico de acordo com a resposta do cortisol e, especialmente, do ACTH à sua administração endovenosa. O DDAVP é um análogo da vasopressina, que não possui efeito hipertensivo. Apresenta alta afinidade aos receptores V2 renais e pouca aos receptores V1. DDAVP parece não apresentar propriedade de liberar ACTH em indivíduos normais, mas causa liberação do ACTH e cortisol na maioria dos pacientes com DC. Esta propriedade ocorre através da sua ação nos receptores V1b (V3) que estão regulados para cima (“upregulated”) nos tumores hipofisários produtores de ACTH (74,75,76). A presença de um número maior de receptores V3 no adenoma produtor de ACTH em relação à hipófise normal, então, justificaria um maior aumento dos níveis de ACTH após administração do DDAVP. O critério tradicionalmente usado seria de aumento superior à 50% em relação aos níveis basais de ACTH. Porém, posteriormente foi documentada a presença de receptores V3 em tumores carcinóides produtores de ACTH, justificando a resposta positiva no teste do DDAVP em alguns pacientes com síndrome da secreção ectópica do ACTH.

Dahia et al. (77) detectaram uma maior expressão dos receptores V3 nos tumores hipofisários secretores de ACTH, porém não encontraram mutações no gene do receptor V3. O DDAVP apresenta vantagem em relação a outros análogos da vasopressina (arginina vasopressina e lisina vasopressina) pois estes atuam em receptores V1b (V3), causando efeitos adversos decorrentes de sua ação nesses receptores presentes em outros locais (dor abdominal, náusea , flushing). Estes efeitos raramente ocorrem com o uso do

DDAVP já que este atua nos receptores V3 apenas quando eles estão regulados para cima (74,75,76). Malerbi et al. (78) estudaram a resposta do cortisol ao DDAVP em 31 pacientes com SC. Desses, 16 apresentavam DC, sendo que 15 deles apresentaram elevação do cortisol significativa, o que não ocorreu nos pacientes com tumores adrenais ou com síndrome do ACTH ectópico. No estudo de Colombo et al. (79) foram avaliadas as respostas do ACTH e cortisol ao DDAVP e ao CRH. Dos 16 pacientes com DC por microadenoma hipofisário, detectaram-se respostas a ambos os peptídios em 11 pacientes, outros 2 responderam apenas ao DDAVP e 2 apenas ao CRH. Não houve resposta em nenhum dos indivíduos normais nem do paciente com síndrome do ACTH ectópico ao DDAVP. Por outro lado, Arlt et al. (80) relataram um paciente com SC por produção ectópica de ACTH, portador de carcinóide brônquico, cujo cortisol e ACTH elevaram-se 42 e 47% respectivamente após administração de DDAVP. Detectaram também a expressão dos receptores V2 e V3 no tumor carcinóide. Porém, a magnitude do aumento do cortisol e ACTH, especialmente este último, foi menor que a comumente observada na DC. Em oposição a estes resultados, recentemente Tsagarakis et al. (81) observaram resposta positiva ao teste do DDAVP em 3 dos 5 pacientes com síndrome do ACTH ectópico estudados e em 4 deles foi demonstrada a presença de receptores V2. Devido a essa sobreposição de resposta, concluíram que este teste tem valor limitado no diagnóstico diferencial da DC com síndrome do ACTH ectópico.

Adicionalmente, o teste poderia ser utilizado no diagnóstico diferencial da DC com pseudo-Cushing ou pacientes com suspeita clínica de SC, mas sem hipercortisolismo patológico. Este procedimento seria importante especialmente quando se trata de pacientes com DC leve, já que muitas vezes os testes clássicos são negativos numa fase precoce da doença e, nestes casos, a ocorrência de síndrome da secreção ectópica do ACTH se torna remota. Malerbi et al. (82) evidenciaram respostas diferentes do cortisol e do ACTH ao DDAVP em pacientes com DC em relação a controles normais e pacientes com depressão.

Neste estudo, o menor percentual do incremento do cortisol foi de 53% no grupo de pacientes com DC e o maior percentual foi de 48% e 42% nos grupos de controles normais e de deprimidos, respectivamente. Moro et al. (83), por sua vez, avaliaram a acurácia de vários testes diagnósticos, inclusive do DDAVP, no diagnóstico diferencial da DC leve e pseudo-Cushing, concluindo que o teste tem um melhor desempenho quando se adota o critério de aumento absoluto do ACTH após o DDAVP (30 pg/ml) ao invés do critério habitual de aumento de 50%. Neste contexto, a sensibilidade seria de 90% e a especificidade de 96,7%. Mais recentemente, Giraldi et al. (84) avaliaram o teste do CRH pós-supressão com dexametasona e o teste do DDAVP no diagnóstico diferencial da SC dos estados de pseudo-Cushing. Foram avaliados retrospectivamente 32 pacientes com SC e 23 pacientes com pseudo-Cushing. Cabe ressaltar que o critério adotado para resposta ao teste do DDAVP também foi o aumento absoluto do ACTH, e não o aumento percentual, obtendo-se uma sensibilidade de 81,5% e especificidade de 90%. Para o teste do CRH pós-dexametasona, por sua vez, a sensibilidade foi de 100%, porém às custas de uma especificidade relativamente baixa (62,5%). Assim, concluíram que nenhum desses testes garante uma acurácia diagnóstica absoluta, podendo ocorrer falsos resultados em qualquer um deles. As principais informações diagnósticas são derivadas da ausência da resposta do cortisol ao CRH após a supressão com dexametasona em doses baixas, que exclui o diagnóstico de SC, e da resposta positiva do ACTH ao DDAVP, que praticamente confirma o diagnóstico de DC.

Como observado, ainda não há unanimidade quanto ao uso do teste do DDAVP na avaliação diagnóstica da SC, sendo alguns resultados bastante conflitantes, não estando bem estabelecido também o critério de resposta a ser utilizado. Parece, no entanto, que o seu papel é mais importante no diagnóstico diferencial da DC leve com os estados de pseudo-Cushing (ou pacientes com suspeita de SC) do que no diagnóstico diferencial entre DC e síndrome do ACTH ectópico (83,84)



## **Outros Testes**

Outros testes também têm sido relatados, tanto para o diagnóstico da SC quanto para o estabelecimento de sua etiologia. Esses testes também podem fornecer informações adicionais bastante úteis na avaliação diagnóstica dos casos considerados mais complexos e de difícil esclarecimento.

Para o diagnóstico da SC, podemos citar a dosagem de cortisol salivar pós 1mg de dexametasona “overnight” e sua dosagem à meia-noite, o teste da loperamida e hipoglicemia insulínica, bem como o teste com 2 mg dexta (dois dias) seguido pelo estímulo com CRH. O teste do CRH isoladamente ou em conjunto com o teste do DDAVP, pode auxiliar no diagnóstico diferencial da DC e ACTH ectópico (3,6,14,85).

## **Cortisol Salivar**

A medida do cortisol na saliva no final da noite permite uma avaliação simples e viável do seu ritmo circadiano, identificando ainda a grande maioria dos pacientes com SC (25,86). Castro et al. (87) demonstraram que os níveis de cortisol salivar coletados às 23h e os de uma amostra de saliva coletada às 9h da manhã seguinte após uso de 1mg de dexametasona apresentam uma sensibilidade de 100% e especificidade de 94,1% no diagnóstico da SC. Mais recentemente, Papanicolaou et al. (42) demonstraram que o cortisol salivar coletado ao deitar é um teste de “screening” acurado e prático para o diagnóstico da SC. A medida do cortisol salivar à meia-noite pode ser recomendada como um dos testes diagnósticos iniciais, apresentando sensibilidade e especificidade entre 94-98% (25). A dosagem do cortisol salivar por radioimunoensaio, método utilizado na maioria dos estudos publicados até o momento,

confirma o diagnóstico de SC para níveis superiores à 350 ng/dl e, por sua vez, praticamente exclui o diagnóstico nos casos de níveis inferiores à 150 ng/dl (43,85). Esta metodologia apresentaria a vantagem de poder ser realizada em nível ambulatorial e não apresentar o potencial estresse da coleta de sangue, algumas vezes presente e motivo de pequena elevação do cortisol sérico. Como desvantagem, necessita da implementação de metodologia específica para dosagem salivar.

### **Teste do CRH pós-dexametasona**

O teste com baixas doses de dexametasona seguido pelo estímulo com CRH na manhã seguinte pode ser utilizado para diferenciar SC dos estados de pseudo-Cushing, com uma sensibilidade e especificidade de 100 % quando o cortisol atingir níveis superiores à 1,4 µg/dl 15 minutos após administração de CRH (24). Este teste também consegue diferenciar adequadamente os pacientes com DC leve dos indivíduos normais (88). Como discutido anteriormente, no estudo de Giraldi et al. (84) a especificidade encontrada do teste para diferenciar DC de pseudo-Cushing foi de apenas 62,5%, bem menor que a relatada em outros estudos, mostrando que muitos pacientes com pseudo-Cushing podem responder ao teste.

## Teste do CRH

A hipófise normal, bem como os adenomas hipofisários produtores de ACTH, expressam receptores para o CRH e apresentam um aumento acentuado nos níveis de ACTH após administração endovenosa do CRH (tanto humano quanto ovino) (45,85,89). Tumores não hipofisários produtores de ACTH, por sua vez, geralmente não expressam receptores para ACTH e, por isso, o teste do CRH é não responsivo (21,45). Assim sendo, o teste do CRH é uma importante ferramenta diagnóstica na diferenciação da DC da síndrome do ACTH ectópico. Após administração endovenosa de 100 mcg do CRH, um pico do cortisol gerando um aumento maior que 14% e 20% em relação ao basal representa uma sensibilidade e especificidade diagnóstica de 70-93% e 95-100% , respectivamente (45).

A maioria dos pacientes com DC apresenta resposta positiva ao teste do CRH, enquanto que nos casos de síndrome do ACTH ectópico esta resposta geralmente não ocorre. Um aumento do ACTH superior a 35% representa uma sensibilidade e especificidade de 93% e 100% para o diagnóstico de DC, visto que tumores que causam síndrome do ACTH ectópico não expressam receptores para o CRH (18,90). Keye e Crapo (91) sugerem um critério de aumento de 50% do ACTH no teste do CRH, significando sensibilidade de 86% e especificidade de 95%. Estes resultados foram baseados em testes com o CRH ovino. Borges et al. (92) evidenciaram aumento significativo do ACTH após administração do CRH ovino em 2 casos de síndrome do ACTH ectópico, demonstrando que o teste não é positivo apenas nos pacientes com DC. A primeira grande série avaliando o teste com CRH humano foi descrita recentemente por Newell-Price et al. (93). Neste estudo, a resposta do cortisol ao CRH humano foi mais útil que a do ACTH, apresentando sensibilidade e especificidade de 85% e 100% para o primeiro e 70% e 100% para o último. Esta especificidade de 100% foi

obtida com critérios de aumento do cortisol de 14% (considerando a média nos tempos 15 e 30 minutos) e aumento máximo do ACTH de 105% em relação ao basal.

No que se refere ao uso do teste do CRH em conjunto com DDAVP para diferenciar DC da síndrome do ACTH ectópico, inicialmente, Newell-Price et al. (74) conseguiram diferenciar os dois grupos de pacientes com o uso combinado desses dois testes. Porém, Tsagarakis et al. (81) encontraram resultados diferentes, com alguma sobreposição de respostas aos testes nos dois grupos.

### **Teste da Loperamida**

A loperamida é um agonista opióide que tem sido utilizado em alguns poucos estudos e relatos para o diagnóstico diferencial entre SC e estados de pseudo-Cushing. O teste consiste na administração oral de 16 mg da loperamida às 8h e dosagem do cortisol sérico 3,5h após. A loperamida provoca inibição do CRH e, conseqüentemente, supressão dos níveis de ACTH e cortisol em indivíduos normais (cortisol <5 µg/dl), o que não é observado em portadores de SC. Na avaliação de dados de vários relatos do uso deste teste, totalizando 49 pacientes com SC e 138 indivíduos normais ou com pseudo-Cushing, o teste apresentou uma sensibilidade de 100% e especificidade de 93% para o diagnóstico de SC (6,58).

## **Hipoglicemia Insulínica**

A administração de 0,1U/kg de insulina regular endovenosa para dosagem de glicemia, ACTH e cortisol pode ser utilizada para diferenciar pacientes com SC de pseudo-Cushing. Neste último grupo, ocorre uma resposta do cortisol intacta à hipoglicemia, enquanto que nos pacientes com SC geralmente não ocorrem aumento do ACTH e cortisol com a hipoglicemia. Cabe salientar que aproximadamente 18% dos portadores de SC podem apresentar uma resposta normal neste teste (6,58).

## **Causas raras de Síndrome de Cushing**

Nos casos em que observamos adrenais normais ou nodulares e ACTH suprimido, o diagnóstico a ser considerado é a hiperplasia primária, micronodular ou macronodular. Na hiperplasia (ou displasia) micronodular pigmentada primária (“primary pigmented adrenocortical disease” - PPAND ) deve-se buscar a presença ou não de história familiar e da associação com o complexo de Carney. Complexo de Carney, presente em aproximadamente 20% dos pacientes com PPAND, é um distúrbio autossômico dominante de tumores multicêntrico em muitos órgãos (94,95,96). As manifestações patológicas envolvem a pele (80% dos casos com lesões pigmentadas, mixomas cutâneos ou ambos), mixomas cardíacos (72%), PPAND (45%), lesões de mamas (45%), tumores hipofisários (10-20%, geralmente adenomas produtores de GH), e lesões em nervos periféricos. Nos homens, tumores testiculares ocorrem em 56% dos casos (94,97).

Na hiperplasia macronodular, podemos avaliar a presença de receptores anômalos (aberrantes) através de um conjunto de testes funcionais que incluem alimentos, vasopressina, LH, HCG, catecolaminas, serotonina e outros, conforme sugerido pelo grupo

de Lacroix (98). Nestes raros casos, a presença de receptores aberrantes resultam no aumento do AMP cíclico e liberação de cortisol estimulado por substâncias que se ligam a estes receptores aberrantes, sendo a principal o polipeptídeo inibitório gastrointestinal (GIP), constituindo uma causa de SC ACTH-independente (99,100,101). Como o GIP aumenta após as refeições, a SC induzida por alimentos caracteristicamente está associada a uma liberação inapropriada de cortisol pós-prandial com baixos níveis de cortisol em jejum (no início da manhã) (100,101,102,103,104). A hiperplasia adrenal macronodular também pode estar associada a vários graus de autonomia adrenal, talvez decorrentes inicialmente de uma hipersecreção de ACTH que evolui para um estado de autonomia adrenal de graus variados (94,105).

### **Considerações Finais**

A SC inclui distúrbios heterogêneos com diferentes etiologias, cujo diagnóstico é frequentemente complexo. O advento dos novos testes tem permitido cada vez mais seu diagnóstico precoce, ao mesmo tempo em que os testes clássicos vão perdendo acurácia e utilidade. Os novos testes, por outro lado, ainda não apresentam critérios uniformes de interpretação, com resultados conflitantes quando comparamos os diferentes estudos da literatura. Em decorrência destes diversos aspectos, a investigação de pacientes com SC continua controversa. Em nosso meio e na prática clínica, a situação que mais frequentemente gera dúvidas e dificuldades é a diferenciação de casos de DC leve de pacientes com pseudo-Cushing ou com suspeita clínica da SC, mas que na realidade não apresentam o distúrbio. Nesse contexto, torna-se importante a avaliação do ritmo circadiano do cortisol e o teste do DDAVP, que geralmente permitem a diferenciação destas situações. Em relação ao diagnóstico diferencial da SC dependente do ACTH, deve-se utilizar em conjunto os

resultados dos testes com altas doses de dexametasona e do DDAVP, sendo realizado o CSPI nos casos duvidosos com imagem hipofisária negativa.

Desta forma, sugerimos que a triagem de SC em pacientes suspeitos deva ser realizada pelo cortisol pós 1 mg de dexametasona (figura 1), em pacientes sem fatores interferentes conhecidos (anticoncepcional oral, reposição hormonal, uso de anticonvulsivantes, depressão, etc). Se o paciente apresentar supressão para valores menores que 1,8 µg/dl, a SC está excluída. Se o cortisol situar-se entre 1,8 µg/dl e 5 µg/dl, a SC deverá ser definitivamente excluída através da dosagem do cortisol livre urinário em 24 horas e, posteriormente, dosagem do cortisol à meia noite. Se disponível, o cortisol salivar colhido à meia noite pode também ser utilizado. Nos casos de cortisol acima de 5,0 µg/dl, especialmente com cortisolúrias de 24 horas discretamente elevadas, avaliação complementar para confirmar a SC é obrigatória. Em pacientes com quadro clínico exuberante, podemos realizar apenas a coleta de cortisolúrias de 24 horas, cujos valores maiores do que 300 µg confirmam a SC. O teste com 2 mg de dexametasona pode ser dispensado na grande maioria dos pacientes, podendo ser útil apenas em pacientes com DC leve, nos quais observamos cortisol à meia noite elevado, e eventualmente valores normais ou pouco elevados de cortisolúria de 24 horas. Nesta situação, a presença de supressão pode ser sugestiva da DC, sugerindo a utilidade do teste para o diagnóstico etiológico da síndrome.

O teste do DDAVP também pode ser utilizado para diferenciar DC leve de pseudo-Cushing. Na presença do diagnóstico sindrômico, analisa-se o ACTH basal e sua resposta ao estímulo com DDAVP, e os níveis de SDHEA. Nos pacientes com ACTH indetectável e não responsivo ao DDAVP, e com SDHEA diminuído, caracteriza-se a suspeita de envolvimento adrenal, que deve ser confirmada através da TC de adrenais. Uma vez caracterizada a origem adrenal da SC o tratamento recomendado é a adrenalectomia, uni ou bilateral.

Demonstrando-se ACTH normal ou elevado responsivo ao DDAVP, devemos buscar a fonte hipofisária do distúrbio através da RM com gadolínio, que demonstrará a presença de microadenoma na maioria dos pacientes. Atualmente, o teste com altas doses de dexametasona não tem sido utilizado rotineiramente, ficando restrito a casos específicos, especialmente na impossibilidade de realizar-se o CSPI bilateral. A indicação deste último, fica ainda mais evidente nos pacientes com imagem negativa, especialmente quando os testes com DDAVP ou CRH forem inconclusivos. Nos casos em que o CSPI não sugere a origem hipofisária, TC e/ou RM de tórax e abdômen, além das endoscopias dos sistemas respiratório e gastrointestinal, poderão identificar os tumores de origem ectópica. Eventualmente, indica-se a realização da cintilografia com análogos da somatostatina, tentando detectar locais com receptores somatostatinérgicos tumorais. Demonstrando-se qualquer das possíveis etiologias, o tratamento cirúrgico está indicado. Como observado, na grande maioria dos casos, é a interpretação de um conjunto de exames funcionais e de imagem em um determinado contexto clínico que indicará o diagnóstico final, não devendo supervalorizar-se um único teste ou exame realizado.

Considerando a complexidade da SC, as dificuldades acerca do seu diagnóstico em muitos casos, os diferentes critérios utilizados nos diferentes centros em relação a alguns testes, frequentemente não podemos simplificar a sua abordagem diagnóstica, necessitando inclusive de procedimentos mais sofisticados e a realização de vários testes funcionais. A simplificação da avaliação diagnóstica da SC, especialmente quando nos deparamos com casos atípicos, costuma levar a conclusões e diagnósticos equivocados. Em todos os pacientes com SC devemos, portanto, adotar um raciocínio lógico e padronizar alguns aspectos de sua abordagem, obtendo assim informações consistentes a respeito do seu distúrbio hormonal que, independente da etiologia, fortalecem o diagnóstico e tornam possível sua identificação mais precoce.



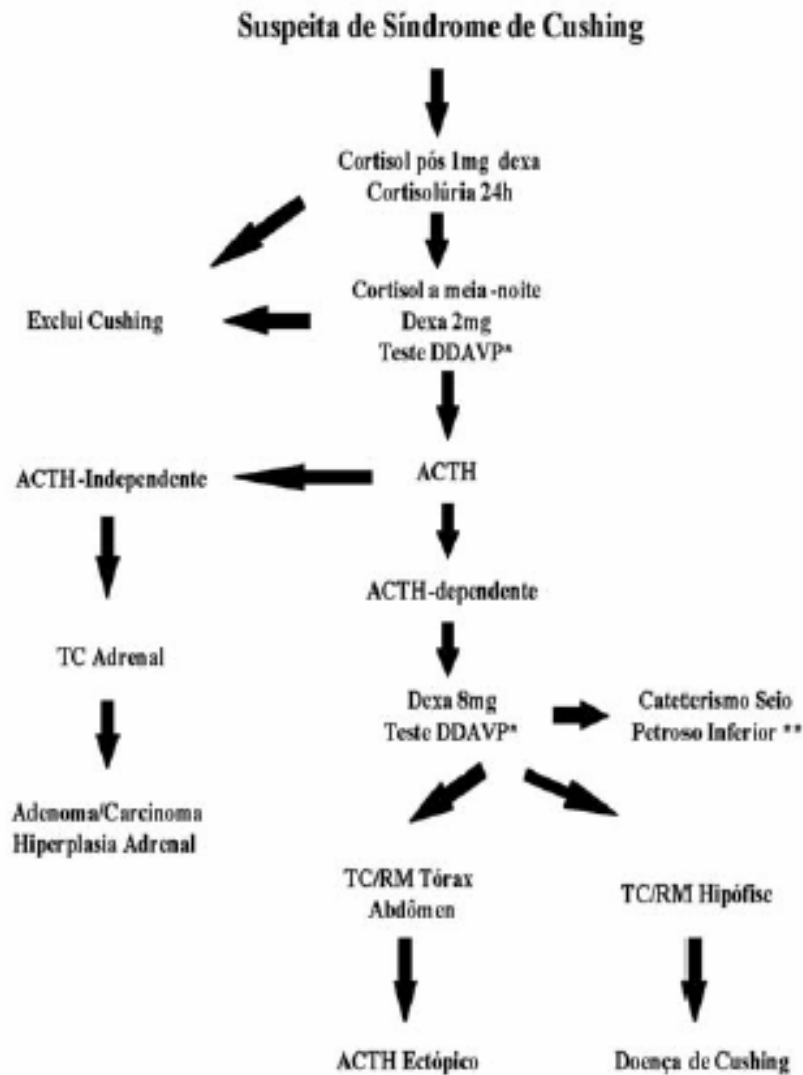


Figura 1. Avaliação Diagnóstica na Suspeita de Síndrome de Cushing.

\*(1) os testes de supressão com 2 e 8 mg tem sido cada vez menos utilizados, especialmente quando os outros testes já apontam para um diagnóstico inequívoco; (2) resposta do ACTH ao DDAVP utilizada especialmente para diferenciar doença de Cushing de pseudo-Cushing; podendo ser útil no diagnóstico diferencial entre doença de Cushing e síndrome do ACTH ectópico.

\*\*utilizado especialmente nos casos em que os testes funcionais são inconclusivos com imagem hipofisária normal ou duvidosa.

## **JUSTIFICATIVA**

A partir desta revisão da literatura sobre o diagnóstico da SC, bem como dos aspectos controversos e das dificuldades do diagnóstico diferencial, pode-se perceber que na prática clínica a maior e mais comum dificuldade diagnóstica consiste na diferenciação entre pacientes com pseudo-Cushing e DC, especialmente nos casos de hipercortisolismo leve. Nestas situações, os resultados dos testes hormonais muitas vezes são inconclusivos, podendo estar discretamente alterados nos casos de pseudo-Cushing, bem como no limite superior da normalidade nos pacientes com DC leve. A confirmação bioquímica definitiva pode ser difícil, obrigando a realização de vários testes e, muitas vezes, de modo repetitivo.

Clinicamente, a diferenciação entre DC leve e estados de pseudo-Cushing pode ser impossível. Considerando o crescimento da obesidade com consequente maior prevalência dos aspectos da síndrome metabólica na população geral e que nos casos de DC leve os estigmas do hipercortisolismo geralmente não estão presentes, o diagnóstico diferencial torna-se um verdadeiro desafio. Por isso, o estudo dos aspectos clínicos e dos testes diagnósticos neste contexto torna-se muito importante, sempre em busca de uma melhor estratégia diagnóstica.

Assim, após a ampla revisão da literatura, apresentamos dois artigos originais oriundos de estudos prospectivos abordando aspectos clínicos e laboratoriais no diagnóstico diferencial entre a DC e estados de pseudo-Cushing e o emprego do teste com DDAVP também com esta finalidade.

## **OBJETIVOS**

1. Avaliar a eficácia e comparar os aspectos clínicos no diagnósticos diferencial entre Doença de Cushing e estados de pseudo-Cushing
2. Avaliar o papel do teste do DDAVP na diferenciação da Doença de Cushing dos estados de pseudo-Cushing
3. Avaliar a performance dos testes clássicos no diagnóstico da Síndrome de Cushing (dexametasona 1 mg “overnight”, cortisolúria de 24h e teste com 2 mg de dexametasona)
4. Avaliar o papel da dosagem do cortisol sérico à meia-noite no diagnóstico da síndrome de Cushing
5. Avaliar o papel da dosagem do ACTH plasmático basal no diagnóstico da DC
6. Reavaliar os critérios de interpretação do teste do DDAVP

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Magiakou MA, Masturkos G, Chrousos GP. Cushing's Syndrome. In: Wierman ME, editor. Diseases of the Pituitary. New Jersey: Human Press; 1997.
2. Lo JC, Tyrrel JB, Wilson CW. Corticotroph Adenomas. In: Thapar K, Kovacs K, Scheithauer BW, Lloyd RV, editors. Diagnosis and Management of Pituitary Tumors. New Jersey :Human Press ; 2001. p.317-332.
3. Makras P, Toloumis F, Papadogias D, Kaltsas GA, Besser M. The diagnosis and differential diagnosis of endogenous Cushing's syndrome. Hormones (Athens) 2006; 5:231-250.
4. Kaltsas GA, Grossman AB. Malignant pituitary tumours. Pituitary 1998;1:69-81.
5. Kaltsas GA, Nomikos P, Kontogeorgos G, Buchfelder M, Grossman AB. Clinical review: Diagnosis and management of pituitary carcinomas. J Clin Endocrinol Metab 2005; 90: 3089-3099.
6. Newell-Price J, Trainer P, Besser M, Grossman A. The diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome and pseudo-Cushing states. Endocr Rev 1998; 19:647-672.
7. Morris DG, Grossman AB. Dynamic tests in the diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome. J Endocrinol Invest 2003; 26: Suppl 7: 64-73.
8. Kaltsas GA, Giannulis MG, Newell-Price JD, et al. A critical analysis of the value of simultaneous inferior petrosal sinus sampling in Cushing's disease and the occult ectopic adrenocorticotropin syndrome. J Clin Endocrinol Metab 1999;84: 487-492.
9. Findling JW, Aron DC, Tyrrell JB. Glucocorticoids and adrenal androgens. In: Greenspan FS, Strewler GJ, editors. Basic & Clinical Endocrinology. 5<sup>th</sup> ed. Stamford: Appleton & Lange; 1997. p. 317-358.

10. Meier CA, Biller BM. Clinical and biochemical evaluation of Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1997 ;26:741-62.
11. Hasinski S. Assessment of adrenal glucocorticoid function. Which tests are appropriate for screening? *Postgrad Med* 1998;104:61-72.
12. Orth DN, Kovacs WJ. The adrenal cortex. In: Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM, Larsen PR, editors. *Williams Textbook of Endocrinology*. 9<sup>th</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1998. p. 517-664.
13. Nieman LK. The evaluation of ACTH-dependent Cushing's syndrome. *The Endocrinologist* 1999; 9:93-98.
14. Arnaldi G, Angeli A, Atkinson AB, et al. Diagnosis and complications of Cushing's syndrome: a consensus statement. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5593-5602.
15. Kuhn JM, Proeschel MF, Seurin DJ, Bertagna XY, Luton JP, Girard FL. Comparative assessment of ACTH and lipotropin plasma levels in the diagnosis and follow-up of patients with Cushing's syndrome: a study of 210 cases. *Am J Med* 1989; 86: 678-684.
16. Tyrrell JB, Findling JW, Aron DC, Fitzgerald PA, Forsham PH. An overnight high-dose dexamethasone suppression test for rapid differential diagnosis of Cushing's syndrome. *Ann Intern Med* 1986; 104: 180-186.
17. Atkinson AB, McCance DR, Kennedy L, Sheridan B. Cyclical Cushing's syndrome first diagnosed after pituitary surgery: a trap for the unwary. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1992; 36: 297-299.
18. Boscaro M, Barzon L, Fallo F, Sonino N. Cushing's Syndrome. *The Lancet* 2001; 357: 783-791.
19. Magiakou MA, Chrousos GP. Cushing's syndrome in children and adolescents: current diagnostic and therapeutic strategies. *J Endocrinol Invest* 2002;25:181-194.

20. Magiakou MA, Mastorakos G, Oldfield EH, et al. Cushing's syndrome in children and adolescents. Presentation, diagnosis and therapy. *N Engl J Med* 1994; 331:629-636.
21. Trainer PJ, Besser M. Cushing's disease. *Lancet* 2000; 355: 68.
22. Carroll BJ, Curtis GC, Davies BM, Mendels J, Sugarman AA. Urinary free cortisol excretion in depression. *Psychol Med* 1976; 6: 43-50.
23. Cizza G, Nieman LK, Doppman JL, et al. Factitious Cushing syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 3573-3577.
24. Yanovski JA, Cutler GB Jr, Chrousos GP, Nieman LK. Corticotropin-releasing hormone stimulation following low-dose dexamethasone administration: a new test to distinguish Cushing's syndrome from pseudo-Cushing's states. *J Am Med Assoc* 1993; 269:2232-2238.
25. Castro M, Moreira AC. Screening and diagnosis of Cushing's syndrome. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2007; 51:1191-1198.
26. Findling JW, Raff H. Newer diagnostic techniques and problems in Cushing's disease. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1999 ;28:191-210.
27. Invitti C, Giraldi FP, Martin M, Cavagnini F. Diagnosis and management of Cushing's syndrome: results of an Italian multicentre study. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 440-8.
28. Carpo L. Cushing's syndrome: a review of diagnostic tests. *Metabolism* 1979; 28: 955-977.
29. Gross BA, Mindea SA, Pick AJ, Chandler JP, Batjer HH. Diagnostic approach to Cushing disease. *Neurosurg Focus* 2007; 23(E1): 1-7.
30. Vilar L, Naves LA, Freitas MC et al. Endogenous Cushing's syndrome: clinical and laboratorial features in 73 cases. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2007; 51:566-574.

31. Lin CL, Wu TJ, Machacek DA, Jiang NS, Kao PC. Urinary free cortisol and cortisone determined by high performance liquid chromatography in the diagnosis of Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:151-155.
32. Vilar L, Freitas MC, Faria M, Montenegro R, Casulari LA, Naves L, Bruno OD. Pitfalls in the diagnosis of Cushing's syndrome. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2007; 51:1207-1216.
33. Vieira JG, Accursio WJ, Russo EM, Maciel RM, Kater CE, Chacra AR. Value of the rapid suppression test with dexamethasone in the diagnosis of patients suspected of having Cushing's syndrome. *Rev Assoc Med Bras* 1985; 31: 129-132.
34. Leibowitz G, Tsur A, Chayen SD, et al. Pre-clinical Cushing's syndrome: an unexpected frequent cause of poor glycaemic control in obese diabetic subjects. *Clin Endocrinol* 1996; 44: 717-722.
35. Catargi B, Rigalleau V, Poussin A, et al. Occult Cushing's syndrome in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88; 5808-5813.
36. Chiodini I, Torlontano M, Scillatani A, et al. Association of subclinical hypercortisolism with type 2 diabetes mellitus: a case-control study in hospitalized patients. *Eur J Endocrinol* 2005; 153:837-844.
37. Caetano MSS, Silva RC, Kater CE. Increased diagnostic probability of subclinical Cushing's syndrome in a population sample of overweight adult patients with type 2 diabetes mellitus. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2007; 51:1118-1127
38. Newell-Price J, Trainer P, Perry J, Wass J, Grossman A, Besser M. A single sleeping midnight cortisol has 100% sensitivity for the diagnosis of Cushing's syndrome. *Clin Endocrinol* 1995; 43: 545-550.

39. Papanicolaou DA, Yanovski JA, Cutler Jr. GB, Chrousos GC, Nieman LK. A single midnight serum cortisol measurement distinguishes Cushing's syndrome from pseudo-Cushing states. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 1163-1167.
40. Gorges R, Knappe G, Gerl H, Vetz M, Stahl F. Diagnosis of Cushing's syndrome: re-evaluation of midnight plasma cortisol vs urinary free cortisol and low-dose dexamethasone suppression test in a large patient group. *J Endocrinol Invest* 1999; 22: 241-249.
41. Reimondo G, Allasino B, Bovio S, Paccotti P, Angeli A, Terzolo M. Evaluation of the effectiveness of midnight serum cortisol in the diagnostic procedures for Cushing's syndrome. *Eur J Endocrinol* 2005; 153:803-809.
42. Papanicolaou DA, Mullen Não, Kyrou I, Nieman LK. Nighttime Salivary Cortisol : A Useful Test for the Diagnosis of Cushing's Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 4515-4521.
43. Putignano P, Toja P, Dubini A, Pecori Giraldi F, Corsello SM, Cavagnini F. Midnight salivary cortisol versus urinary free and midnight serum cortisol as screening tests for Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 4153-4157.
44. Newell-Price J, Grossman AB. Differential diagnosis of Cushing's syndrome. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2007;51:1199-1206.
45. Lindsay JR, Nieman LK. Differential Diagnosis and imaging in Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2005; 34: 403-421.
46. Trainer PJ, Grossman A. The diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1991; 34: 317-330.
47. Howlett TA, Drury PL, Perry L, Doniach I, Rees LH, Besser GM. Diagnosis and management of ACTH-dependent Cushing's syndrome: comparison of the features in ectopic and pituitary ACTH production. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1986; 24: 699-713.



48. Findling JW, Doppman JL. Biochemical and radiologic diagnosis of Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1994; 23: 511-537.
49. Aron DC, Raff H, Findling JW. Effectiveness versus efficacy: the limited value in clinical practice of high dose dexamethasone suppression testing in the differential diagnosis of adrenocorticotropin-dependent Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:1780-5.
50. Flack MR, Oldfield EH, Cutler GB, et al. Urine free cortisol in the high-dose dexamethasone suppression test for the differential diagnosis of the Cushing syndrome. *Ann Intern Med* 1992; 116:211-17.
51. Dichek HL, Nieman LK, Oldfield EH, Pass HI, Malley JD, Cutler Jr. GB. A Comparison of the standard high dose dexamethasone suppression test and the overnight 8-mg dexamethasone suppression test for the differential diagnosis of adrenocorticotropin-dependent Cushing's Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1994 ;78:418-422.
52. Isidori AM, Kaltsas GA, Mohammed S, et al. Discriminatory value of the low-dose dexamethasone suppression test in establishing the diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5299-5306.
53. Freda PU, Wardlaw SL. Diagnosis and treatment of pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 3859-3866.
54. Raff H, Findling JW. A physiologic approach to diagnosis of the Cushing's syndrome. *Ann Intern Med* 2003; 138:980-991.
55. de Herder WW, Lamberts SWJ. Tumour localization. The ectopic ACTH syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 1184-1185.
56. Granberg D, Sundin A, Janson ET, Oberg K, Skogseid B, Westlin JE. Octreoscan in patients with bronchial carcinoid tumours. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003 ;59: 793-799.

57. Pacak K, Ilias I, Chen CC, Carrasquillo JA, Whatley M, Nieman LK. The Role of [18F]Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography and [111In]-Diethylenetriaminepentaacetate-D-Phe-Pentetreotide Scintigraphy in the Localization of Ectopic Adrenocorticotropin-Secreting Tumors Causing Cushing's Syndrome J Clin Endocrinol Metab 2004; 89: 2214-2221.
58. Romanholi D, Salgado LR. Estados de pseudo-Cushing. Arq Bras Endocrinol Metab 2007; 51:1303-1313
59. McCartney CR, Lee Vance M. Inferior petrosal sinus sampling in the differential diagnosis of ACTH-dependent Cushing's disease. The Endocrinologist 2001; 11:388-398.
60. Landolt AM, Valavanis A, Girard J, Eberle NA. Corticotrophin-releasing factor-test used with bilateral, simultaneous inferior petrosal sinus blood-sampling for the diagnosis of pituitary-dependent Cushing's disease. Clin Endocrinol 1986; 25: 687-696.
61. Oldfield EH, Doppman JL, Nieman LK, et al. Petrosal Sinus Sampling with and without Corticotropin-Releasing Hormone for the Differential Diagnosis of Cushing's Syndrome. N Engl J Med 1991; 325: 897-905.
62. McCance ER, McIlath E, McNeil A, et al. Bilateral inferior petrosal sinus sampling as a routine procedure in ACTH-dependent Cushing's syndrome. Clin Endocrinol 1989; 30: 157-166.
63. Utz A, Biller BMK. The role of bilateral inferior petrosal sinus sampling in the diagnosis of Cushing's syndrome. Arq Bras Endocrinol Metab 2007; 51:1329-1338.
64. Lad SP, Patil CG, Laws Jr ER, Katznelson L. The role of inferior petrosal sinus sampling in the diagnostic localization of Cushing's disease. Neurosurg Focus 2007; 23 (E2):1-7.

65. Graham DE, Samuels MH, Nesbit GM, et al. Cavernous sinus sampling is highly accurate in distinguishing Cushing's disease from the ectopic adrenocorticotropin syndrome and in predicting intrapituitary tumor location. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 1602-1610.
66. Giraldi FP, Invitti Com, Cavagnini F. Inferior petrosal sinus sampling ten years down the road. *J Endocrinol Invest* 2000; 23: 325-327.
67. Invitti C, Giraldi FP, Cavagnini F. Inferior petrosal sinus sampling in patients with Cushing's syndrome and contradictory responses to dynamic testing. *Clin Endocrinol* 1999; 51: 255-257.
68. Yanovski JA, Cutler GB Jr, Doppman JL, et al. The limited ability of inferior petrosal sinus sampling with corticotropin-releasing hormone to distinguish Cushing's disease from pseudo-Cushing states or normal physiology. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77: 503-509.
69. Machado MC, de Sa SV, Domenice S, et al. The role of desmopressin in bilateral and simultaneous inferior petrosal sinus sampling for differential diagnosis of ACTH-dependent Cushing's syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2007 ;66:136-42.
70. Lefournier V, Martinie M, Vasdev A, et al. Accuracy of bilateral inferior petrosal or cavernous sinuses sampling in predicting the lateralization of Cushing's disease pituitary microadenoma: influence of catheter position and anatomy of venous drainage. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 196-203.
71. Chan LF, Storr HL, Grossman AB, Savage MO. Pediatric Cushing's syndrome: clinical features, diagnosis and treatment. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2007; 51:1261-1271.
72. Storr HL, Chan LF, Grossman AB, Savage MO. Pediatric Cushing's syndrome: epidemiology, investigation and therapeutic advances. *Trends Endocrinol Metab* 2007; 18:167-174.

73. Batista D, Gennari M, Riar J, et al. An assessment of petrosal sinus sampling for localization of pituitary microadenomas in children with Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:221-224.
74. Newell-Price J. The desmopressin test and Cushing's syndrome: current state of play. *Clin Endocrinol* 1997 ;47:173-174.
75. Newell-Price J, Perry L, Medbak S, et al. A combined test using desmopressin and corticotropin-releasing hormone in the differential diagnosis of Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997 ;82:176-181.
76. Sakai Y, Horiba N, Tozawa F, Sakai K, Kuwayama A, Demura H, Suda T. Desmopressin stimulation test for diagnosis of ACTH-dependent Cushing's syndrome. *Endocr J* 1997;44: 687-95.
77. Dahia PLM, Ahmed-Shuaib A, Jacobs RA, et al. Vasopressin receptor expression and mutation analysis in corticotropin-secreting tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:1768-71.
78. Malerbi DA, Mendonça BB, Liberman B, et al. The desmopressin stimulation test in the differential diagnosis of Cushing's syndrome. *Clin Endocrinol* 1993 ;38:463-72 .
79. Colombo P, Passini E, Re T, Faglia G, Ambrosi B. Effect of desmopressin on ACTH and cortisol secretion in states of ACTH excess. *Clin Endocrinol* 1997 ;46:661-668
80. Arlt W, Dahia PLM, Callies F, Nordmeyer JP, Allolio V, Grossman AB, Reincke M. Ectopic ACTH production by bronchial carcinoid tumour responsive to desmopressin in vivo and in vitro. *Clin Endocrinol* 1997; 47: 623-7.
81. Tsagarakis S, Tsigos Com, Valiliou V, et al. The Desmopressin and Combined CRH-Desmopressin Testes in the Differential Diagnosis of ACTH-Dependent Cushing's Syndrome: Constraints Imposed by the Expression of V2 Vasopressin Receptors in Tumors with Ectopic ACTH Secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 1646-1653.

82. Malerbi DA, Fragoso MA, Vieira Filho AHG, Brenha EML, Mendonça BB. Cortisol and adrenocorticotropin response to desmopressin in women with Cushing's disease compared with depressive illness. *J Clin Endocrinol Metab* 1996 ;81:2233-37.
83. Moro M, Putignao P, Losa M, Invitti C, Maraschini C, Cavagnini F. The desmopressin test in the differential diagnosis between Cushing's disease and pseudo-Cushing states. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 3569-3574.
84. Giraldi FP, Pivonello R, Ambrogio AG et al. The dexamethasone-suppressed corticotropin- releasing hormone stimulation test and the desmopressin test to distinguish Cushing's syndrome from pseudo-Cushing's states. *Clin Endocrinol* 2007; 66:251–257.
85. Findling JW, Raff H. Clinical Review: Cushing's Syndrome: Important Issues in Diagnosis and Management. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 3746–3753.
86. Raff H, Raff JL, Findling JW. Late-night salivary cortisol as a screening test for Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2681-2686.
87. Castro M, Elias PCL, Quidute ARP, Halah FPB, Moreira AC. Out-patient screening for Cushing's syndrome: The sensitivity of the combination of circadian rhythm and overnight dexamethasone suppression salivary cortisol tests. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 878-882.
88. Yanovski JA, Cutler GB Jr, Chrousos GP, Nieman LK. The dexamethasone-suppressed corticotropin-releasing hormone stimulation test differentiates mild Cushing's disease from normal physiology *J Clin Endocrinol Metab* 1998 ;83:348-52.
89. Arlt W, Stewart PM. Adrenal corticosteroid biosynthesis, metabolism, and action. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2005; 34: 293-313.

90. Nieman LK, Oldfield EH, Wesley R, et al. A simplified morning ovine corticotropin-releasing hormone stimulation test for differential diagnosis of adrenocorticotropin-dependent Cushing's syndrome. *Clin Endocrinol Metab* 1993; 77: 1308-1312.
91. Kaye TB, Crapo L. The Cushing's syndrome: an update on diagnostic testes. *Ann Intern Med* 1990; 112: 434-444.
92. Borges MH, Moreira AC, Kaer CE. O valor do teste de estímulo com hormônio liberador da corticotrofina ovino (oCRH) no diagnóstico diferencial da síndrome de Cushing. *Arq Bras Endocrinol Meab* 1995; 39: 44-51.
93. Newell-Price J, Morris DG, Drake WM, et al. Optimal response criteria for the human CRH test in the differential diagnosis of ACTH-dependent Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 1640-1645.
94. Samuels MH, Loriaux DL. Cushing's syndrome and the nodular adrenal gland. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1994; 23: 555-569.
95. Stratakis CA, Carney JA, Lin JP, et al. Carney complex, a familial multiple neoplasia and lentiginosis syndrome. Analysis of 11 kindreds and linkage to the short arm of chromosome 2. *J Clin Invest* 1996; 97: 699-705.
96. Lacroix A, Bourdeau I. Bilateral adrenal Cushing's syndrome: macronodular adrenal hyperplasia and primary pigmented nodular adrenocortical disease. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2005 ; 34: 441-458.
97. Sandrini F, Stratakis C. Clinical and molecular genetics of Carney complex. *Mol Genet Metab* 2003; 78: 83-92.
98. Bourdeau I, D'Amour P, Hamet P, Boutin JM, Lacroix A. Aberrant membrane hormone receptors in incidentally discovered bilateral macronodular adrenal hyperplasia with subclinical Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86 :5534-5540.

99. Swords FM, Aylwin S, Perry L, et al. The aberrant expression of the gastric inhibitory polypeptide (GIP) receptor in adrenal hyperplasia: does chronic adrenocorticotropin exposure stimulate up-regulation of GIP receptors in Cushing's disease? *J Clin Endocrinol Metab* ;2005; 90: 3009-3016.
100. Lacroix A, N'Diaye N, Tremblay J, Hamet P. Ectopic and abnormal hormone receptors in adrenal Cushing's syndrome. *Endocr Rev* 2001; 22: 75-110.
101. Lacroix A, Bolte E, Tremblay J, et al. Gastric inhibitory polypeptide-dependent cortisol hypersecretion: a new cause for Cushing's syndrome. *N Engl J Med* 1992; 327: 974-980.
102. Reznik Y, Allali-Zerah V, Chayvialle JA, et al. Food-dependent Cushing's syndrome mediated by aberrant adrenal sensitivity to gastric inhibitory polypeptide. *N Engl J Med* 1992; 327: 981-986.
103. N'Diaye N, Tremblay J, Hamet P, De Herder WW, Lacroix A. Adrenocortical overexpression of gastric inhibitory polypeptide receptor underlies food-dependent Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1998 ; 83: 2781-2785.
104. De Herder WW, Hofland LJ, Usdin TB, et al. Food-dependent Cushing's syndrome resulting from abundant expression of gastric inhibitory polypeptide receptors in adrenal adenoma cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1996 ; 81: 3168-3172.
105. Doppman JL, Miller DL, Dwyer AJ, et al. Macronodular adrenal hyperplasia in Cushing's disease. *Radiology* 1988; 166: 347-352.

**Artigo Original em Português 1**

## **Avaliação Clínica no Diagnóstico Diferencial entre Doença de Cushing e Pseudo-Cushing**

Rollin G, Czepielewski MA.

Serviço de Endocrinologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Metabologia e Nutrição

Faculdade de Medicina, UFRGS, Porto Alegre, Brazil.

Endereço:

Guilherme Rollin

Serviço de Endocrinologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Ramiro Barcelos, 2350 Prédio 14 – 4º andar

CEP 90035-003

Porto Alegre – Brasil

E-mail: [guilhermerollin@ibest.com.br](mailto:guilhermerollin@ibest.com.br)



## **Resumo**

**Introdução:** Pacientes com síndrome de Cushing (SC) necessitam ser distinguidos daqueles com pseudo-Cushing (PC). Estes últimos podem apresentar algumas alterações bioquímicas compatíveis com secreção excessiva de cortisol com ou sem manifestações clínicas da síndrome. O diagnóstico da SC ainda representa um desafio, especialmente nos casos de hipercortisolismo leve. O objetivo deste estudo é comparar os aspectos clínicos no diagnóstico diferencial entre doença de Cushing (DC) e estados de PC.

**Pacientes e Métodos:** Foram avaliados 86 pacientes com DC e 74 com PC. Eles foram analisados principalmente quanto aos seus aspectos clínicos. Todos foram submetidos ao teste de supressão com 1mg de dexametasona “overnight” e dosagem de cortisol livre em urina de 24h. Nos casos indicados, foram realizados os testes adicionais para o correto estabelecimento dos diagnósticos de SC e DC. Pacientes com hipercortisolismo leve (cortisolúria < 200 µg/24h) foram avaliados separadamente e comparados com os PC.

**Resultados:** Os dois grupos de pacientes foram semelhantes quanto ao sexo, idade e índice de massa corporal. Hipertensão (P=0,004), fâscies arredondadas com pletora (P < 0,0001), gibosidade e acúmulo de gordura supraclavicular (P < 0,0001), estrias abdominais violáceas (P < 0,0001), miopatia proximal (P< 0,0001) e fragilidade capilar (P< 0,0001) estavam mais presentes nos pacientes com DC. Os aspectos clínicos dos pacientes com DC leve e PC foram muito semelhantes, entretanto, fâscies arredondadas com pletora (P < 0,0001), gibosidade e acúmulo de gordura supraclavicular (P=0,03) e fragilidade capilar (P=0,0007) foram mais prevalentes nos pacientes com DC leve.

**Conclusões:** Nossa casuística demonstrou um fenótipo clínico muito similar entre pacientes com DC leve e PC. Assim, em vários pacientes apenas testes diagnósticos mais específicos ou reavaliações periódicas a médio e longo-prazo podem estabelecer de modo definitivo o

diagnóstico correto. Entretanto, a presença de fragilidade capilar, fásces arredondadas com plethora e acúmulo de gordura cervical e supraclavicular apontam de modo muito consistente para o diagnóstico de DC.

**Descritores: Aspectos Clínicos, Doença de Cushing, Doença de Cushing Leve, Estados de Pseudo-Cushing**

## **Introdução**

A Síndrome de Cushing (SC) endógena representa um estado clínico decorrente de uma exposição prolongada a níveis excessivos de cortisol com subsequente perda da regulação normal do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e do ritmo circadiano de secreção do cortisol (1,2). A SC é um distúrbio sistêmico no qual os níveis elevados de glicocorticóide endógeno causam alterações em virtualmente todo o corpo, provavelmente com uma repercussão variável, dependendo da duração e da magnitude do hipercortisolismo. A SC endógena é relativamente rara e seu diagnóstico, diagnóstico diferencial e tratamento representam um grande desafio clínico (1-5). A maior parte dos casos de SC endógena está relacionada à produção excessiva do ACTH, geralmente a partir de um adenoma hipofisário e, menos frequentemente, a partir de tumores não hipofisários (secreção ectópica de ACTH), representando as causas ACTH-dependente da SC (4,6). A SC ACTH-não-dependente é menos frequente, sendo secundária a tumores adrenocorticais produtores de glicocorticóide (adenoma ou carcinoma) e à hiperplasia bilateral das adrenais (micro ou macronodular)(4,5,7,8,9).

A SC endógena necessita ser adequadamente distinguida dos estados de pseudo-Cushing (PC), os quais estão associados a algumas alterações bioquímicas e clínicas do hipercortisolismo na ausência da SC propriamente dita (1,2). Nos últimos anos, o diagnóstico de SC tem sido considerado mais precocemente, em estágios mais iniciais da doença e, muitas vezes, na ausência dos sinais e sintomas clássicos do hipercortisolismo. Assim sendo, o diagnóstico está sendo estabelecido mesmo nos estados subclínicos do hipercortisolismo, obrigando a realização e adoção de novos testes na abordagem diagnóstica destes pacientes (2,10,11). O diagnóstico correto do hipercortisolismo, bem como a determinação de sua etiologia, são fundamentais, visto que a hipersecreção sustentada do

cortisol está associada a uma morbi-mortalidade considerável, tornando imprescindível o tratamento definitivo da causa subjacente do hipercortisolismo (1,2).

As queixas mais frequentes dos pacientes com SC geralmente são inespecíficas, como aumento de peso, fadiga, letargia e depressão, e os sinais do hipercortisolismo podem variar com o tempo e severidade da doença (1,2,5,9). Algumas alterações como obesidade, hipertensão arterial, alterações no humor e irregularidade menstrual também são encontrados frequentemente na população geral. Nesse contexto, a presença de sinais específicos como miopatia proximal, equimoses e pele fina com fragilidade capilar, devem orientar em direção à SC ao invés da presença de PC (1,12,13,14). Alcoolismo pode resultar em um quadro clínico e laboratorial semelhante à SC. No entanto, existe história de uso de álcool e as anormalidades clínicas e bioquímicas desaparecem com a abstinência ao álcool (1,2,12,15,16).

Pacientes que apresentam algumas características clínicas da SC com evidência de hipercortisolismo, porém com resolução do hipercortisolismo após tratamento efetivo do distúrbio primário, são classificados como portadores de PC. Como exemplo podemos citar depressão (doença afetiva bipolar), alcoolismo e distúrbios alimentares (anorexia e bulimia)(1,17,18,19). Adicionalmente, pacientes com componentes da síndrome metabólica (diabetes, hipertensão, obesidade central, mulheres com ovários policísticos) também fazem parte deste estado de PC. A diferenciação entre hipercortisolismo leve (como DC leve) e PC, geralmente é difícil, já que as características laboratoriais da DC, como aumento da cortisolúria de 24h, alteração no ritmo de secreção do cortisol e ausência de supressão do cortisol sérico após administração de dexametasona, podem também estar presentes nos casos de PC. Mesmo que o quadro clínico e exame físico possam indicar o diagnóstico de SC ou PC, a confirmação bioquímica definitiva pode ser difícil, sendo necessária a realização de outros testes, além da repetição dos anteriores. Cabe salientar que na prática clínica, devido a

maior prevalência da DC e das características de suas alterações hormonais, a maior e mais frequente dificuldade diagnóstica é a diferenciação entre DC leve e PC (20,21,22,23).

O hipercortisolismo associado ao PC provavelmente é decorrente do aumento da secreção do CRH e consequente ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, ao contrário da grande maioria dos pacientes com SC que apresentam inibição na secreção do CRH pelo hipotálamo (21,22,23). O diagnóstico de PC ainda não apresenta critérios bem estabelecidos, sendo geralmente confirmado na presença de manifestações clínicas leves do hipercortisolismo em associação com testes hormonais que não conseguem confirmar o diagnóstico de SC. Adicionalmente, estes pacientes apresentam regressão ou estabilização do quadro clínico-hormonal, não evoluindo para o hipercortisolismo franco a longo-prazo (2,23,34).

Até o presente momento, são poucos os trabalhos que discutem os aspectos clínicos do diagnóstico diferencial do PC com DC, questão bastante relevante na prática clínica do endocrinologista. Assim, o principal objetivo deste estudo é comparar os achados clínicos no diagnóstico diferencial da doença de Cushing com os estados de pseudo-Cushing.

## Pacientes e Métodos

Neste estudo foram avaliados 160 pacientes, 86 com DC (19 homens e 67 mulheres; idade de  $38\pm 13$  anos, variando de 12 à 62 anos) e 74 com PC (9 homens e 65 mulheres; idade de  $39\pm 14$  anos, variando de 10 à 69 anos) em um período de 7 anos. Entraram no estudo os pacientes atendidos na Unidade de Neuroendocrinologia do HCPA encaminhados por suspeita de SC. A história clínica com sinais e sintomas da SC foi pesquisada em todos os pacientes, também sendo submetidos ao exame físico completo.

Todos os pacientes foram submetidos aos testes de screening para SC: (1) medidas do cortisol urinário livre em urina de 24h e (2) dosagem do cortisol sérico após administração de 1mg oral de dexametasona às 23h da noite anterior (teste de supressão com 1 mg de dexametasona “overnight”). Quando estes apresentavam resultados anormais ou inconclusivos os pacientes eram submetidos a: (1) avaliação do ritmo circadiano do cortisol; (2) teste de supressão com baixas doses de dexametasona por 2 dias (teste de Liddle; dexametasona 0,5 mg oral a cada 6h por 2 dias); (3) estimulação com DDAVP (teste do DDAVP); (4) teste de supressão com altas doses de dexametasona por 2 dias (2 mg de dexametasona oral a cada 6h por 2 dias); e (5) avaliação por imagem (hipófise e/ou adrenal através de Ressonância Magnética e/ou Tomografia Computadorizada).

O diagnóstico de SC foi estabelecido através do aumento da cortisolúria de 24h, ausência de supressão do cortisol sérico após teste com 1 mg de dexametasona “overnight” (cortisol sérico superior à  $5 \mu\text{g}/\text{dl}$ ), ausência do ritmo circadiano de secreção do cortisol (cortisol a meia-noite superior à  $7,5 \mu\text{g}/\text{dl}$ ) e/ou ausência de supressão do cortisol urinário e sérico após teste de Liddle (cortisolúria superior à  $20 \mu\text{g}/24\text{h}$  e/ou cortisol sérico superior à  $5 \mu\text{g}/\text{dl}$ ), com confirmação da etiologia do hipercortisolismo através dos exames subsequentes.

O diagnóstico de DC foi estabelecido a partir da supressão do cortisol sérico ou urinário no teste com altas doses de dexametasona (supressão sendo considerada redução no níveis de cortisol superior à 50% em relação ao basal), ACTH plasmático normal ou elevado, aumento do ACTH plasmático maior que 50% após administração endovenosa da desmopressina (teste do DDAVP) e/ou identificação de imagem hipofisária compatível com adenoma através da RM ou TC. A indicação para a realização do cateterismo bilateral do seio petroso inferior foi a ocorrência de testes endocrinológicos inconclusivos associado à imagem hipofisária negativa ou duvidosa. Considerou-se resultado positivo para DC a presença de gradiente central-periferia (razão entre níveis de ACTH no seio petroso inferior e níveis de ACTH na periferia) igual ou maior que 2 (basal) ou igual ou maior que 3 (pós estímulo com DDAVP). O teste foi considerado positivo para lateralização nos casos de gradiente lado-lado maior que 1,4 (ACTH de um dos lados 1,4 vezes maior em relação ao outro lado). Além disso, o acompanhamento a longo prazo dos pacientes submetidos à cirurgia transesfenoidal confirmando o diagnóstico pré-operatório de DC.

Uma análise adicional foi realizada para avaliar a diferença entre pacientes com hipercortisolismo leve (cortisolúria de 24h inferior à 200 µg) e pacientes com pseudo-Cushing. Assim sendo, comparou-se 26 pacientes com DC considerada leve com os 74 PC.

Os pacientes com PC foram tratados conforme seus distúrbios subjacentes e nenhum deles evoluiu para hipercortisolismo franco em um período mínimo de seguimento de 12 meses. Seguimento médio foi de  $4,9 \pm 1,7$  anos. Assim, avaliação clínica e laboratorial complementar associados ao seguimento a longo-prazo, conseguiu excluir SC leve ou cíclica.

Cortisol foi dosado através de kit de Radioimunoensaio (Diagnostic Systems Laboratories, Inc., Webster, TX) com coeficientes de variação intra- e interensaio de 8,3% e 9,8%, respectivamente, sendo limite inferior de detecção de 0,3 µg/dl. Níveis normais de cortisol livre urinário do ensaio utilizado eram de 20-90 µg/24h. A dosagem do ACTH plasmático foi

obtida através do ensaio imunométrico enzimático quimioluminescência (Immulite, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA), com coeficientes de variação intra- e interensaio de 5,6% e 7,75%, respectivamente, sendo limite inferior de detecção de 5,0 pg/ml.

A análise estatística foi realizada através do teste T de Student ou teste de Mann-Whitney para valores não pareados. A prevalência dos sintomas e a diferença entre os parâmetros diagnósticos foram comparados através do teste do qui-quadrado. Considerou-se um  $P < 0,05$  para diferença estatisticamente significativa.



## Resultados

Os dois grupos de pacientes foram semelhantes em relação ao sexo, idade e índice de massa corporal (IMC), conforme demonstrado na Tabela 1. Características clínicas como obesidade central (ou ganho de peso com acúmulo central da gordura), diabetes mérito ou intolerância à glicose, distúrbios menstruais, acne e hirsutismo e distúrbios psiquiátricos foram encontrados com prevalência semelhante nos dois grupos. Por outro lado, hipertensão arterial, fâscies cushingóides (pletora facial, rubicundez facial), acúmulo de gordura supra-clavicular e gibosidade, estrias violáceas, fraqueza muscular proximal e fragilidade capilar estavam mais presentes dos pacientes com DC (Tabela 1).

A comparação do grupo com DC leve e PC, evidenciou um quadro clínico diferente: os dois grupos eram mais parecidos (Tabela 2). Entretanto, fâscies cushingóides (pletora), acúmulo de gordura supra-clavicular e gibosidade associados a fragilidade capilar foram características mais marcantes nos pacientes com DC leve, diferenciando-os dos pacientes com PC apenas nestes 3 aspectos. Mesmo assim, cabe salientar que fragilidade capilar estava presente em apenas 30,8% dos pacientes com DC leve e que a diferença em relação à pletora facial foi relativamente pequena ( $P=0,03$ ).

Em relação aos testes de screening (Figuras 1 e 2), como esperado, cortisolúria basal e cortisol sérico após 1 mg de dexametasona “overnight” foram significativamente maiores nos pacientes com DC em comparação com os PC ( $462,47 \pm 596,40$  vs  $71,2 \pm 45,1$   $\mu\text{g}/24\text{ h}$ ,  $P < 0,0001$ ;  $17,1 \pm 9,8$  vs.  $3,9 \pm 3,8$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ ,  $P < 0,0001$ ). Níveis de ACTH também foram diferentes:  $64,9 \pm 38,4$  e  $22,4 \pm 13,9$   $\text{pg}/\text{ml}$  nos pacientes com DC e PC, respectivamente ( $P < 0,0001$ ). Mesmo assim, observamos uma importante sobreposição dos valores quando observados isoladamente. Nos pacientes com DC leve, os níveis de ACTH,

cortisolúria de 24h e cortisol pós 1 mg de dexametasona “overnight” também foram mais elevados em comparação com PC:  $51,7 \pm 24,4$  pg/ml,  $122,2 \pm 32,5$   $\mu$ g/24h e  $11,8 \pm 9,2$   $\mu$ g/dl (P<0,0001, P<0,001 e P <0,0001).

## Discussão

O diagnóstico e o diagnóstico diferencial da SC (hipercortisolismo) representam um grande desafio para o endocrinologista clínico. A SC é um distúrbio relativamente raro, porém nos últimos anos tem sido diagnosticada com maior frequência, mesmo em suas formas mais sutis. Considerando que a SC está associada a morbidade e mortalidade significativas, torna-se mandatório o seu diagnóstico precoce e acurado (1,2,5,7,23,24,25). A discriminação clínica entre a SC verdadeira e os estados de PC pode ser muito difícil, particularmente quando o hipercortisolismo é leve, como na DC leve. Nestes casos, as consequências fisiológicas do excesso de glicocorticóide produz uma síndrome clínica e um fenótipo que frequentemente são idênticos àqueles da síndrome metabólica (1,2,5,23,24,25). Nossos dados demonstram que obesidade central, intolerância à glicose ou diabetes, distúrbios neuro-psiquiátricos, acne e hirsutismo estão presentes em ambos, pacientes com DC e PC. Entretanto, nos pacientes com DC leve, sua diferenciação clínica com aqueles portadores de PC é praticamente impossível. Neste sentido, apenas a presença de fragilidade capilar, fâscies arredondadas com pletora e acúmulo de gordura cervical (gibosidade) e supraclavicular estão mais presentes nos pacientes com DC leve.

Obesidade central é uma característica marcante do hipercortisolismo. Em nossa série todos os pacientes com PC e quase todos com DC eram obesos ou apresentavam história de ganho de peso. Assim como em outras séries (1,5,23,24,26,27,28), aumento de peso com distribuição central da gordura (face, região cervical, tronco e abdômen) representa uma alteração comum. Assim sendo, pacientes sem obesidade (ou ganho de peso) e sem distribuição central da gordura provavelmente não apresentam DC. Distúrbios neuro-psiquiátricos incluindo depressão, irritabilidade, distúrbio do sono e déficits cognitivos são frequentemente observados (23,36,37). Em nossa casuística, estas alterações foram

encontradas em ambos os grupos, DC (23,3%) e PC (31,1%). Da mesma forma, a prevalência de distúrbios neuropsicológicos foi similar entre DC leve (30,8%) e PC.

A SC endógena representa uma condição clínica relativamente incomum que lembra vários achados da vida moderna: obesidade, hipertensão e depressão (2,5,8,27,28). Por isso é importante identificar aqueles sinais e sintomas que sugerem com maior probabilidade a presença de hipercortisolismo. O excesso de cortisol endógeno também leva a alguns efeitos catabólicos específicos. Dentre estes, incluem-se pele fina com fragilidade capilar, estrias abdominais violáceas (geralmente em pacientes mais jovens), dificuldade de cicatrização, imuno-supressão (maior probabilidade de ocorrência de infecções fúngicas e oportunistas), fraturas de costelas, hirsutismo na mulher, acne e fraqueza muscular (causando miopatia proximal) (23,26,27). Alterações no humor, especialmente depressão, também são encontrados comumente, embora mania, ansiedade e disfunção cognitiva possam estar presentes (23,29,30). A realização de testes diagnósticos para pesquisa de SC deve também ser considerada em pacientes com distúrbios clínicos causados ou piorados pelo hipercortisolismo. Neste contexto, sabe-se que existe uma prevalência de 2-5% de SC subclínica em pacientes com diabetes mal controlado (31,32). Um estudo preliminar também encontrou que pelo menos 3% dos pacientes com osteoporose apresentam hipercortisolismo leve (23). Deve-se também pesquisar SC na maioria das pacientes portadoras de síndrome dos ovários policísticos, visto que as manifestações clínicas desta síndrome são sobreponíveis às daquelas da SC (23,33). Em nossa série, pacientes com DC caracteristicamente apresentavam obesidade central (97,7%), hipertensão (75,6%), acne, hirsutismo e/ou alterações menstruais (63,9%) e diabetes ou intolerância à glicose (38,4%), manifestações clínicas também presentes nos pacientes com PC. No entanto, fascies cushingóides com pletora, gibosidade e gordura supra-clavicular foram mais prevalentes da DC. Adicionalmente, fragilidade capilar,

estrias abdominais violáceas e fraqueza muscular proximal foram características mais específicas da DC.

É importante ressaltar que pacientes com hipercortisolismo mais severo apresentam as características fenotípicas típicas da SC. Assim, a suspeita de DC é indiscutível na presença de obesidade central com acúmulo de gordura supra-clavicular, gibosidade, fragilidade capilar em pele fina, estrias violáceas, fraqueza muscular proximal, fadiga, hipertensão, intolerância à glicose ou diabetes e hiperandrogenismo (acne, hirsutismo, irregularidade menstrual). Estes pacientes não representam uma dificuldade diagnóstica na prática clínica. Entretanto, pacientes com DC leve podem desenvolver alterações físicas menos significativas e seus aspectos fenotípicos podem ser idênticos aos portadores de PC (2,5,8). Em nossa casuística, pacientes com DC leve realmente apresentaram um fenótipo clínico muito parecido com o dos portadores de PC.

Atrofia muscular e estrias violáceas são particularmente úteis para o diagnóstico de DC em adultos (1,5). Em nossa série, apenas 5 (6,8%) pacientes com PC apresentavam atrofia muscular (miopatia) e nenhum apresentava as estrias violáceas típicas do hipercortisolismo. Nos pacientes com DC, estas características foram encontradas em 47 (54,6%) e 31 (36%) pacientes, respectivamente. Adicionalmente, fragilidade capilar estava presente em somente 3 (4,1%) pacientes com PC, e em 38 (44,2%) com DC. Embora atrofia muscular, estrias violáceas e fragilidade capilar possam não estar presentes em muitos pacientes com DC, quando estes sinais são detectados, o diagnóstico de DC é o mais provável. Nos pacientes com DC leve o fenótipo clínico nem sempre é florido, sendo encontrados fragilidade capilar, atrofia muscular e estrias violáceas em 30,8%, 19,2% e 7,7% dos casos, respectivamente. Assim, a suspeita de DC deve ser também considerada nos pacientes com quadro clínico menos completo, particularmente na ocorrência concomitante de aumento de peso com acúmulo central de gordura, intolerância à glicose ou diabetes e

hipertensão arterial. Deste modo, alguns pacientes com síndrome metabólica merecem investigação para SC.

Em conclusão, um alto índice de suspeita clínica é essencial para o diagnóstico da DC. Pacientes com componentes da síndrome metabólica e mulheres com manifestações clínicas da síndrome dos ovários policísticos devem ser investigados para SC. Devido à heterogeneidade da doença, com parâmetros bioquímicos variáveis e manifestações clínicas muitas vezes inespecíficas, o diagnóstico da SC e de sua etiologia geralmente é um grande desafio para os clínicos. Isso é particularmente verdadeiro nos casos de hipercortisolismo leve. A diferenciação clínica entre DC leve e PC é geralmente difícil, assim como as características laboratoriais do hipercortisolismo podem ser encontradas de modo semelhante nestes dois grupos. Adicionalmente, não foram evidenciadas diferenças significativas na história clínica e exame físico em ambos os grupos. Nossa casuística demonstrou um fenótipo clínico muito similar entre pacientes com DC leve e PC. Assim, em vários pacientes apenas testes diagnósticos mais específicos ou reavaliações periódicas a médio e longo-prazo podem estabelecer de modo definitivo o diagnóstico correto. Entretanto, a presença de fragilidade capilar, fâscies arredondadas com pletora e acúmulo de gordura cervical e supraclavicular apontam de modo muito consistente para o diagnóstico de DC.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

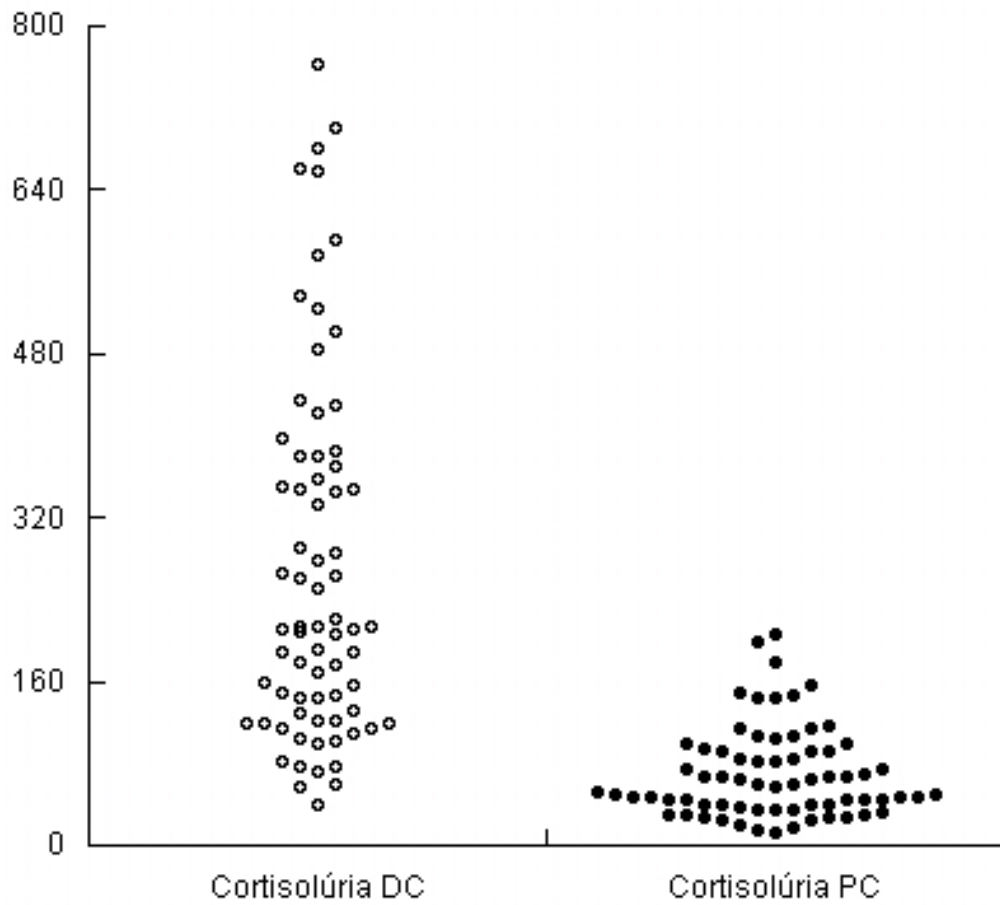
1. Makras P, Toloumis F, Papadogias D, Kaltsas GA, Besser M. The diagnosis and differential diagnosis of endogenous Cushing's syndrome. *Hormones (Athens)* 2006; 5:231-250.
2. Newell-Price J, Trainer P, Besser M, Grossman A. The diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome and pseudo-Cushing's states. *Endocr Rev* 1998;19:647-672.
3. Newell-Price J, Morris DG, Drake WM, et al. Optimal response criteria for the human CRH test in the differential diagnosis of ACTH-dependent Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:1640-1645.
4. Morris DG, Grossman AB. Dynamic tests in the diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome. *J Endocrinol Invest* 2003; 26: Suppl 7: 64-73.
5. Arnaldi G, Angeli A, Atkinson AB, et al. Diagnosis and complications of Cushing's syndrome: a consensus statement. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5593-5602.
6. Kaltsas GA, Giannulis MG, Newell-Price JD et al. A critical analysis of the value of simultaneous inferior petrosal sinus sampling in Cushing's disease and the occult ectopic adrenocorticotropin syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 487-492.
7. Orth DN. Cushing's syndrome. *N Engl J Med* 1995; 332: 791-803.
8. Boscaro M, Barzon L, Fallo F, Sonino N. Cushing's syndrome. *Lancet* 2001; 357: 783-791.
9. Newell-Price J, Grossman A. Diagnosis and management of Cushing's syndrome. *Lancet* 1999; 353: 2087-2088.
10. Reincke M. Subclinical Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2000; 29: 43-56.

11. Ross NS. Epidemiology of Cushing's syndrome and subclinical disease. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1994;23: 539-546.
12. Kaye TB, Crapo L. The Cushing syndrome: an update on diagnostic tests. *Ann Intern Med* 1990;112: 434-444.
13. Kuhn JM, Proeschel MF, Seurin DJ, Bertagna XY, Luton JP, Girard FL. Comparative assessment of ACTH and lipotropin plasma levels in the diagnosis and follow-up of patients with Cushing's syndrome: a study of 210 cases. *Am J Med* 1989;86: 678-684.
14. Tyrrell JB, Findling JW, Aron DC, Fitzgerald PA, Forsham PH. An overnight high-dose dexamethasone suppression test for rapid differential diagnosis of Cushing's syndrome. *Ann Intern Med* 1986;104: 180-186.
15. Savage MO, Storr HL, Grossman AB, Krassas GE. Growth and growth hormone secretion in paediatric Cushing's disease. *Hormones (Athens)* 2003; 2: 93-97.
16. Chrousos GP. Editorial: Growth Management of Children and Adolescents with Cushing's Disease *Hormones (Athens)* 2003; 2: 89-90.
17. Gold PW, Loriaux DL, Roy A et al. Responses to corticotropin-releasing hormone in the hypercortisolism of depression and Cushing's disease. Pathophysiologic and diagnostic implications. *N Engl J Med* 1986;314: 1329-1335.
18. Kirkman S, Nelson DH. Alcohol-induced pseudo-Cushing's disease: a study of prevalence with review of the literature. *Metabolism* 1988; 37: 390-394.
19. Wand GS, Dobs AS. Alterations in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in actively drinking alcoholics. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 72: 1290-1295.
20. Isidori AM, Kaltsas GA, Mohammed S, et al. Discriminatory value of the low-dose dexamethasone suppression test in establishing the diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5299-5306.

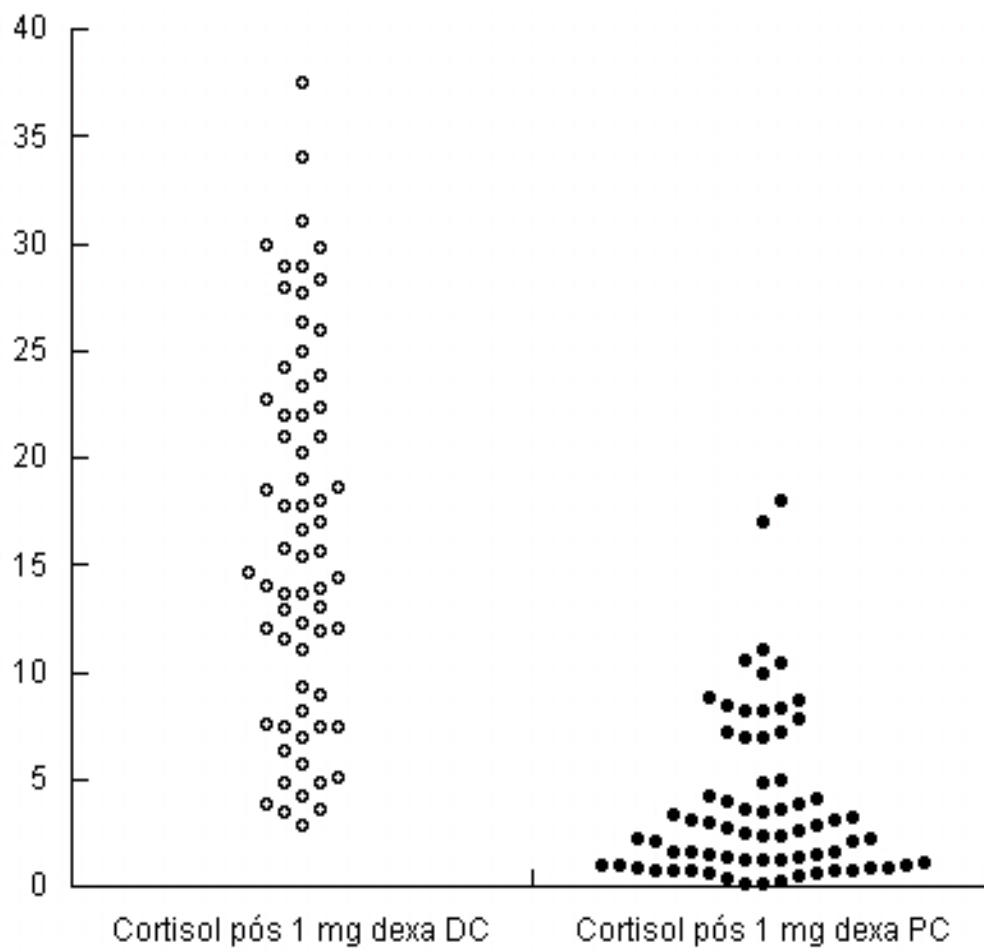


21. Findling JW, Raff H. Screening and diagnosis of Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2005; 34: 385-402.
22. Findling JW, Doppman JL. Biochemical and radiologic diagnosis of Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1994; 23: 511-537.
23. Findling JW, Raff H. Clinical Review: Cushing's Syndrome: Important Issues in Diagnosis and Management. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 3746–3753.
24. Giraldi FP, Pivonello R, Ambrogio AG et al. The dexamethasone-suppressed corticotropin- releasing hormone stimulation test and the desmopressin test to distinguish Cushing's syndrome from pseudo-Cushing's states. *Clin Endocrinol* 2007; 66:251–257.
25. Raff H, Findling JW. A physiologic approach to the diagnosis of Cushing syndrome. *Ann Intern Med* 2003; 138:980–991.
26. Bertagna X, Raux-Demay MC, Giulhaume B, Girard F, Luton JP. Cushing's disease. In: Melmed S, ed. *The pituitary*. 2nd ed. Malden, MA: Blackwell 2002: 592–612.
27. Newell-Price J, Bertagna X, Grossman AB, Nieman LK. Cushing's syndrome. *Lancet* 2006; 367:1605–1617.
28. Tran HA, Petrovsky N. Difficulties in excluding Cushing syndrome in obese subjects. *Endocrinologist* 2006;16:15–19.
29. Dorn LD, Burgess ES, Dubbert B et al. Psychopathology in patients with endogenous Cushing's syndrome: 'atypical' or melancholic features. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1995; 43: 433–442.
30. Bourdeau I, Bard C, Forget H, Boulanger Y, Cohen H, Lacroix A. Cognitive function and cerebral assessment in patients who have Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2005; 34:357–369.
31. Catargi B, Rigalleau V, Poussin A et al. Occult Cushing's syndrome in type-2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:5808–5813.

32. Leibowitz G, Tsur A, Chayen SD, Salameh M, Raz I, Cerasi E, Gross DJ. Pre-clinical Cushing's syndrome: an unexpected frequent cause of poor glycaemic control in obese diabetic patients. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1996; 44:717–722.
33. Kaltsas GA, Korbonits M, Isidori AM et al. How common are polycystic ovaries and the polycystic ovarian syndrome in women with Cushing's syndrome? *Clin Endocrinol (Oxf)* 2000 ; 53:493–500.



**Figura 1.** Cortisolúria ( $\mu\text{g}/24\text{h}$ ) basal nos pacientes com Doença de Cushing (DC) e com Pseudo-Cushing (PC) ( $P < 0,0001$ ).



**Figura 2.** Cortisol sérico ( $\mu\text{g/dl}$ ) pós teste de supressão com 1 mg de dexametasona “overnight” nos pacientes com Doença de Cushing (DC) e com Pseudo-Cushing (PC) ( $P < 0,0001$ ).

**Tabela 1.** Comparações entre Doença de Cushing (DC) e Pseudo-Cushing (PC).

	<b>DC</b>	<b>PC</b>	<b>P</b>
Sexo (F/M)	67/19	65/09	0,15
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	30,9 ± 5,57	33,5 ± 6,7	0,07
Idade (anos)	38,1 ± 12,9	39,1 ± 14,0	0,25
Obesidade Central/ Aumento Peso	84/86 (97,7%)	74/74 (100%)	0,54
Hipertensão	65/86 (75,6%)	39/74 (52,7%)	0,004
Hirsutismo/Acne/ Alteração Menstrual	55/86 (63,9%)	41/74 (55,4%)	0,35
DM / IG	33/86 (38,4%)	24/74 (32,4%)	0,54
Giba/ Gordura SC	68/86 (79,1%)	22/74 (29,7%)	<0,0001
Pletora	63/86 (73,2%)	28/74 (37,8%)	<0,0001
Alterações Psiquiátricas	20/86 (23,3%)	23/74 (31,1%)	0,35
Fraqueza Muscular	47/86 (54,6%)	05/74 (06,8%)	<0,0001
Estrias Violáceas	31/86 (36,0%)	00/74 (00,0%)	<0,0001
Fragilidade Capilar	38/86 (44,2%)	03/74 (04,1%)	<0,0001

**Tabela 2.** Comparações entre pacientes com Doença de Cushing (DC) Leve e Pseudo-Cushing (PC).

	<b>DC Leve</b>	<b>PC</b>	<b>P</b>
Sexo (F/M)	22/04	65/09	0,94
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	31,4 ± 5,5	33,5 ± 6,7	0,07
Idade ( anos )	42,1 ± 12,9	39,1 ± 14,0	0,34
Obesidade Central	25/26 (96,7%)	74/74 (100%)	0,58
Aumento de Peso			
Hipertensão	19/26 (73,1%)	39/74 (52,7%)	0,12
Hirsutismo/Acne/	19/26 (73,1%)	41/74 (55,4%)	0,18
Alterações Menstruais			
DM/Intolerância Glicose	07/26 (26,9%)	24/74 (32,4%)	0,78
Giba/Gordura SC	23/26 (88,4%)	22/74 (29,7%)	<0,0001
Pletora	17/26 (65,4%)	28/74 (37,8%)	0,03
Alterações Psiquiátricas	08/26 (30,8%)	23/74 (31,1%)	0,83
Fraqueza Muscular	05/26 (19,2%)	05/74 (06,8%)	0,15
Estrias Violáceas	02/26 (07,7%)	00/74 (00,0%)	0,11
Fragilidade Capilar	08/26 (30,8%)	03/74 (04,1%)	0,0007

**Artigo Original em Português 2**

## **Avaliação Prospectiva do Teste do DDAVP no Diagnóstico da Doença de Cushing**

Rollin G, Czepielewski MA.

Serviço de Endocrinologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Metabologia e Nutrição

Faculdade de Medicina, UFRGS, Porto Alegre, Brazil.

Endereço:

Guilherme Rollin

Serviço de Endocrinologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Ramiro Barcelos, 2350 Prédio 14 – 4º andar

CEP 90035-003

Porto Alegre – Brazil

E-mail: [guilhermerollin@ibest.com.br](mailto:guilhermerollin@ibest.com.br)

## **Resumo**

**Introdução:** O diagnóstico da síndrome de Cushing representa um desafio, especialmente nos casos de hipercortisolismo leve. É fundamental diferenciar estes pacientes daqueles com pseudo-Cushing, como nos casos de depressão, alcoolismo, síndrome dos ovários policísticos, obesidade central e síndrome metabólica. Este estudo tem o objetivo de avaliar o teste do DDAVP no diagnóstico diferencial da doença de Cushing (DC) com os estados de pseudo-Cushing (PC). Além disso, serão avaliadas a sensibilidade e especificidade dos outros testes diagnósticos para SC: cortisol urinário livre, teste com 1 e 2 mg de dexametasona e cortisol sérico a meia-noite.

**Pacientes e Métodos:** Foram estudados prospectivamente 68 pacientes com DC e 56 PC. Pacientes foram submetidos a dosagem de cortisol urinário livre e teste com 1 mg de dexametasona “overnight”. Nos casos de resultados alterados ou duvidosos, foram realizados o teste com 2 mg de dexametasona e a dosagem do cortisol sérico à meia-noite. Todos os pacientes foram submetidos ao teste do DDAVP.

**Resultados:** A análise da curva ROC dos vários testes não identificou nenhum critério capaz de separar completamente os dois grupos: DC e PC. Cortisol sérico  $>2,7 \mu\text{g/dl}$  após teste com 1 mg de dexametasona “overnight” representou uma sensibilidade de 100%. No teste do DDAVP, o aumento percentual não ofereceu nenhuma vantagem na eficácia diagnóstica. Por outro lado, considerando um aumento absoluto do ACTH de  $37\text{pg/ml}$  observou-se resposta positiva ao DDAVP em apenas 2 de 56 (3,6%) dos pacientes com PC, significando uma especificidade 96,4% com sensibilidade de 87,9%. Considerando um pico de ACTH de  $71\text{pg/ml}$ , observou-se uma especificidade de 94,6% com sensibilidade de 92,6%. Cortisol sérico pós DDAVP não foi um bom teste para diferenciar DC de PC.



**Conclusões:** O teste do DDAVP foi útil na diferenciação dos pacientes com DC dos PC. Entretanto, é importante considerar como critério de resposta o aumento absoluto e o pico do ACTH atingido após a administração do DDAVP.

**Descritores:** DDAVP, Doença de Cushing, Estados de Pseudo-Cushing, Diagnóstico

**Diferencial**

## **Introdução**

O diagnóstico da síndrome de Cushing (SC) ainda representa um desafio endocrinológico. As dificuldades diagnósticas estão presentes tanto no estabelecimento da existência do hipercortisolismo quanto na identificação da causa da SC, especialmente nos pacientes com hipercortisolismo leve. Os pacientes portadores de SC leve necessitam ser diferenciados daqueles que apresentam alterações clínicas que mimetizam a SC, denominados de pseudo-Cushing (PC), como na depressão, alcoolismo, síndrome dos ovários policísticos e obesidade visceral. Nesses pacientes, muitas características do hipercortisolismo, tais como irregularidade menstrual, obesidade central, hipertensão, diabetes mérito e alterações de humor podem ocorrer em associação com excesso de cortisol leve, alteração no ritmo de secreção do cortisol e supressão limítrofe após administração de dexametasona. Até o momento, o diagnóstico de PC não apresenta critérios bem definidos, sendo estabelecido geralmente em pacientes com manifestações clínicas leves de hipercortisolismo quando a avaliação hormonal não preenche completamente os critérios diagnósticos de SC, cujas manifestações clínicas regridem ou não evoluem com o passar do tempo (1,2). O teste do CRH pós-supressão com dexametasona e, mais recentemente, o teste da desmopressina (DDAVP) têm sido utilizados para o diagnóstico de PC (3,4). Este último apresenta a vantagem de diferenciar, através da resposta do ACTH/cortisol ao DDAVP, pacientes com tumores hipofisários produtores de ACTH (doença de Cushing – DC) dos pacientes normais e com PC (1,4,5).

O DDAVP é um análogo de longa ação da vasopressina com ação seletiva nos receptores renais V2. O potencial uso clínico do DDAVP no diagnóstico diferencial da SC e na diferenciação entre DC e PC tem sido proposto (4). A administração endovenosa do DDAVP produz aumento significativo do ACTH e cortisol na grande maioria dos pacientes com DC, enquanto que em indivíduos com outras formas de SC são, geralmente, não responsivos ao teste

(5,7-11). Nos pacientes com obesidade simples (11), com depressão (6) e em indivíduos normais os níveis de ACTH e cortisol também não aumentam após administração do DDAVP. A partir dessas observações, o teste do DDAVP pode ser considerado uma ferramenta adicional na avaliação diagnóstica de pacientes com suspeita de DC.

A experiência clínica da resposta ao teste do DDAVP ainda é limitada nos pacientes com PC. Além disso, critérios de resposta do ACTH e cortisol ao teste do DDAVP foram adotados a partir da experiência com o teste do CRH. Este estudo foi delineado para avaliar os efeitos da administração do DDAVP nos pacientes com DC e naqueles com suspeita clínica de SC (pseudo-Cushing-PC). Adicionalmente, avaliamos a sensibilidade e especificidade de vários testes diagnósticos habitualmente utilizados: cortisol urinário livre, teste de supressão com 1 mg de dexametasona “overnight”, dosagem do cortisol sérico à meia-noite, níveis basais de ACTH e cortisol após supressão com 2 mg de dexametasona.

## **Pacientes e Métodos.**

Foram avaliados 124 pacientes, 68 com DC (56 mulheres e 12 homens; média de idade de  $39 \pm 12,8$  anos, variando de 12 à 62 anos; IMC de  $31,8 \pm 6$  kg/m<sup>2</sup>) e 56 com suspeita de SC-pseudo-Cushing (47 mulheres e 9 homens; média de idade  $39,2 \pm 14,2$  anos, variando de 10 à 68 anos; IMC  $33,5 \pm 6,7$  kg/ m<sup>2</sup>). O diagnóstico de DC foi confirmado histologicamente em 62 pacientes após realização da cirurgia transesfenoidal. Em 2 pacientes com DC o tumor foi encontrado durante a cirurgia, porém não houve confirmação histológica. Entretanto, esses pacientes alcançaram a remissão clínica e hormonal do hipercortisolismo após cirurgia transesfenoidal, estando em acompanhamento há 15 e 30 meses. Nos 4 pacientes restantes o diagnóstico de DC foi estabelecido a partir da cortisolúria de 24 h elevada, cortisol sérico à meia-noite elevado, ACTH plasmático normal ou elevado e realização do cateterismo do seio petroso inferior bilateral indicando produção hipofisária do ACTH. Considerou-se um gradiente do ACTH central-periferia (C/P) maior que 2 no basal ou maior que 3 após estímulo com DDAVP como sendo indicativo de DC.

Em todos os outros pacientes com suspeita de SC (estados de pseudo-Cushing), o diagnóstico de SC foi excluído através da investigação hormonal. Todos os pacientes com pseudo-Cushing foram submetidos à dosagens de cortisol livre urinário e ao teste de supressão com 1 mg de dexametasona “overnight”. Em 21 pacientes com pseudo-Cushing, não houve supressão adequada do cortisol sérico ( $> 5 \mu\text{g/dl}$ ) e/ou níveis urinários de cortisol estavam elevados. Nestes pacientes, avaliação adicional foi necessária: teste de supressão clássico com 2 mg de dexametasona (administração oral de 0,5 de dexametasona por 2 dias) e dosagem de cortisol sérico a meia-noite para avaliação do ritmo circadiano da secreção do cortisol (coleta através de cateter inserido previamente em veia periférica).

Teste do DDAVP foi realizado pela manhã, após punção de veia periférica para colocação de cateter, aguardando-se 30 minutos para o início do teste. A dose do DDAVP administrada endovenosamente foi de 10 µg. Coletas de ACTH e cortisol foram realizadas nos tempos -15, 0, 15,30, 45 e 60 minutos.

Cortisol foi dosado através de kit de Radioimunoensaio (Diagnostic Systems Laboratories, Inc., Webster, TX) com coeficientes de variação intra- e interensaio de 8,3% e 9,8%, respectivamente, sendo limite inferior de detecção de 0,3 µg/dl. Níveis normais de cortisol livre urinário do ensaio utilizado eram de 20-90 µg/24h. A dosagem do ACTH plasmático foi obtida através do ensaio imunométrico enzimático quimioluminescência (Immulite, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA), com coeficientes de variação intra- e interensaio de 5,6% e 7,75%, respectivamente, sendo limite inferior de detecção de 5,0 pg/ml .

A análise estatística foi realizada através do teste T de Student ou teste de Mann-Whitney para valores não pareados. A prevalência dos sintomas e a diferença entre os parâmetros diagnósticos foram comparados através do teste do qui-quadrado. A sensibilidade, especificidade foram calculados através de métodos estatísticos padronizados.. A curva ROC foi utilizada para quantificar a eficácia diagnóstica em cada teste e definir os melhores pontos de corte. Considerou-se um  $P < 0,05$  para diferença estatisticamente significativa.

## Resultados

Cortisolúria de 24h, cortisol sérico à meia-noite e cortisol após 1mg de dexametasona “overnight” foram significativamente maiores nos pacientes com DC em comparação com os PC ( $429,2 \pm 605$  vs.  $72,8 \pm 46,9$   $\mu\text{g}/24\text{ h}$ ,  $P < 0,0001$ ;  $22,3 \pm 9,4$  vs.  $4,1 \pm 4$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ ,  $P < 0,0001$ ; e  $16,2 \pm 9,8$  vs.  $4,3 \pm 3,7$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ ,  $P < 0,0001$ ), porém os resultados ainda apresentam sobreposição quando os valores são analisados individualmente (Figura 1).

Os pontos de corte tradicionalmente indicativos de SC nos diferentes testes também foram avaliados (Tabela 1). Para o teste com 1 mg de dexametasona (cortisol sérico  $> 5$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) a sensibilidade e especificidade foram de 92,4% e 77%, respectivamente. Cortisolúria elevada e cortisol sérico à meia-noite  $> 7,5$   $\mu\text{g}/\text{dl}$  representaram uma sensibilidade de 90,3% e 98,4% , e especificidade de 79% e 84% respectivamente. Considerando um critério mais rigoroso para o teste com 1 mg e para o teste com 2 mg de dexametasona (cortisol sérico  $> 1,8$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) , a sensibilidade aumenta para 100% e 95%, entretanto a especificidade torna-se muito baixa (51% e 61%, respectivamente). A análise da curva ROC e a sua comparação entre os vários testes (cortisolúria, supressão com 1 e 2 mg de dexametasona, cortisol a meia-noite e níveis basais de ACTH) evidenciou uma semelhança na área sob a curva em quase todas as situações, exceto na comparação entre cortisol a meia-noite com níveis basais de ACTH (0,98 vs. 0,83;  $P=0,023$ ). Mostrando que dos testes de “screening” o cortisol sérico à meia-noite tem a melhor performance. Os melhores critérios a serem utilizados nos testes iniciais (cortisolúria e cortisol pós 1mg de dexametasona) e nos outros 3 testes adicionais (ACTH basal, cortisol sérico à meia-noite e teste com 2 mg de dexametasona) estão ilustrados na Tabela 2. Sensibilidade máxima (100%) para os 2 testes clássicos de triagem no diagnóstico da SC foi obtida para cortisolúria de 24h maior que 39  $\mu\text{g}$  e cortisol sérico maior que 2,7  $\mu\text{g}/\text{dl}$  (pós 1

mg de dexametasona “overnight”). Níveis de ACTH plasmático acima de 22 pg/ml atinge uma sensibilidade de 100%.

A desmopressina provocou uma elevação significativa do ACTH plasmático nos pacientes com DC com aumento máximo (pico) ocorrento nos 15-30 minutos. Nos pacientes com PC, a resposta do ACTH ao DDAVP foi extremamente modesta, e o pico ocorreu ao longo de todo o teste. As respostas do ACTH e do cortisol ao DDAVP estão ilustradas nas Figuras 2 e 3 e na Tabela 3. Quando o critério clássico de aumento do ACTH acima de 50% do basal foi adotado, a grande maioria dos pacientes com DC (94,1%) e muitos com PC (39,3%; 22 dos 56) foram responsivos ao DDAVP. Por outro lado, ao adotar-se um critério de resposta considerando um aumento absoluto do ACTH de 37 pg/ml, como indicado pela análise da curva ROC, observou-se uma resposta positiva apenas em 2 dos 56 (3,6%) pacientes com PC. Assim sendo, nota-se que a sensibilidade e especificidade do teste variam significativamente conforme o critério de resposta adotado (Tabela 4).

A avaliação da curva ROC não permitiu identificar um ponto de corte que permita diferenciar totalmente os dois grupos (DC e PC) a partir dos testes analisados. Para o teste do DDAVP, com critério proposto por Moro et al. (4) e por Giraldi et al. (1) (aumento absoluto do ACTH maior que 30 pg/ml) pode ser observada uma resposta ao DDAVP e apenas 7 dos 56 (12,5%) pacientes com PC. A redução deste ponto de corte pode aumentar a sensibilidade do teste, porém este procedimento invariavelmente será acompanhado por uma redução considerável na especificidade. O aumento percentual hormonal como critério de resposta não oferece nenhuma vantagem na eficácia diagnóstica do teste.

Para confirmar o diagnóstico da DC, por sua vez, ACTH após estímulo com DDAVP oferece excelente especificidade: 96,4 % para uma aumento absoluto igual ou maior que 37 pg/ml e 94,6% para um pico atingido de 71 pg/ml. A Figura 4 representa a curva ROC contruída a partir do teste do DDAVP (respostas do ACTH e cortisol) para o diagnóstico de

DC. Considerando a área sob a curva (Figura 4), nota-se que a utilização dos critérios aumento absoluto e pico do ACTH são muito parecidos, e que o aumento percentual do ACTH é equivalente ao pico do cortisol, ambos sendo inferiores aos dois critérios supracitados (Tabela 5). Ao contrário do ACTH, O cortisol sérico após DDAVP não é um bom teste para diferenciar DC de pseudo-Cushing (Figura 5 e Tabela 5). Observou-se uma importante sobreposição entre os dois grupos estudados, tanto considerando pico, aumento absoluto ou aumento percentual do cortisol, resultando em um teste com acurácia diagnóstica inadequada.



## Discussão

A síndrome de Cushing é um distúrbio grave com repercussões sistêmicas debilitantes. Nos últimos anos, entretanto, seu diagnóstico tem sido estabelecido mais precocemente, em casos de hipercortisolismo mais leve, bem antes do aparecimento do quadro clínico florido e típico. Com isso, muitos pacientes tem sido diagnosticados mesmo na ausência dos estigmas clássicos do hipercortisolismo. Nestes casos, as manifestações clínicas são semelhantes às encontradas na população de obesos, diabéticos, hipertensos, portadores de depressão e/ou síndrome de ovários policísticos. Condições estas que estão cada vez mais prevalentes na população geral hoje em dia e podem apresentar discretas alterações na secreção de hormônios do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (12,13,14) sendo considerados estados de PC (1). Nossos resultados demonstraram que os testes clássicos de triagem não são satisfatórios na diferenciação entre DC e PC, já que muitos pacientes com PC apresentam resultados falso positivos e alguns pacientes com DC apresentam resultados normais, especialmente nos casos de DC leve. Entretanto, as dosagens do cortisol sérico após 1mg de dexametasona “overnight” ( $>2,7 \mu\text{g/dl}$ ) e do ACTH basal ( $> 22 \text{ pg/ml}$ ) representam uma boa medida de teste de triagem com sensibilidade de 100%. Adicionalmente, o ACTH após DDAVP constituiu um bom teste para confirmação diagnóstica (especificidade de 94,6% para pico de  $71 \text{ pg/ml}$  e 96,4% para aumento absoluto de  $37 \text{ pg/ml}$ ).

Os testes de “screening” iniciais (1mg dexametasona e cortisolúria) apresentam sensibilidade e especificidade variáveis, de acordo com o critério adotado podem variar de 70 à 100% e de 50 à 90% respectivamente (15). No início da investigação de um paciente com suspeita de SC, devemos empregar testes com alta sensibilidade. Neste contexto, esses testes identificam corretamente os pacientes com DC, porém vários pacientes com pseudo-Cushing podem ser classificados equivocadamente, já que podem apresentar resultados positivos para

DC. Dosagem do cortisol sérico à meia-noite e o clássico teste de supressão com dexametasona 2mg devem ser realizados e são amplamente validados no contexto hospitalar, exigindo internação do paciente. O teste com 2 mg de dexametasona apresenta alta sensibilidade (98%) quando adotado o critério de cortisol sérico superior à 1,8 µg /dl como indicativo de SC (15), entretanto no nosso estudo este critério quando adotado resultou em uma especificidade muito baixa (61%). Em relação ao cortisol à meia-noite, ao ser adotado o critério de 7,5 µg/dl, Papanicolaou et al. (16) obtiveram uma sensibilidade e especificidade de 94% e 100% respectivamente, enquanto que em nossa casuística foram de 98,4% e 83% respectivamente. O teste do DDAVP, por sua vez, apresenta a vantagem de ter sido amplamente estudado a nível ambulatorial e apresenta especificidade em torno de 95%, com discutido anteriormente.

Os nossos resultados confirmam a capacidade do DDAVP em estimular a secreção do ACTH e cortisol em pacientes com DC. Porém, também observou-se uma resposta positiva ao DDAVP em alguns pacientes sem DC, embora a magnitude do aumento do ACTH e do cortisol tenha sido significativamente maior nos indivíduos com DC. Esta resposta positiva no grupo sem DC não foi detectada na maioria das séries que estudaram o teste do DDAVP (5-10, porém Scott et al. (17) também relataram em sua série casos de pacientes sem DC que apresentavam aumento do ACTH após administração do DDAVP. Neste estudo, mais de 50% dos indivíduos normais apresentaram resposta positiva ao DDAVP. Provavelmente essas discrepâncias nos resultados sejam fruto da ausência de um critério padronizado e validado para o teste do DDAVP, onde na grande maioria dos estudos se considerava com critério de resposta um aumento do ACTH de 35-50% em relação ao basal. Além disso, poucos pacientes com PC foram avaliados nas séries publicadas até o momento e poucos estudos avaliaram um grupo controle com administração de placebo (solução salina) para definir melhor o critério de resposta. No estudo de Scott et al. (17), por

exemplo, o teste foi realizado no final da tarde, enquanto que na maioria das outras séries o teste era realizado pela manhã, diferença que poderia explicar essas discrepâncias nos resultados obtidos.

O teste do DDAVP consegue diferenciar pacientes com DC daqueles com depressão (6) e daqueles com obesidade simples (11). Entretanto, 15% dos pacientes obesos apresentaram resposta positiva ao DDAVP conforme o critério adotado naquele estudo (11). O teste do DDAVP também foi útil no diagnóstico diferencial de pacientes com SC ACTH-dependente, visto que a grande maioria dos pacientes com síndrome do ACTH ectópico não respondem ao DDAVP (5,7,9). No entanto, mais recentemente, foram relatados vários casos de pacientes com síndrome do ACTH ectópico apresentando resposta positiva ao teste, especialmente casos de carcinóide brônquico. Neste contexto, foram identificados receptores V3 nos tumores carcinóides ressecados (15).

Praticamente todos os estudos (5-9,11) que avaliaram o teste do DDAVP no diagnóstico diferencial da SC adotaram como critério de resposta o aumento relativo (percentual) do ACTH e cortisol (35-50% e 20%, respectivamente). Porém, em 2000 no estudo de Moro et al. (4) foi proposto um critério de aumento absoluto do ACTH para diferenciar pacientes com DC de pacientes com pseudo-Cushing. Considerando este novo critério, aumento absoluto do ACTH maior ou igual a 6 pmol/L (30 pg/ml) em relação ao basal conseguiu identificar corretamente 18 de 20 pacientes com DC leve e 29 de 30 pacientes com pseudo-Cushing, resultando em uma acurácia diagnóstica de 94% (sensibilidade de 90% e especificidade de 96,7%). Mais recentemente, Giraldi et al. (1) avaliaram os testes do CRH pós-dexa e do DDAVP no diagnóstico diferencial da DC com estados de pseudo-Cushing. Os autores adotaram o mesmo critério de Moro et al. e encontraram uma sensibilidade de 81,5% e especificidade de 90%. Nossos resultados foram semelhantes. Considerando um aumento absoluto do ACTH de 37 pg/ml ou um pico atingido de 71pg/ml após administração do

DDAVP, a sensibilidade foi de 88,2% e 92,6% com especificidade de 96,4% e 94,6%, respectivamente. Considerando o critério antigo para resposta do DDAVP (aumento de 50% do ACTH em relação ao basal), muitos pacientes sem DC apresentariam resposta positiva ao DDAVP, ou seja, um teste com muitos falsos positivos (pacientes seriam classificados equivocadamente como portadores de DC).

A razão para o aumento exagerado do ACTH e do cortisol em resposta ao DDAVP nos pacientes com DC ainda não está bem compreendida. Sabe-se que uma das principais propriedades da desmopressina é sua afinidade aos receptores V2 renais com consequente efeito antidiurético. Adicionalmente, foi clonado um outro receptor específico denominado V1b (ou V3) (18). O receptor V3 é codificado por um gene específico encontrado no corticotrofo hipofisário normal e no adenoma produtor de ACTH (19). Sugere-se que a ausência da resposta ao DDAVP encontrado na maioria dos indivíduos normais esteja relacionado ao número insuficiente de receptores V3 encontrado no corticotrofo normal. Por outro lado, especula-se que no corticotrofo tumoral ocorra uma expressão muito aumentada dos receptores V3 ou a expressão ectópica do receptor V2, e desta forma justificando a resposta positiva do ACTH no teste do DDAVP em pacientes com DC (20).

Assim sendo, podemos concluir que o diagnóstico diferencial entre pacientes com SC causado por adenoma hipofisário produtor de ACTH (DC) e estados de PC ainda representa um grande desafio, visto que nenhum teste isoladamente é capaz de estabelecer corretamente o diagnóstico. No nosso estudo, os níveis de cortisol pós 1 mg de dexametasona e os níveis basais do ACTH representam bom testes para “screening” e a resposta do ACTH ao DDAVP permaneceu sendo um teste efetivo para confirmar a DC, com alta especificidade. A habilidade do teste do DDAVP em diferenciar pacientes com DC de indivíduos com PC foi bem demonstrada. Entretanto, é fundamental considerar o aumento absoluto ou o pico atingido do ACTH após administração do DDAVP ao invés do aumento percentual como

critério de resposta do teste. Assim, o teste do DDAVP pode ser considerado uma importante ferramenta adicional para o diagnóstico da DC. A utilização de vários testes dinâmicos em conjunto com uma avaliação clínica cuidadosa e um seguimento a longo-prazo, muitas vezes são necessários para o estabelecimento correto do diagnóstico de SC nos pacientes suspeitos mas que inicialmente apresentam testes com resultados inconclusivos.

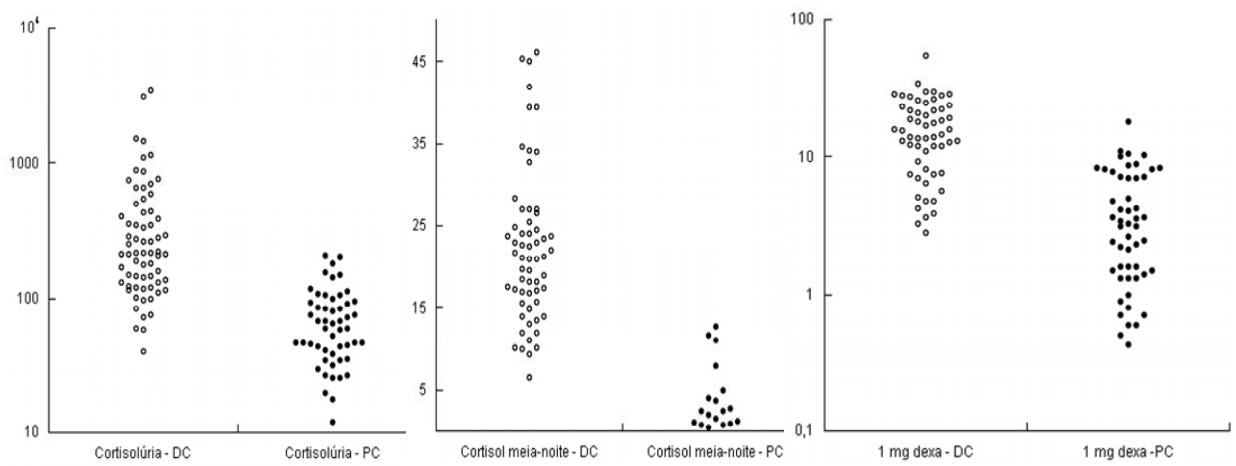
## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Giraldi FP, Pivonello R, Ambrogio AG et al. The dexamethasone-suppressed corticotropin- releasing hormone stimulation test and the desmopressin test to distinguish Cushing's syndrome from pseudo-Cushing's states. Clin Endocrinol 2007; 66:251–257.
2. Newell-Price J, Trainer P, Besser M, Grossman A. The diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome and pseudo-Cushing's states. Endocr Rev 1998;19:647-672.
3. Yanovski JA, Cutler GB Jr, Chrousos GP, Nieman LK. Corticotropin-releasing hormone stimulation following low-dose dexamethasone administration: a new test to distinguish Cushing's syndrome from pseudo-Cushing's states. J Am Med Assoc 1993 ;269:2232-2238.
4. Moro M, Putignao P, Losa M, Invitti C, Maraschini C, Cavagnini F. The desmopressin test in the differential diagnosis between Cushin's disease and pseudo-Cushing states. J Clin Endocrinol Metab 2000; 85: 3569-3574.
5. Malerbi DA, Mendonça BB, Liberman B, et al. The desmopressin stimulation test in the differential diagnosis of Cushing's syndrome. Clin Endocrinol 1993 ;38:463-72 .
6. Malerbi DA, Fragoso MA, Vieira Filho AHG, Brenlha EML, Mendonça BB. Cortisol and adrenocorticotropin response to desmopressin in women with Cushing's disease compared with depressive illness. J Clin Endocrinol Metab 1996 ;81:2233-37.
7. Colombo P, Passini E, Re T, Faglia G, Ambrosi B. Effect of desmopressin on ACTH and cortisol secretion in states of ACTH excess. Clin Endocrinol 1997 ;46:661-668

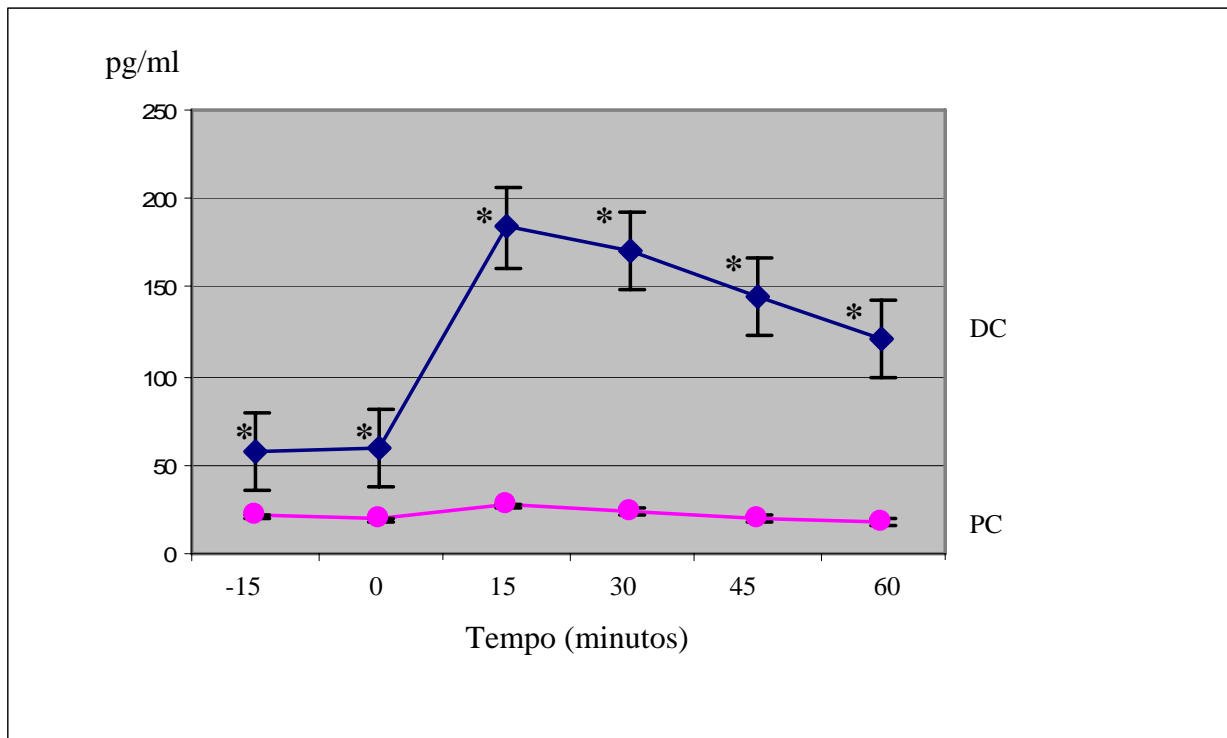
8. Sakai Y, Horiba N, Tozawa F, Sakai K, Kuwayama A, Demura H, Suda T. Desmopressin stimulation test for diagnosis of ACTH-dependent Cushing's syndrome. *Endocr J* 1997 ;44:687-95.
9. Newell-Price J, Perry L, Medbak S, et al. A combined test using desmopressin and corticotropin-releasing hormone in the differential diagnosis of Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997 ;82:176-181.
10. Ceresini G, Freddi M, Paccotti P, Valenti G, Merchenthaler I. Effects of ovine corticotropin-releasing hormone injection and desmopressin coadministration on galanin and adrenocorticotropin plasma levels in normal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:607– 610.
11. Tsagarakis S, Tsigos Com, Valiliou V, et al. The desmopressin and combined CRH-desmopressin testes in the differential diagnosis of ACTH-dependent Cushing's syndrome: constraints imposed by the expression of V2 vasopressin receptors in tumors with ectopic ACTH secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 1646-1653.
12. Groote Veldman, R. & Meinders, A.E. On the mechanism of alcohol-induced pseudo-Cushing's syndrome. *Endocrine Reviews* 1996; 17, 262–268.
13. Barden, N. Implication of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the physiopathology of depression. *Journal of Psychiatry and Neuroscience* 2004; 29, 185–193.
14. Invitti, C., De Martin, M., Delitala, G., Veldhuis, J.D. & Cavagnini, F. Altered morning and nighttime pulsatile corticotropin and cortisol release in polycystic ovary syndrome. *Metabolism* 1998; 47, 143–148.
15. Makras P, Toloumis F, Papadogias D, Kaltsas GA, Besser M. The diagnosis and differential diagnosis of endogenous Cushing's syndrome. *Hormones (Athens)* 2006; 5:231-250.

16. Papanicolaou DA, Yanovski JA, Cutler Jr. GB, Chrousos GC, Nieman LK. A single midnight serum cortisol measurement distinguishes Cushing's syndrome from pseudo-Cushing states. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 1163-1167.
17. Scott LV, Medbak S, Dinan TG. ACTH and cortisol release following intravenous desmopressin: a dose-response study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999; 51:653– 658.
18. Sugimoto Y, Sato M, Mochizuchi S, et al. Molecular cloning and functional expression of cDNA encoding the human V1b vasopressin receptor. *J Biol Chem* 1994; 269:27088 – 27092.
19. De Keyzer Y, Auzan C, Lenne F, et al. Cloning and characterization of the human V3 pituitary vasopressin receptor. *FEBS Lett* 1994; 356:215–220.
20. Dahia PLM, Ahmed-Shuaib A, Jacobs RA, et al. Vasopressin receptor expression and mutation analysis in corticotropin-secreting tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:1768-71.





**Figura 1.** Cortisolúria basal ( $\mu\text{g}/24\text{h}$ ), cortisol a meia-noite ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) e cortisol pós supressão com 1 mg de dexametasona ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) na avaliação diagnóstica de pacientes com Doença de Cushing (DC) e Pseudo-Cushing (PC).

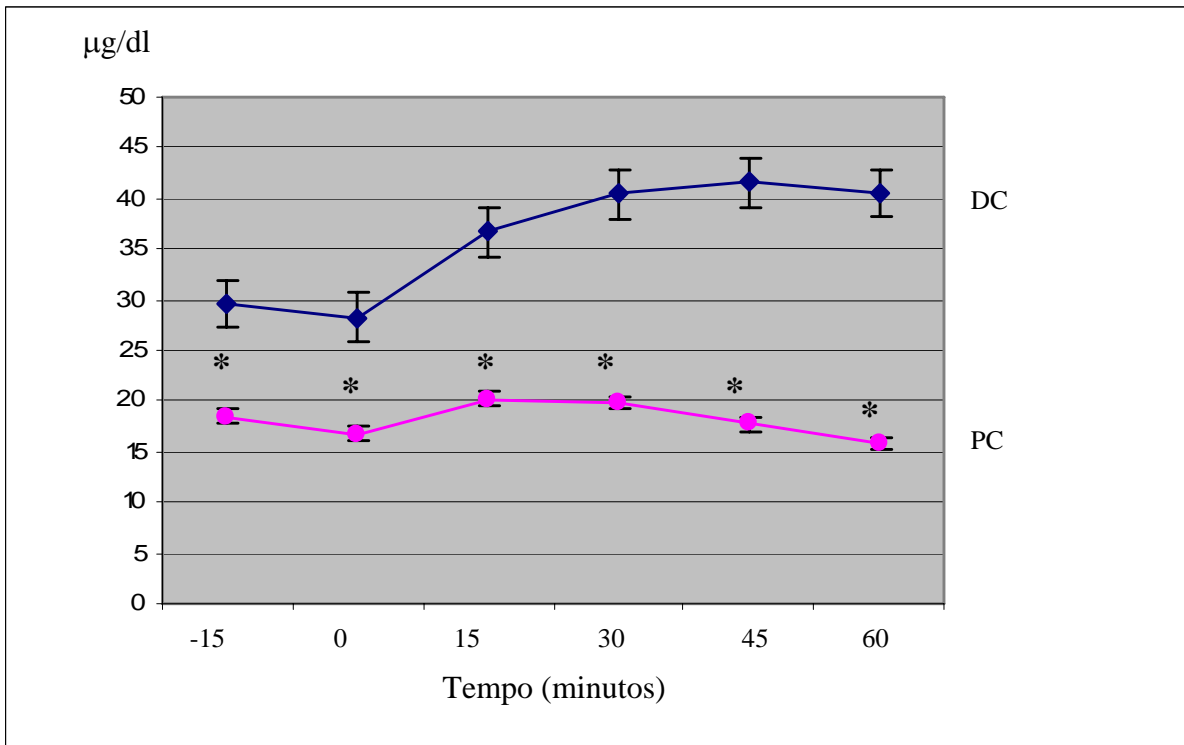


**Figura 2.** Resposta do ACTH após administração do DDAVP.

DC: Doença de Cushing

PC: Pseudo-Cushing

\* : P<0,0001

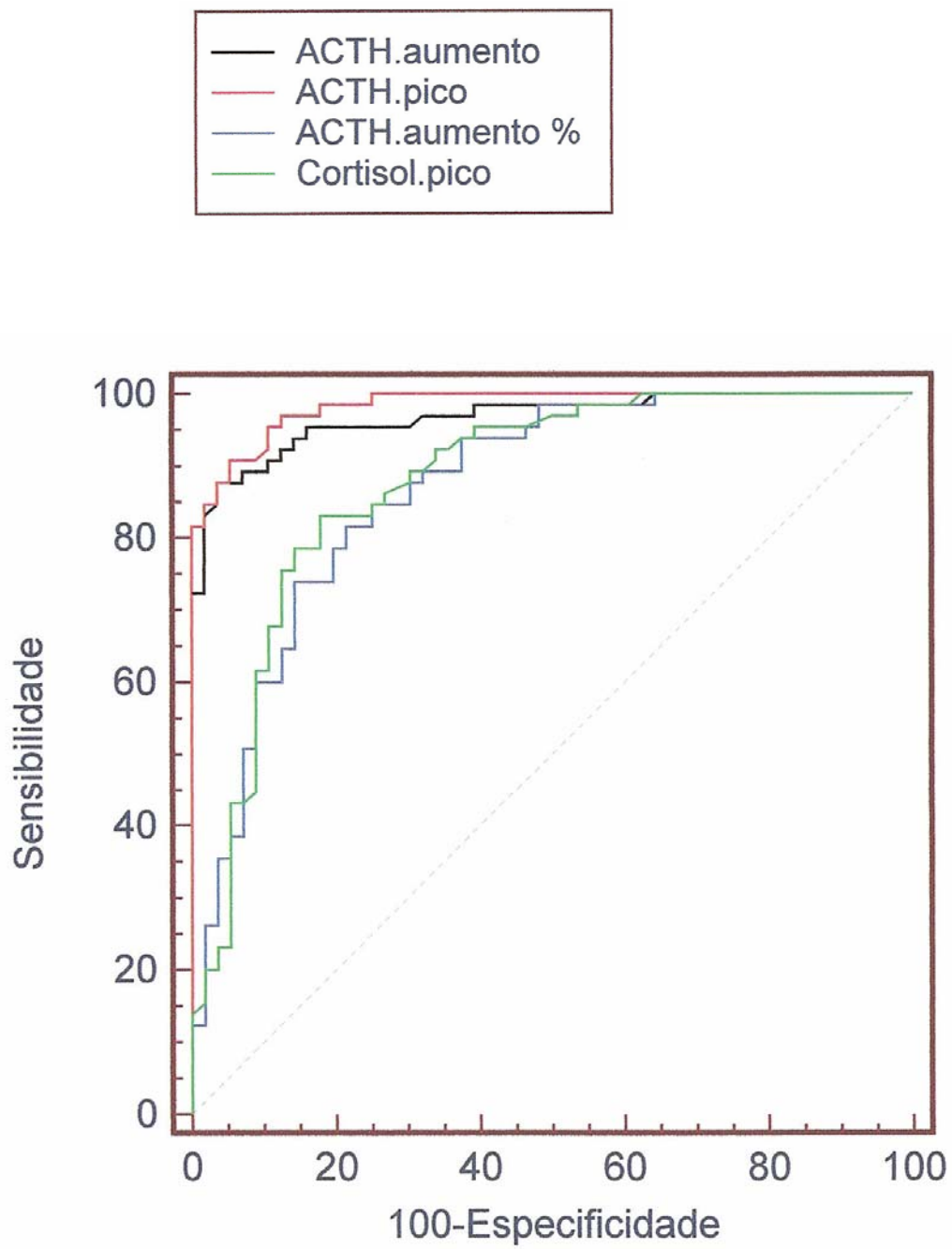


**Figura 3.** Resposta do cortisol após administração do DDAVP.

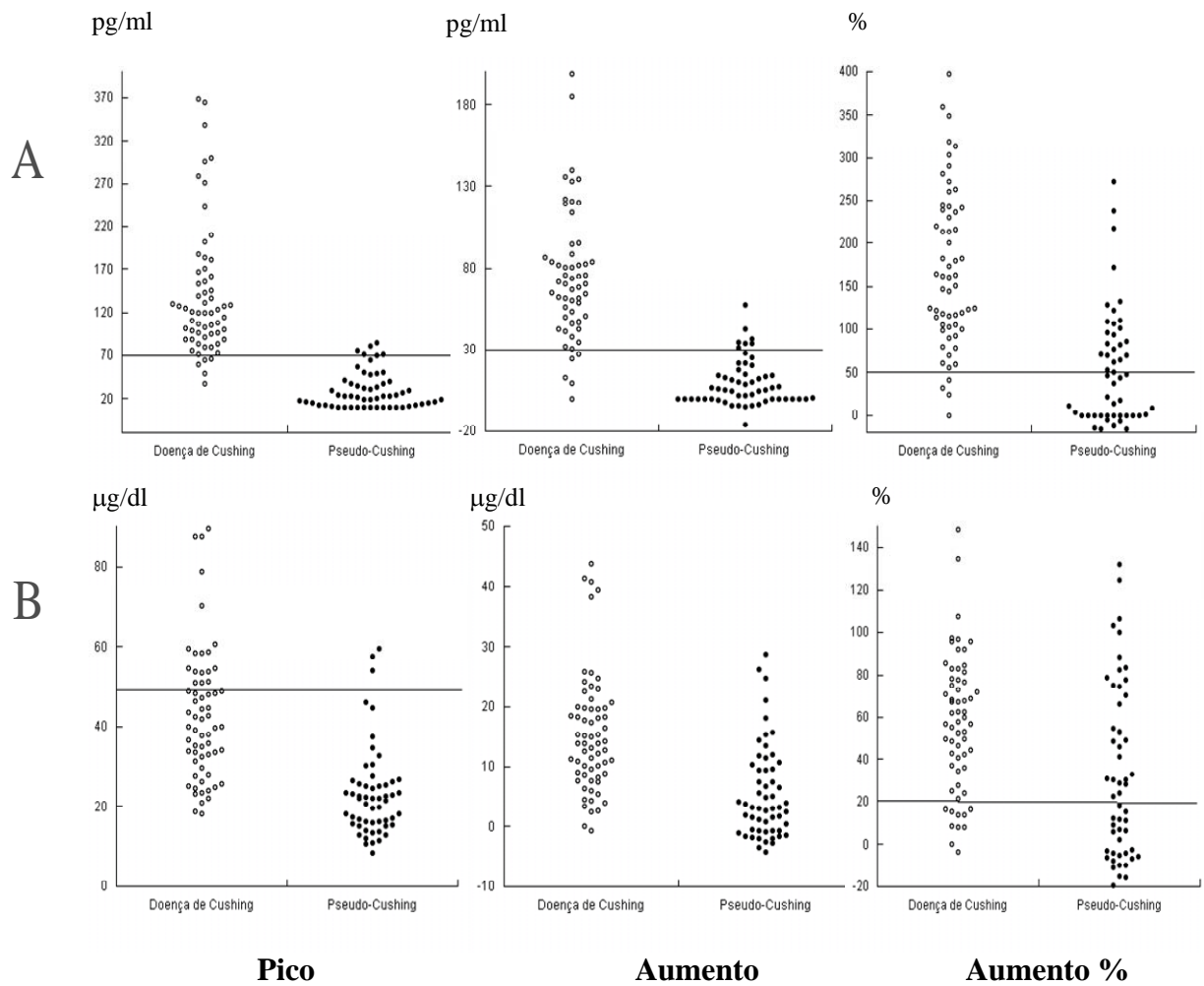
DC: Doença de Cushing

PC: Pseudo-Cushing

\* :  $P < 0.0001$



**Figura 4.** Curva ROC para o teste do DDAVP: diferentes critérios



**Figura 5.** ACTH (A) e cortisol (B) comparando os dois grupos de pacientes em relação ao pico, aumento absoluto e aumento percentual

**Tabela 1.** Performance dos testes clássicos para o diagnóstico de Doença de Cushing.

<b>Crítérios Clássicos</b>	<b>Sensibilidade (%)</b>	<b>Especificidade (%)</b>
Cortisolúria elevada	90,3	79,0
Cortisol sérico pós 1 mg dexa > 5 µg/dl	92,4	77,0
Cortisol sérico à meia-noite >7.5 µcg/dl	98,4	84,0
Cortisol sérico pós 2 mg dexa > 5 µg/dl	77,0	85,7

**Tabela 2.** Testes diagnósticos para a Doença de Cushing.

	<b>S=100%</b>	<b>E=100%</b>	<b>Melhor Critério (S / E)</b>	<b>AUC</b>
UFC	39	200	117 (84,3 / 89,2)	0,88
OST	2,7	18	10,6 (75,8 / 95,9)	0,94
LDDST	0,6	9,1	2,5 (93,4 / 85,7)	0,96
Cortisol 0h	5,0	12,8	12,8 (88,9 / 100)	0,98 <sup>a</sup>
ACTH	22	65	27 (93,8 / 76,6)	0,83 <sup>a</sup>

AUC: área sob a curva

S: sensibilidade

E: especificidade

UFC: cortisol livre urinário ( $\mu\text{g}/24\text{h}$ )

OST: teste de supressão com 1mg de dexametasona “overnight” ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )

LDDST: teste de supressão com 2mg de dexametasona (cortisol sérico) ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )

Cortisol 0h: cortisol sérico à meia-noite ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )

ACTH: pg/ml

a: P= 0,023 (cortisol a meia-noite vs. ACTH)

**Tabela 3.** Comportamento dos níveis de ACTH (pg/ml) e cortisol (µg/dl) no teste do DDAVP em pacientes com Doença de Cushing (DC) e Pseudo-Cushing (PC).

<b>ACTH</b>				
	Basal	Pico	Aumento	Aumento %
DC	59,0±36,7	198,3±227,5	139,4±203,1	230,3±212
PC	19,9±14,4	29,5±20,9	9,6±14,2	57,2±82,6
P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
<b>Cortisol</b>				
DC	28,8±15,8	45,6±20,6	16,9±12,8	67,1±47,7
PC	17,6±7,6	23,3±11,3	5,7±7,8	36,9±47,1
P	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0006



**Tabela 4.** Performance do teste do DDAVP no diagnóstico da Doença de Cushing

<b>Critério</b>	<b>Sensibilidade(%)</b>	<b>Especificidade (%)</b>
Aumento Cortisol = 20% (Rollin,2008)	88,2	46,4
Aumento ACTH = 50% (Rollin,2008)	94,1	60,7
Aumento ACTH = 30 pg/ml (Rollin,2008)	92,6	87,5
(Moro,2000) <sup>a</sup>	86,8	90,7
(Moro,2000) <sup>b</sup>	90,0	96,7
(Giraldi,2007)	81,5	90,0
Aumento ACTH = 37 pg/ml (Rollin,2008)	88,2	96,4
Pico ACTH = 71 pg/ml (Rollin,2008)	92,6	94,6

a: Todos os pacientes com Doença de Cushing

b: Pacientes com Doença de Cushing leve

**Tabela 5.** Teste do DDAVP na Doença de Cushing: avaliação conforme curva ROC.

<b>Critério</b>	<b>Sensibilidade (IC)</b>	<b>Especificidade (CI)</b>	<b>AUC</b>
ACTH : aumento 97%	82 % (70,5-90)	78,6 % (65,5-88,5)	0,870 (1)
ACTH : aumento 37 pg/ml	88,2 % (77,5-94,6)	96,4 % (88,7-99,5)	0,967 (2)
ACTH: pico 71 pg/ml	92,6 % (81,5-96,5)	94,6 % (85,1-98,8)	0,984 (3)
Cortisol: aumento 33%	80 % (68,2-88,9)	60,7 % (46,8-73,5)	0,707 (4)
Cortisol: aumento 7,5 µg/dl	83 % (71,7-91,2)	69,6 % (55,9-80,5)	0,816 (5)
Cortisol: pico 28 µg/dl	83 % (71,7-91,2)	82,1% (69,6-91,1)	0,878 (6)

AUC: área sob a curva

- 1 vs. 2:  $P < 0,001$

- 2 vs. 3:  $P = 0,144$

- 2 vs. 6:  $P = 0,005$

- 1 vs. 3:  $P < 0,001$

- 1 vs. 6:  $P = 0,838$

- 3 vs. 6:  $P = 0,001$

**Artigo Original em Inglês 1**

## **Clinical Evaluation in Differential Diagnosis of Cushing's Disease and Pseudo-Cushing's States**

Rollin G, Czepielewski MA.

Division of Endocrinology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Graduate Program in Endocrinology, Metabolism and Nutrition,

Faculdade de Medicina, UFRGS, Porto Alegre, Brazil.

Address:

Guilherme Rollin

Division of Endocrinology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Ramiro Barcelos, 2350 Prédio 14 – 4º andar

CEP 90035-003

Porto Alegre – Brazil

E-mail: [guilhermerollin@ibest.com.br](mailto:guilhermerollin@ibest.com.br)

## Summary

**Introduction:** Endogenous Cushing's syndrome (CS) needs to be distinguished from the pseudo-Cushing's states, that are associated with some biochemical evidence of excessive cortisol secretion with or without clinical manifestations of the syndrome. Diagnosing CS remains a challenge, especially in patients with mild hypercortisolism. The aim of the present study was to compare the clinical findings for the differential diagnosis between Cushing's disease (CD) and pseudo-Cushing's states.

**Patients and Methods:** The study population comprised 86 patients with CD and 74 with pseudo-Cushing's. They were evaluated regarding their clinical features. Urinary free cortisol (UFC) and 1mg overnight dexamethasone suppression test were performed in all patients. When necessary, other tests were applied. A separate analysis was performed to assess clinical features in patients with mild hypercortisolism only (i.e. UFC < 200 µg/24h). This subgroup included all patients with pseudo-Cushing's syndrome and 26 patients with CD.

**Results:** The two groups of patients were comparable as regards to sex, age and body mass index. Hypertension (P=0.004), facial rounding with plethora (P < 0.0001) and cervical and supraclavicular fat accumulation (P < 0.0001), abdominal purple striae (P < 0.0001), proximal muscle weakness (P< 0.0001) and easy bruising (P< 0.0001) were more prevalent in CD. Clinical features of mild CD and pseudo-Cushing's were similar, however, facial rounding with plethora (P=0.03), cervical and supraclavicular fat accumulation (P < 0.0001) and easy bruising (P=0.0007) were more prevalent in patients with mild CD.

**Conclusions:** Our series demonstrated a very similar clinical phenotype between mild CD and pseudo-Cushing. Thus, in many patients only more specific tests or periodic reevaluation at later date could establish the definitive diagnosis. Nevertheless, the presence of skin

bruising, facial rounding with plethora and cervical and supraclavicular fat accumulation may indicate the diagnosis of CD.

**Key words: Clinical Features, Cushing's Disease, Mild Cushing's Disease, Pseudo-Cushing's States**

## **Introduction**

Endogenous Cushing's syndrome (CS) is a clinical state resulting from prolonged, inappropriate exposure to excessive cortisol secretion with subsequent loss of the normal feedback mechanism of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis and the normal circadian rhythm of cortisol secretion (1,2). CS is a systemic disorder in which excessive glucocorticoid levels cause alterations in virtually every part of the body, presumably in direct proportion to the length of time of exposure to and magnitude of the hypercortisolism. Endogenous CS is relatively rare and its diagnosis, differential diagnosis, and management is continuously evolving (1-5). The majority of cases of endogenous CS are related to excessive adrenocorticotrophin (ACTH) production, most commonly from a pituitary adenoma, or from a non-pituitary tumour (ACTH-dependent CS)(4,6). Less often endogenous CS is secondary to hyperfunctioning adrenocortical tumours, bilateral adrenal hyperplasia, and/or dysplasia (ACTH-independent CS)(4,5,7,8,9).

Endogenous CS needs to be distinguished from the so-called pseudo-Cushing's states, that are associated with some biochemical evidence of excessive cortisol secretion with or without the clinical manifestations of the syndrome (1,2). During recent years the possibility of CS is being suspected at an earlier stage in its natural course and states of "subclinical CS" are increasingly being recognized, thus calling for the incorporation of new diagnostic approaches to established diagnostic algorithms (2,10,11). Making the diagnosis and establishing the exact etiology of CS is of fundamental importance, as sustained cortisol hypersecretion is associated with considerable morbidity and mortality, necessitating definitive treatment of the underlying cause of the hypercortisolism (1,2).

The most common presenting complaints in patients with CS are often non-specific, such as weight-gain, fatigue, lethargy, and depression, whereas the signs of CS may

vary in time and differ in severity (1,2,5,9). Some features such as obesity, hypertension, mood changes, and menstrual irregularities are also common in the general population. In such cases the presence of specific signs, such as proximal myopathy, ecchymoses and thinning of the skin, should orientate towards CS rather than the presence of a pseudo-cushing's state (1,12,13,14). Alcoholism can result in clinical and biochemical appearances identical to CS; however, the history is suggestive and the clinical and biochemical abnormalities disappear within days if the patient stops drinking. In children, weight-gain associated with growth retardation is a prominent feature implying the presence of CS (1,2,12,15,16).

A pseudo-Cushing's state comprises some clinical features of CS together with evidence of hypercortisolism, which however resolves following resolution of the primary state, such as the depressed phase of affective disorders (1,17), alcoholism or withdrawal from ethanol intoxication (18,19) as well as eating disorders (anorexia and bulimia nervosa) (17). The differentiation between mild CS and pseudo-Cushing's state is often difficult, as laboratory investigations characteristic of CS, such as elevated UFC, disruption of the normal diurnal cortisol secretion, and lack of plasma cortisol suppression to the dexamethasone suppression test, may be encountered in both conditions. Definitive biochemical confirmation may be difficult and require repeated testing, although the history may be suggestive and clinical and physical examination may indicate the correct diagnosis of either CS or pseudo-Cushing's state. The hypercortisolism associated with these states is probably centrally mediated through increased secretion of CRH and activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, in contrast to the great majority of patients with CS who have suppressed hypothalamic CRH secretion (20,21,22,23).

Diagnosing CS remains a challenge as not only identifying its causative lesion but even establishing its existence may prove difficult, especially in patients with mild hypercortisolism. In fact, these patients need to be distinguished from those affected by

clinical conditions mimicking CS, the so-called pseudo-Cushing's states, namely depression, alcoholism, polycystic ovary syndrome, and excess visceral body fat. In these patients, several features of hypercortisolism, such as irregular menses, truncal obesity, hypertension, diabetes mellitus and low mood/anxiety may occur together with mild cortisol excess, impaired cortisol circadian rhythmicity and borderline suppression by dexamethasone. At present, the diagnosis of pseudo-Cushing's defies precise definition and is usually established by default in patients with mild features of hypercortisolism in whom biochemical testing is not fully diagnostic and in whom hormonal and clinical alterations regress or fail to progress over time (2,23,24).

The aim of the present study was to compare the clinical findings for the differential diagnosis between Cushing's disease and pseudo-Cushing's states.



## **Patients and Methods**

The study population comprised 160 patients, 86 with Cushing's disease (19 males and 67 females; age  $38 \pm 13$  years, range 12 to 62 years) and 74 with pseudo-Cushing's (9 males and 65 females; age  $39 \pm 14$  years, range 10 to 69 years) collected over 7 years. Patients have been referred to the Neuroendocrine Unit of HCPA by their general practitioner as CS suspects. All data about signs and symptoms of CS were recorded and complete physical examination was performed in all patients.

Standard procedures for screening of CS were performed in all subjects: (1) measurement of urinary free cortisol excretion in 24-h urine collections (UFC); and (2) determination of serum cortisol after suppression with 1 mg dexamethasone administered at 23:00 (overnight suppression test, OST). When these tests were abnormal or equivocal patients were submitted to: (1) assessment of cortisol circadian rhythm ; (2) with 0.5 mg dexamethasone every 6 h for 2 days (Liddle's low-dose dexamethasone suppression test, LDDST); (3) desmopressin stimulation (DDAVP test); and (4) imaging evaluation (pituitary and/or adrenal CT/MRI).

Cushing's syndrome was diagnosed based on increased levels of urinary free cortisol (UFC), loss of diurnal rhythm (midnight serum cortisol  $> 7.5 \mu\text{g/dl}$ ), and/or lack of suppression of UFC and serum cortisol after oral low-dose dexamethasone suppression testing (UFC  $> 20 \mu\text{g/24h}$  and/or serum cortisol  $> 5 \mu\text{g/dl}$  after oral administration of 0.5 mg dexamethasone every 6 h for 48 h).

Diagnosis of pituitary-dependent CD was based on suppression of UFC and serum cortisol in the oral high-dose dexamethasone suppression test (UFC and/or serum cortisol suppressed by more than 50% of baseline values after oral administration of 2 mg

dexamethasone every 6 h for 48 h), normal or slightly elevated plasma ACTH, an ACTH increase of at least 50% after DDAVP administration, and/or circumscribed low-intensity/density lesion on pituitary magnetic resonance imaging or computed tomography scans. The indication for inferior petrosal sinus sampling (IPSS) was related to equivocal results of the endocrinological tests and the MRI. This study was considered confirmatory of pituitary Cushing's disease when the basal central to peripheral ACTH ratio was 2 or more or the DDAVP-stimulated central to peripheral ACTH ratio was 3 or more. The test was considered positive for lateralization when the side to side ACTH ratio was greater than 1.4. Long-term follow-up of the patients submitted to transsphenoidal pituitary surgery confirmed the preoperative diagnosis of CD.

A separate analysis was performed to assess clinical features in patients with mild hypercortisolism only (i.e. UFC < 200 µg/24h). This subgroup included all patients with pseudo-Cushing's syndrome and 26 patients with Cushing's disease.

Patients with pseudo-Cushing's were treated for the underlying disorder and none progressed towards overt hypercortisolism during minimal follow-up of 12 months. The mean follow-up was 4.9±1.7 years. Overall, clinical evaluation at follow-up makes mild or cyclical CS highly unlikely.

Cortisol was measured using a commercially available RIA kit (Diagnostic Systems Laboratories, Inc., Webster, TX) with intra- and interassay coefficients of variation of 8.3% and 9.8%, respectively, and a lower detection limit of 0.3 µg/dl . The normal range for 24-h UFC was 20–90 µg. ACTH was measured by a chemiluminescent enzyme immunometric assay (Immulite, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA), with intra- and interassay coefficients of variation of 5.6% and 7.75%, respectively, and a lower detection limit of 5.0 pg/ml.

Statistical evaluation was carried out by Student's *t* -test and Mann–Whitney's test for unpaired data. For categorical variables, differences were analyzed by means of the  $X^2$  test. The level of significance was set at  $P = 0.05$ .

The study protocol was approved by the Ethics Committee at Hospital de Clinicas de Porto Alegre, and all the patients agreed to participate in the study.

## Results

The two groups of patients were comparable as regards to sex, age and body mass index (BMI). The female-to-male ratio was 67:19 in CD and 65:9 in pseudo-Cushing's . The mean age was  $38.1 \pm 12.9$  yr and  $39.1 \pm 14$  yr in CD and pseudo-Cushing, respectively. The mean BMI was  $30.9 \pm 5.57$  kg/m<sup>2</sup> in CD and  $33.5 \pm 6.7$  kg/m<sup>2</sup> in pseudo-Cushing's patients (Table 1). Clinical conditions such as central obesity (or weight gain with centrally accumulation of fat), diabetes mellitus or impaired glucose tolerance, menstrual disorders, acne and hirsutism and psychiatric disturbance were equally prevalent in the two groups. Conversely, hypertension, facial rounding with plethora and cervical and supraclavicular fat accumulation, abdominal purple striae, proximal muscle weakness and easy bruising characterized patients affected by CD (Table 1)

When we compared patients with mild CD to pseudo-Cushing's, we detected a different picture: the two groups were similar (Table 2). However, facial rounding with plethora, cervical and supraclavicular fat accumulation and easy bruising were more prevalent in patients with mild CD.

As expected, concentrations of UFC and cortisol after OST were significantly greater in patients with CD than in those with pseudo-Cushing's ( $462.47 \pm 596.40$  vs  $71.2 \pm 45.1$  µg/ 24 h,  $p < 0.0001$ ;  $17.1 \pm 9.8$  vs.  $3.9 \pm 3.8$  µg/dl,  $p < 0.0001$ ). Basal ACTH levels were also different :  $64.9 \pm 38.4$  and  $22.4 \pm 13.9$  pg/ml in patients with CD and pseudo-Cushing, respectively ( $p < 0.0001$ ). In patients with mild CD, ACTH levels, UFC and serum cortisol after OST were also higher:  $51.7 \pm 24.4$  pg/ml,  $122.2 \pm 32.5$  µg/24h and  $11.8 \pm 9.2$  µg/dl ( $p < 0.0001$ ,  $p < 0.001$  and  $p < 0.0001$ ; vs pseudo-Cushing's).

## **Discussion**

The diagnosis and differential diagnosis of CS (hypercortisolism) are challenging problems in clinical endocrinology. Cushing's syndrome is a relatively rare disorder which is being recognized more frequently albeit in its more subtle forms. Since CS is associated with high morbidity and mortality, it is crucial to reach an early and accurate diagnosis (1,2,5,7,23,24,25). The clinical discrimination of true CS from pseudo-Cushing's states may be very difficult, particularly when hypercortisolism is mild. In these cases, the physiologic consequences of steroid excess produce a clinical syndrome and phenotype that are often indistinguishable from those of the metabolic syndrome (1,2,5,23,24,25). Our findings show that central obesity, impaired glucose tolerance or diabetes, neuropsychiatric problems and acne and hirsutism are present in both, CD and pseudo-Cushing's patients. However, in patients with mild CD, the clinical differentiation between Cushing's and pseudo-Cushing's patients was almost impossible. In this regard, only skin bruising, facial rounding with plethora and cervical and supraclavicular fat accumulation are more frequent in patients with mild CD.

Central obesity is a hallmark of hypercortisolism. In our series all patients with pseudo-Cushing's and almost all with CD were obese or had weight gain. Like others series (1,5,23,24,26,27,28), weight gain with redistribution of adipose mass centrally (face, neck, trunk and abdomen) is a common complaint. Therefore, patients without obesity or without central fat redistribution probably do not have CD. Neuropsychological disturbances including depression, emotional irritability, sleep disturbances, and cognitive deficits were also frequently observed (23,26,27). In our series, neuropsychological disturbances were found in both groups, CD (23.3%) and pseudo-Cushing (31.1%). The prevalence of neuropsychological disturbance was similar between mild CD (30.8%) and pseudo-Cushing.

Endogenous Cushing's syndrome is a relatively unusual condition that resembles many of the phenotypic features of modern life: obesity, hypertension, and depression (2,5,8,27,28). Accordingly, it is important to identify those signs and symptoms that warrant a screening test for Cushing's syndrome. Endogenous cortisol excess also leads to fairly specific catabolic effects. These include thinning of the skin with easy bruising, abdominal striae (usually in younger patients), poor wound healing, immune suppression (opportunistic and fungal infections), rib fractures, hirsutism in women, acne, and muscle wasting leading to proximal muscle weakness (23,26,27). Mood changes (usually depression) are also a common finding, although mania, anxiety, and cognitive dysfunction can also be found (23,29,30). Diagnostic testing for spontaneous Cushing's syndrome should also be considered in patients with clinical disorders caused or aggravated by hypercortisolism. There is a 2–5% prevalence of unsuspected Cushing's syndrome in patients with poorly controlled diabetes mellitus (31,32). A preliminary study also found that as many as 3% of patients with osteoporosis have mild hypercortisolism (23). Because the clinical features of polycystic ovary syndrome may overlap with those of hypercortisolism, it would seem prudent to screen the majority of women with polycystic ovary syndrome (23,33). In our series, patients with CD characteristically presented with central obesity (97.7%), hypertension (75.6%), acne, hirsutism and menstrual disturbance (63.9%) and diabetes or impaired glucose tolerance (38.4%), features also found in patients with pseudo-Cushing. Nevertheless, facial rounding with plethora and cervical and supraclavicular fat accumulation were more prevalent features of CD. In addition, skin with easy bruising, abdominal purple striae and proximal muscle weakness were specific characteristics of CD.

It is important to note that patients with more severe hypercortisolism present typical phenotypic features of CS. The suspicion of CS clearly arises in the presence of central obesity with supraclavicular fat accumulation, a cervical fat pad, thinned skin, purple

striae, proximal muscle weakness, fatigue, high blood pressure, glucose intolerance, acne, hirsutism, and menstrual irregularity. These patients do not represent a diagnostic problem. However, patients with mild CD may exhibit less obvious physical changes and their clinical appearance may be identical to pseudo-Cushing (2,5,8). In our series, mild CD patients had clinical phenotype very similar to pseudo-Cushing's patients.

Muscular atrophy and purple striae are particularly helpful stigmata in adults for diagnosis of DC (1,5). In our series, only 5 (6.8%) patients with pseudo-Cushing had muscular atrophy and none had purple striae. In patients with CD, these features were detected in 47 (54.6%) and 31 (36%) patients, respectively. In addition, skin bruising was detected only in 3 (4.1%) patients with pseudo-Cushing, and in 38 (44.2%) with CD. Although muscular atrophy, purple striae and skin bruising were not present in many patients with CD, when these features are detected, the diagnosis of CD is the most likely. In patients with mild CD the clinical phenotype is not always florid, with skin bruising, muscular atrophy and purple striae found in 30.8%, 19.2% and 7.7% of patients, respectively. Therefore, the suspicion of CD should also arise with a less complete picture, particularly if concomitant recent weight gain, impaired glucose tolerance, and high blood pressure are present and some of the patients with metabolic syndrome might require screening for Cushing's syndrome.

In conclusion, a high clinical index of suspicion is essential for diagnosis of CD. Patients with metabolic syndrome and women with clinical features of polycystic ovary syndrome should be evaluated for CS. Due to the variable pattern of the biochemical parameters and the nonspecificity of clinical manifestations, the diagnosis of CS is often a challenge for clinicians. This is particularly true in states of mild hypercortisolism. The differentiation between mild CD and pseudo-Cushing's state is often difficult, as laboratory investigations characteristic of CS may be encountered in both conditions. In addition, there are not significant differences in the history and clinical and physical examination in both

conditions. Our series demonstrated a very similar clinical phenotype between mild CD and pseudo-Cushing. Thus, in many patients only more specific tests or periodic reevaluation at later date could establish the definitive diagnosis. Nevertheless, the presence of skin bruising, facial rounding with plethora and cervical and supraclavicular fat accumulation may indicate the diagnosis of CD.



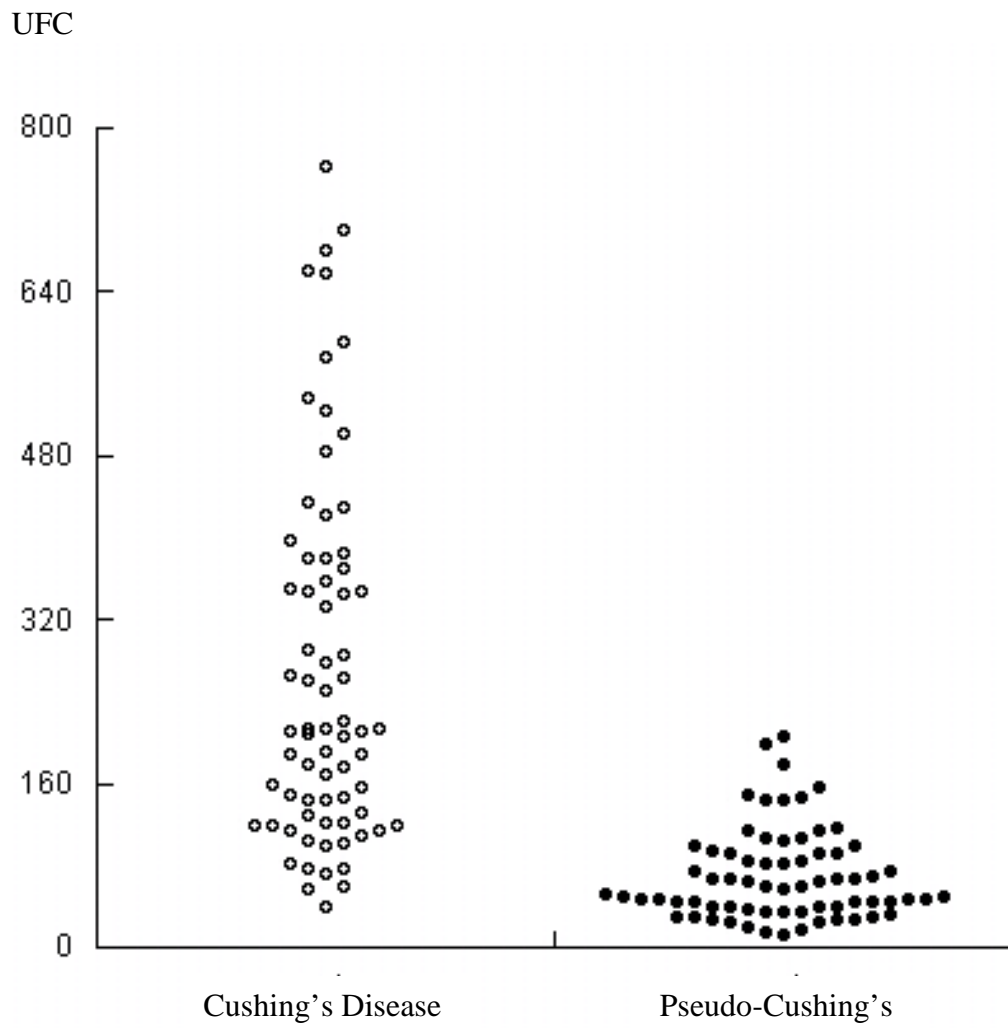
## REFERENCES

1. Makras P, Toloumis F, Papadogias D, Kaltsas GA, Besser M. The diagnosis and differential diagnosis of endogenous Cushing's syndrome. *Hormones (Athens)* 2006; 5:231-250.
2. Newell-Price J, Trainer P, Besser M, Grossman A. The diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome and pseudo-Cushing's states. *Endocr Rev* 1998;19:647-672.
3. Newell-Price J, Morris DG, Drake WM, et al. Optimal response criteria for the human CRH test in the differential diagnosis of ACTH-dependent Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:1640-1645.
4. Morris DG, Grossman AB. Dynamic tests in the diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome. *J Endocrinol Invest* 2003; 26: Suppl 7: 64-73.
5. Arnaldi G, Angeli A, Atkinson AB, et al. Diagnosis and complications of Cushing's syndrome: a consensus statement. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5593-5602.
6. Kaltsas GA, Giannulis MG, Newell-Price JD et al. A critical analysis of the value of simultaneous inferior petrosal sinus sampling in Cushing's disease and the occult ectopic adrenocorticotropin syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 487-492.
7. Orth DN. Cushing's syndrome. *N Engl J Med* 1995; 332: 791-803.
8. Boscaro M, Barzon L, Fallo F, Sonino N. Cushing's syndrome. *Lancet* 2001; 357: 783-791.
9. Newell-Price J, Grossman A. Diagnosis and management of Cushing's syndrome. *Lancet* 1999; 353: 2087-2088.

10. Reincke M. Subclinical Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2000; 29: 43-56.
11. Ross NS. Epidemiology of Cushing's syndrome and subclinical disease. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1994;23: 539-546.
12. Kaye TB, Crapo L. The Cushing syndrome: an update on diagnostic tests. *Ann Intern Med* 1990;112: 434-444.
13. Kuhn JM, Proeschel MF, Seurin DJ, Bertagna XY, Luton JP, Girard FL. Comparative assessment of ACTH and lipotropin plasma levels in the diagnosis and follow-up of patients with Cushing's syndrome: a study of 210 cases. *Am J Med* 1989;86: 678-684.
14. Tyrrell JB, Findling JW, Aron DC, Fitzgerald PA, Forsham PH. An overnight high-dose dexamethasone suppression test for rapid differential diagnosis of Cushing's syndrome. *Ann Intern Med* 1986;104: 180-186.
15. Savage MO, Storr HL, Grossman AB, Krassas GE. Growth and growth hormone secretion in paediatric Cushing's disease. *Hormones (Athens)* 2003; 2: 93-97.
16. Chrousos GP. Editorial: Growth management of children and adolescents with Cushing's disease. *Hormones (Athens)* 2003; 2: 89-90.
17. Gold PW, Loriaux DL, Roy A et al. Responses to corticotropin-releasing hormone in the hypercortisolism of depression and Cushing's disease. Pathophysiologic and diagnostic implications. *N Engl J Med* 1986;314: 1329-1335.
18. Kirkman S, Nelson DH. Alcohol-induced pseudo-Cushing's disease: a study of prevalence with review of the literature. *Metabolism* 1988; 37: 390-394.
19. Wand GS, Dobs AS. Alterations in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in actively drinking alcoholics. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 72: 1290-1295.

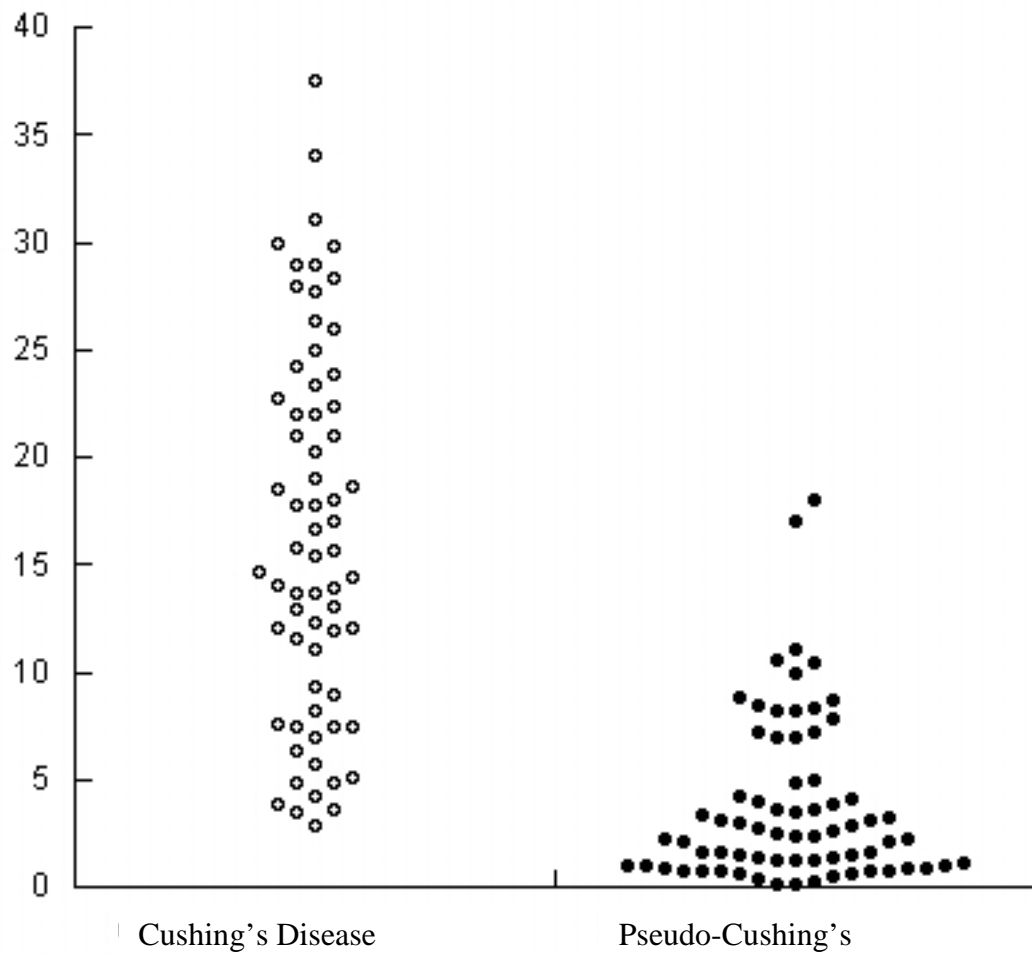
20. Isidori AM, Kaltsas GA, Mohammed S, et al. Discriminatory value of the low-dose dexamethasone suppression test in establishing the diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5299-5306.
21. Findling JW, Raff H. Screening and diagnosis of Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2005; 34: 385-402.
22. Findling JW, Doppman JL. Biochemical and radiologic diagnosis of Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1994; 23: 511-537.
23. Findling JW, Raff H. Clinical Review: Cushing's syndrome: important issues in diagnosis and management. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 3746–3753.
24. Giraldi FP, Pivonello R, Ambrogio AG et al. The dexamethasone-suppressed corticotropin- releasing hormone stimulation test and the desmopressin test to distinguish Cushing's syndrome from pseudo-Cushing's states. *Clin Endocrinol* 2007; 66:251–257.
25. Raff H, Findling JW. A physiologic approach to the diagnosis of Cushing syndrome. *Ann Intern Med* 2003; 138:980–991.
26. Bertagna X, Raux-Demay MC, Giulhaume B, Girard F, Luton JP. Cushing's disease. In: Melmed S, ed. *The pituitary*. 2nd ed. Malden, MA: Blackwell 2002: 592–612.
27. Newell-Price J, Bertagna X, Grossman AB, Nieman LK. Cushing's syndrome. *Lancet* 2006; 367:1605–1617.
28. Tran HA, Petrovsky N. Difficulties in excluding Cushing syndrome in obese subjects. *Endocrinologist* 2006;16:15–19.
29. Dorn LD, Burgess ES, Dubbert B et al. Psychopathology in patients with endogenous Cushing's syndrome: 'atypical' or melancholic features. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1995; 43: 433–442.

30. Bourdeau I, Bard C, Forget H, Boulanger Y, Cohen H, Lacroix A. Cognitive function and cerebral assessment in patients who have Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2005; 34:357–369.
31. Catargi B, Rigalleau V, Poussin A et al. Occult Cushing's syndrome in type-2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:5808–5813.
32. Leibowitz G, Tsur A, Chayen SD, Salameh M, Raz I, Cerasi E, Gross DJ. Pre-clinical Cushing's syndrome: an unexpected frequent cause of poor glycaemic control in obese diabetic patients. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1996; 44:717–722.
33. Kaltsas GA, Korbonits M, Isidori AM et al. How common are polycystic ovaries and the polycystic ovarian syndrome in women with Cushing's syndrome? *Clin Endocrinol (Oxf)* 2000 ; 53:493–500.



**Figure 1.** Urinary Free Cortisol (UFC -  $\mu\text{g}/24\text{h}$ ) in patients with Cushing's disease and pseudo-Cushing's ( $P < 0.0001$ ).

## Serum Cortisol



**Figure 2.** Serum cortisol ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) after 1 mg dexamethasone overnight suppression test in patients with Cushing's disease (CD) and pseudo-Cushing (PC) ( $P < 0.0001$ ).

**Table 1.** Clinical features in patients with Cushing's disease (CD) and pseudo-Cushing's states (PC).

	<b>CD</b>	<b>PC</b>	<b>P</b>
Gender (F/M)	67/19	65/09	0.15
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	30.9 ± 5.57	33.5 ± 6.7	0.07
Age (years)	38.1 ± 12.9	39.1 ± 14.0	0.25
Central Obesity/ Weight Gain	84/86 (97.7%)	74/74 (100%)	0.54
Hypertension	65/86 (75.6%)	39/74 (52.7%)	0.004
Hirsutism/Acne/ Menstrual Disturbance	55/86 (63.9%)	41/74 (55.4%)	0.35
DM / IGT	33/86 (38.4%)	24/74 (32.4%)	0.54
Cervical/ SC Fat	68/86 (79.1%) <sup>2</sup>	2/74 (29.7%)	<0.0001
Plethora	63/86 (73.2%)	28/74 (37.8%)	<0.0001
Psychiatric Disturbance	20/86 (23.3%)	23/74 (31.1%)	0.35
Muscle Weakness	47/86 (54.6%)	05/74 (06.8%)	<0.0001
Purple Striae	31/86 (36.0%)	00/74 (00.0%)	<0.0001
Skin Bruising	38/86 (44.2%)	03/74 (04.1%)	<0.0001

IGT: impaired glucose tolerance

SC: supraclavicular

**Table 2.** Clinical features in patients with mild Cushing’s disease (CD) and pseudo-Cushing’s states (PC).

	<b>Mild</b>	<b>CD</b>	<b>PC</b>
Gender (F/M)	22/04	65/09	0.94
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	31.4 ± 5.5	33.5 ± 6.7	0.07
Age (years)	42.1 ± 12.9	39.1 ± 14.0	0.34
Central Obesity/ Weight Gain	25/26 (96.7%)	74/74 (100%)	0.58
Hypertension	19/26 (73.1%)	39/74 (52.7%)	0.12
Hirsutism/Acne/ Menstrual Disturbance	19/26 (73.1%)	41/74 (55.4%)	0.18
DM/IGT	07/26 (26.9%)	24/74 (32.4%)	0.78
Cervical/SC Fat	23/26 (88.4%)	22/74 (29.7%)	<0.0001
Plethora	17/26 (65.4%)	28/74 (37.8%)	0.03
Psychiatric Disturbance	08/26 (30.8%)	23/74 (31.1%)	0.83
Muscle Weakness	05/26 (19.2%)	05/74 (06.8%)	0.15
Purple Striae	02/26 (07.7%)	00/74 (00.0%)	0.11
Skin Bruising	08/26 (30.8%)	03/74 (04.1%)	0.0007

IGT: impaired glucose tolerance

SC: supraclavicular



**Artigo Original em Inglês – 2**

## **Prospective Evaluation of DDAVP Test in the Diagnosis of Cushing's Disease**

Rollin G, Czepielewski MA.

Division of Endocrinology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Graduate Program in Endocrinology, Metabolism and Nutrition,

Faculdade de Medicina, UFRGS.

Address:

Guilherme Rollin, MD.

Division of Endocrinology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Ramiro Barcelos, 2350 Prédio 14 – 4º andar

CEP 90035-003

Porto Alegre – Brazil

E-mail: [guilhermerollin@ibest.com.br](mailto:guilhermerollin@ibest.com.br)

## Summary

**Introduction:** Diagnosing Cushing's syndrome (CS) remains a challenge, especially in patients with mild hypercortisolism. In fact, these patients need to be distinguished from pseudo-Cushing's states as may occur in depression, alcoholism, polycystic ovary disease, visceral obesity and metabolic syndrome. The present study assesses the desmopressin test in differential diagnosis of Cushing's disease (CD) and pseudo-Cushing's. In addition, we evaluate the sensitivity and specificity of urinary free cortisol (UFC), overnight dexamethasone suppression test (OST), midnight serum cortisol, basal ACTH levels and cortisol after the 2mg dexamethasone suppression test (LDDST).

**Patients and Methods:** The study population comprised 68 patients with CD and 56 with pseudo-Cushing's evaluated prospectively. UFC, serum cortisol at midnight and after low dose dexamethasone (1 mg overnight and 2 mg over two days) were measured. Further, patients were tested with desmopressin and the diagnostic performances of the tests were evaluated in the entire series.

**Results:** Evaluation by ROC analysis of alternative thresholds for either test failed to identify any cut-off that allowed complete separation of the two groups: CD and pseudo-Cushing's. Serum cortisol  $>2.7$   $\mu\text{g/dl}$  after 1 mg dexamethasone overnight suppression test resulted in 100% sensitivity. In DDAVP test, the percent hormonal response did not offer any advantage in diagnostic efficacy. Conversely, an absolute ACTH increase equal or greater than 37 pg/ml, as indicated by ROC analysis, resulted in a positive response to DDAVP only in 2 of 56 (3.6%) pseudo-Cushing's (96.4% specificity) with 88.2% sensitivity. ACTH levels after DDAVP yielded 94.6% specificity with 92.6% sensitivity for a peak of 71 pg/ml. Serum cortisol after DDAVP was not a good test to differentiate CD from pseudo-Cushing's.

**Conclusions:** The ability of DDAVP test to differentiate patients with CD from pseudo-Cushing was demonstrated. Nevertheless, it is important to consider an absolute ACTH increase or peak instead of percent increment as response criterion.

**Key words:** DDAVP, Cushing's Disease, Pseudo-Cushing's States, Differential Diagnosis

## **Introduction**

Diagnosing Cushing's syndrome (CS) remains a challenge as not only identifying its causative lesion but even establishing its existence may prove difficult, especially in patients with mild hypercortisolism. In fact, these patients need to be distinguished from those affected by clinical conditions mimicking CS, the so-called pseudo-Cushing's states, namely depression, alcoholism, polycystic ovary syndrome, and excess visceral body fat. In these patients, several features of hypercortisolism, such as irregular menses, central obesity, hypertension, diabetes mellitus and low mood/anxiety may occur together with mild cortisol excess, impaired cortisol circadian rhythmicity and borderline suppression by dexamethasone. At present, the diagnosis of pseudo-Cushing's defies precise definition and is usually established by default in patients with mild features of hypercortisolism in whom biochemical testing is not fully diagnostic and in whom hormonal and clinical alterations regress or fail to progress over time (1,2). Among tests developed to recognize patients with pseudo-Cushing's, the dexamethasone-suppressed CRH test (3) and, more recently, the desmopressin (DDAVP) test (4) are most widely used. The latter takes advantage of the distinctive ACTH/cortisol response to the vasopressin analogue in patients harbouring ACTH-secreting pituitary tumours (5) while patients with pseudo-Cushing's as well as normal subjects characteristically fail to respond (1,4).

DDAVP is a long-acting analogue of vasopressin with a selective action on renal V<sub>2</sub> receptors. A potential clinical use of DDAVP in the differential diagnosis of CS and in the differentiation between Cushing's disease (CD) and pseudo Cushing's states has been proposed (4). Bolus iv. administration of DDAVP produces significant ACTH and cortisol responses in the majority of patients with CD, while patients with others forms of CS are, in general, unresponsive (5,7-11). In patients with simple obesity (11), with depressive illness (6) and in normal

individuals ACTH and cortisol also do not increase after DDAVP administration. Based on these observations, the DDAVP test could be an adjunctive test in the evaluation of patients suspected of having CD.

Clinical experience on the effects of DDAVP test on patients with pseudo-Cushing's states is still limited. Furthermore, the response criterion of ACTH and cortisol to DDAVP test is based on the experience on the CRH test. The present study, therefore, was designed to assess the effects of DDAVP administration in patients with CD and in those with clinical suspicion of CS (pseudo-Cushing's). In addition, we evaluated the sensitivity and specificity of urinary free cortisol (UFC), overnight dexamethasone suppression test (OST), midnight serum cortisol, basal ACTH levels and cortisol after the 2 mg dexamethasone suppression test (LDDST).

## Patients and Methods

The study population comprised 124 patients prospectively evaluated for CS, 68 with CD (56 women, 12 men; mean age  $39 \pm 12.8$  years, age range 12-62 years; BMI  $31.8 \pm 6$  kg/m<sup>2</sup>) and 56 suspected of having CS, the pseudo-Cushing group (47 women, 9 men; mean age  $39.2 \pm 14.2$  years, age range 10-68 years; BMI  $33.5 \pm 6.7$  kg/m<sup>2</sup>) were included in the study. The diagnosis of CD was confirmed histologically in 62 patients after transsphenoidal surgery. In 2 patients with CD the tumour was found during surgery but not confirmed histologically. Nevertheless, sustained clinical and laboratory remission resulted after transsphenoidal surgery with 30 and 15 months follow up. In 4 remaining patients the diagnosis was based on elevated urinary free cortisol, elevated midnight serum cortisol, normal or elevated plasmatic ACTH, and presence of central-peripheral (C/P) ACTH gradient (ACTH ratios  $>2$  before or  $>3$  after the administration of DDAVP) in bilateral sampling of the inferior petrosal sinus (IPSS).

In all other patients suspected of having CS (pseudo Cushing's states), this diagnosis was excluded by laboratory investigation. In all pseudo-Cushing's patients UFC and OST were performed for the exclusion of CS. In 21 pseudo-Cushing's patients whose serum cortisol was not suppressed ( $>5.0$  µg/dl) and/or UFC levels were elevated, the formal low dose dexamethasone suppression test (0.5 mg 6/6h orally for 2 days) and cortisol circadian rhythm (sampling from an in-dwelling venous catheter at midnight) were performed.

Serial blood samples for ACTH and cortisol estimation were obtained from an in-dwelling venous catheter 30 min before, at time -15, 0, 15, 30, 45 and 60 minutes after 10 µg DDAVP iv. administration.

Cortisol was measured using a commercially available RIA kit (Diagnostic Systems Laboratories, Inc., Webster, TX) with intra- and interassay coefficients of variation of 8.3% and 9.8%, respectively, and a lower detection limit of 0.3 µg/dl. The normal range for

24-h UFC was 20–90  $\mu\text{g}$  . ACTH was measured by a chemiluminescent enzyme immunometric assay (Immulite, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA), with intra- and interassay coefficients of variation of 5.6% and 7.75%, respectively, and a lower detection limit of 5.0 pg/ml.

Statistical evaluation was carried out by Student's *t*-test and Mann–Whitney's test for unpaired data. The prevalence of symptoms and differences in diagnostic parameters were compared using  $\chi^2$ -test. Sensitivity, specificity and diagnostic accuracy have been calculated according to standard statistical methods. The ROC (receiver operator characteristic) curve was used to quantify the diagnostic efficacy of each test and optimize diagnostic cut-offs.

## Results

As expected, concentrations of UFC, cortisol at midnight and after OST were significantly greater in patients with CD than in those with pseudo-Cushing's ( $429.2 \pm 605$  vs  $72.8 \pm 46.9$   $\mu\text{g}/24$  h,  $P < 0.0001$ ;  $22.3 \pm 9.4$  vs.  $4.1 \pm 4$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ ,  $P < 0.0001$ ; and  $16.2 \pm 9.8$  vs.  $4.3 \pm 3.7$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ ,  $P < 0.0001$  for UFC, midnight cortisol and OST, respectively) but still overlapping (Figure 1).

Traditional cut-offs indicative of CS were evaluated (Table 1). For OST (serum cortisol  $> 5$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) sensitivity and specificity were 92.4% and 77%, and for LDDST (serum cortisol  $> 5$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) sensitivity and specificity were 77% and 85.7%, respectively. Elevated UFC and midnight serum cortisol  $>7.5$   $\mu\text{g}/\text{dl}$  yielded sensitivity of 90.3% and 98.4%, and specificity of 79% and 84%, respectively. Considering more strict criterion for OST (serum cortisol  $>1.8$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) and for LDDST (serum cortisol  $>1.8$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ ), sensitivity increased to 100% and 95 %, nevertheless specificity was very low (51% and 61%, respectively). The best criterion for the two initial tests (UFC and OST) and the three additional tests (basal plasma ACTH, midnight serum cortisol and LDDST) are shown in Table 2. Maximal sensitivity (100%) for the two initial classical screening tests were observed for UFC  $> 39$   $\mu\text{g}/24\text{h}$  and for serum cortisol  $>2.7$   $\mu\text{g}/\text{dl}$  (OST). Plasma ACTH levels above 22 pg/ml reach a sensitivity of 100%. Evaluation of ROC curves from each test demonstrated similar area under the curve (AUC) in all comparison, excepting midnight serum cortisol vs. basal ACTH (AUC of 0.98 vs. 0.83;  $P=0.023$ ).

DDAVP elicited a brisk elevation in plasma ACTH levels in patients with CD with maximal increases observed within 15-30 minutes. In patients with pseudo-Cushing's, the ACTH response to DDAVP was modest and spread over the entire length of the test. ACTH and cortisol response to DDAVP administration are shown in Figure 2 and 3 and Table 3. When the classical criterion of ACTH increase over baseline of 50% is applied, most



CD patients (94.1%) and 22 of 56 (39.3%) pseudo-Cushing's seem to be responsive to DDAVP. Adopting the criterion used by Moro et al. (4) and Giraldi et al. (1) (an absolute ACTH increase over baseline equal or greater than 30 pg/ml) only 7 of 56 (12.5%) pseudo-Cushing's subjects were responsive to DDAVP. Conversely, a criterion based on an absolute ACTH increase equal or greater than 37 pg/ml, as indicated by ROC analysis, resulted in a positive response to DDAVP only in 2 of 56 (3.6%) pseudo-Cushing's. Regarding the response criterion for the DDAVP test, sensitivity and specificity change significantly (Table 4).

Evaluation by ROC analysis of alternative thresholds for either test failed to identify any cut-off that allowed complete separation of the two groups. For DDAVP stimulation, the previously established criterion by Moro et al. (4) ( $> 6$  pmol/l ACTH increase) could be lowered to increase sensitivity, although this would invariably be accompanied by a loss in specificity. The percent hormonal response did not offer any advantage in diagnostic efficacy.

To confirm the diagnosis of CD, plasma ACTH levels after DDAVP yielded good specificity: 96.4% for an increase of 37 pg/ml and 94.6% for a peak of 71 pg/ml. ROC analysis using ACTH and cortisol after DDAVP as criterion for the diagnosis of CD are shown on Figure 4. Serum cortisol after DDAVP was not a good test to differentiate CD from pseudo-Cushing's (Figure 5 and Table 5). There was a considerable overlap between absolute and percent cortisol increase among patients with CD or pseudo-Cushing's, resulting in inadequate diagnostic accuracy .

## Discussion

Cushing's syndrome is a severely disabling disorder. Over time, however, the increased awareness of vague and deceptive presentations has sharpened our diagnostic acumen and it is now common to establish the diagnosis in patients with milder clinical features, before they develop the full-blown clinical presentation. Such features, however, are common to the increasingly large population of obese, depressed, hypertensive and diabetic patients, as well as to patients with polycystic ovary disease or alcoholism, who may also present subtle alterations of pituitary adrenal secretory parameters (12,13,14) and are grouped under the label "pseudo-Cushing" (1). Our results demonstrate that classical screening tests were not accurate to differentiation between CD and pseudo-Cushing, because several pseudo-Cushing's patients presented false positive responses and in some CD patients the tests were negative, specially in mild CD. Nevertheless, serum cortisol  $>2.7$   $\mu\text{g/dl}$  (OST) plasma ACTH levels  $>22$   $\text{pg/ml}$  were good screening tests with sensitivity of 100%. ACTH after DDAVP administration was a good confirmatory test (specificity of 94.6% for a peak of 71  $\text{pg/ml}$  and 96.4% for an increase of 37  $\text{pg/ml}$ ).

First-line initial screening tests (OST and UFC) have different sensitivity and specificity. According to the criterion adopted they could range from 70 to 100% and from 50 to 90% respectively (15). In the initial investigation, tests of high sensitivity should be employed. Therefore, these tests could correctly identified patients with CD, but several pseudo-Cushing's could be misclassified. Midnight serum cortisol and the classical LDDST require inpatient admission. The last one have a high sensitivity (98%) using a serum cortisol above 1.8  $\text{mcg/dl}$  as indicating CS (15), nevertheless in our series this criterion resulted in a very low specificity (61%). A cutoff midnight serum cortisol of 7.5  $\text{mcg/dl}$  has sensitivity and specificity of 94% and 100% reported by Papanicolaou et al. (16) and 98.4% and 83% in our

series. The DDAVP test can be performed on an outpatient basis, with specificity around 95% as discussed above.

The present study confirms the ability of DDAVP to stimulate ACTH and cortisol secretion in patients with CD. However, we also detected a positive response to DDAVP test in some patients without CD, even though this response was much higher in the group of CD. This is in contrast to most (5-10), but not all (17) of previous reports that failed to show appreciable ACTH responses to DDAVP in non-Cushing's disease patients. DDAVP was capable of stimulate ACTH and cortisol release when administered as a bolus in over 50 % of healthy subjects (17). Probably the lack of standard criterion used to evaluate the response of ACTH and cortisol to DDAVP administration may account for these discrepancies. Furthermore, there is few data about the DDAVP test in patients suspected of CD and few control studies with saline. In the study of Scott (17), the test was conducted in the afternoon, while in the other studies, the test was performed in the morning, which probably explain these different results.

The DDAVP test could differentiate patients with CD from patients with depression (6) and from patients with simple obesity (11). However, 15% of the obese patients meet the response criterion for the DDAVP test adopted on that study (11). The DDAVP test also could be useful in differential diagnosis of ACTH-dependent Cushing syndrome, since the vast majority of patients with ectopic ACTH syndrome do not respond (5,7,9).

Previous studies (5-9,11) adopted the response criterion of relative ACTH and cortisol increments (35-50% and 20%, respectively), but Moro et al. (4) proposed a peak absolute ACTH increase as  $\geq 6$  pmol/L (30 pg/ml) as a new response criterion. Regarding this criterion, they correctly identified 18 of 20 patients with mild CD and 29 of 30 pseudo-Cushing, resulting in a diagnostic accuracy of 94% (sensitivity 90% and specificity 96.7%). Giraldi et al. (1) evaluated the dexamethasone-suppressed CRH stimulation test and the DDAVP test to distinguish CS from pseudo-Cushing's states. They adopted the same criterion of Moro et al. with

sensitivity and specificity of 81.5% and 90% respectively. Our results were similar. Considering an absolute ACTH increase as 37 pg/ml or a peak of 71 pg/ml the sensitivity was 88.2% and 92.6%, and specificity 96.4% and 94.6% respectively. Adopting the “old” response criterion on DDAVP test (50% ACTH increase from baseline), many patients without CD would have a positive response.

The reason for the exaggerated ACTH and cortisol response to DDAVP in CD is not still well understood. It is known that one of the main properties of DDAVP is its affinity for renal V2 receptor with antidiuretic effect and more recently was cloned a specific V1b (or V3) receptor (18). The V3 receptor is encoded by a separate gene expressed in normal pituitary corticotroph and corticotroph adenoma (19). It is suggested that the absent ACTH response to DDAVP recorded in the majority normal subjects is related to an insufficient number of V3 receptors on normal pituitary corticotrophs. On the other hand, corticotroph tumor might either overexpress the V3 receptor or express an ectopic V2 receptor, which justify the response to DDAVP test in patients with CD (20).

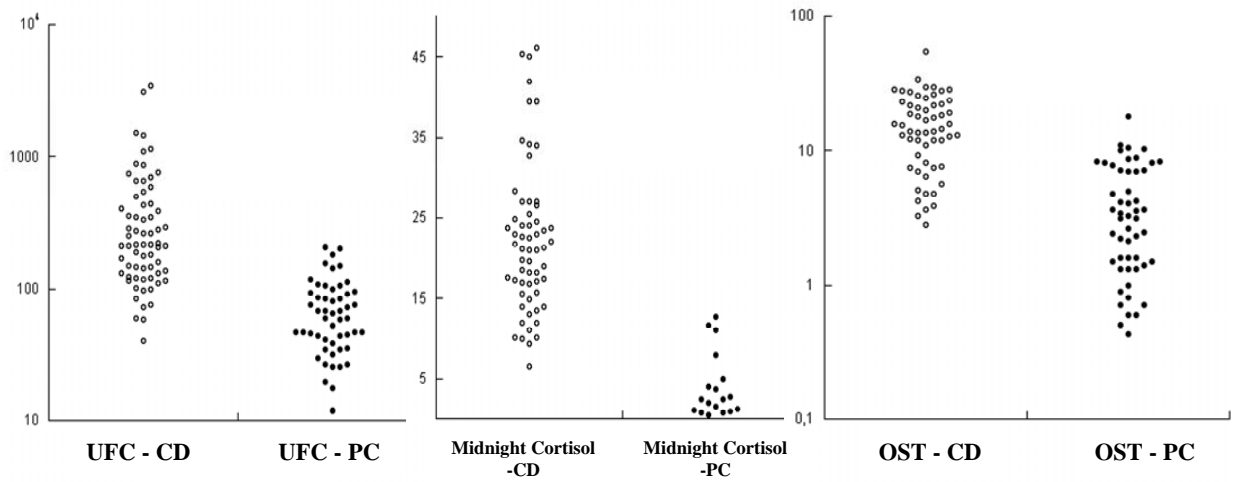
In conclusion, the differential diagnosis between Cushing’s syndrome caused by pituitary ACTH secretion (CD) and pseudo-Cushing’s states still represents a considerable challenge as no test is foolproof. In our series, serum cortisol after OST and basal ACTH are very sensitive tests for screening and the ACTH response to DDAVP testing remains an effective test to confirm CD, with high specificity. The ability of DDAVP test to differentiate patients with CD from pseudo-Cushing was demonstrated. Nevertheless, it is important to consider an absolute ACTH increase or peak instead of percent increment as response criterion. Therefore, the DDAVP test could be an important adjunctive tool in the diagnosis of CD, and a skillful use of dynamic testing together with careful clinical evaluation and follow-up are necessary to establish the correct diagnosis if CS is suspected but not fully confirmed.

## REFERENCES

1. Giraldi FP, Pivonello R, Ambrogio AG et al. The dexamethasone-suppressed corticotropin- releasing hormone stimulation test and the desmopressin test to distinguish Cushing's syndrome from pseudo-Cushing's states. *Clin Endocrinol* 2007; 66:251–257.
2. Newell-Price J, Trainer P, Besser M, Grossman A. The diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome and pseudo-Cushing's states. *Endocr Rev* 1998;19:647-672.
3. Yanovski JA, Cutler GB Jr, Chrousos GP, Nieman LK. Corticotropin-releasing hormone stimulation following low-dose dexamethasone administration: a new test to distinguish Cushing's syndrome from pseudo-Cushing's states. *J Am Med Assoc* 1993 ;269:2232-2238.
4. Moro M, Putignao P, Losa M, Invitti C, Maraschini C, Cavagnini F. The desmopressin test in the differential diagnosis between Cushing's disease and pseudo-Cushing states. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 3569-3574.
5. Malerbi DA, Mendonça BB, Liberman B, et al. The desmopressin stimulation test in the differential diagnosis of Cushing's syndrome. *Clin Endocrinol* 1993 ;38:463-72 .
6. Malerbi DA, Fragoso MA, Vieira Filho AHG, Brenha EML, Mendonça BB. Cortisol and adrenocorticotropin response to desmopressin in women with Cushing's disease compared with depressive illness. *J Clin Endocrinol Metab* 1996 ;81:2233-37.
7. Colombo P, Passini E, Re T, Faglia G, Ambrosi B. Effect of desmopressin on ACTH and cortisol secretion in states of ACTH excess. *Clin Endocrinol* 1997 ;46:661-668

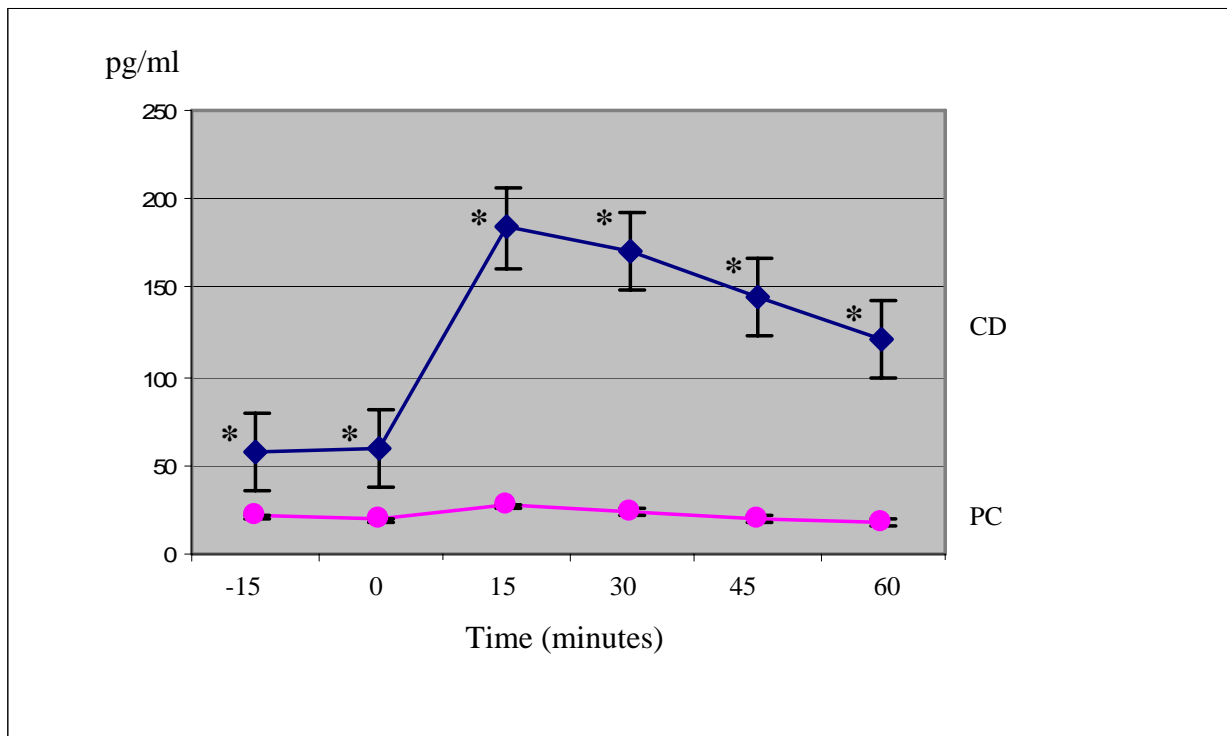
8. Sakai Y, Horiba N, Tozawa F, Sakai K, Kuwayama A, Demura H, Suda T. Desmopressin stimulation test for diagnosis of ACTH-dependent Cushing's syndrome. *Endocr J* 1997 ;44:687-95.
9. Newell-Price J, Perry L, Medbak S, et al. A combined test using desmopressin and corticotropin-releasing hormone in the differential diagnosis of Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997 ;82:176-181.
10. Ceresini G, Freddi M, Paccotti P, Valenti G, Merchenthaler I. Effects of ovine corticotropin-releasing hormone injection and desmopressin coadministration on galanin and adrenocorticotropin plasma levels in normal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:607– 610.
11. Tsagarakis S, Tsigos Com, Valiliou V, et al. The desmopressin and combined CRH-desmopressin testes in the differential diagnosis of ACTH-dependent Cushing's syndrome: constraints imposed by the expression of V2 vasopressin receptors in tumors with ectopic ACTH secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 1646-1653.
12. Groote Veldman, R. & Meinders, A.E. On the mechanism of alcohol-induced pseudo-Cushing's syndrome. *Endocrine Reviews* 1996; 17, 262–268.
13. Barden, N. Implication of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the physiopathology of depression. *J Psych Neurosc* 2004; 29, 185–193.
14. Invitti, C., De Martin, M., Delitala, G., Veldhuis, J.D. & Cavagnini, F. Altered morning and nighttime pulsatile corticotropin and cortisol release in polycystic ovary syndrome. *Metabolism* 1998; 47, 143–148.
15. Makras P, Toloumis F, Papadogias D, Kaltsas GA, Besser M. The diagnosis and differential diagnosis of endogenous Cushing's syndrome. *Hormones (Athens)* 2006; 5:231-250.

16. Papanicolaou DA, Yanovski JA, Cutler Jr. GB, Chrousos GC, Nieman LK. A single midnight serum cortisol measurement distinguishes Cushing's syndrome from pseudo-Cushing states. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 1163-1167.
17. Scott LV, Medbak S, Dinan TG. ACTH and cortisol release following intravenous desmopressin: a dose-response study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999; 51:653– 658.
18. Sugimoto Y, Sato M, Mochizuchi S, et al. Molecular cloning and functional expression of cDNA encoding the human V1b vasopressin receptor. *J Biol Chem* 1994; 269:27088 – 27092.
19. De Keyzer Y, Auzan C, Lenne F, et al. Cloning and characterization of the human V3 pituitary vasopressin receptor. *FEBS Lett* 1994; 356:215–220.
20. Dahia PLM, Ahmed-Shuaib A, Jacobs RA, et al. Vasopressin receptor expression and mutation analysis in corticotropin-secreting tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:1768-71.



**Figure 1.** Urinary free cortisol (UFC -  $\mu\text{g}/24\text{h}$ ), midnight serum cortisol ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) and 1mg overnight dexamethasone suppression test (OST -  $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) in diagnosis evaluation of Cushing's Disease (CD) and Pseudo-Cushing's (PC) patients.



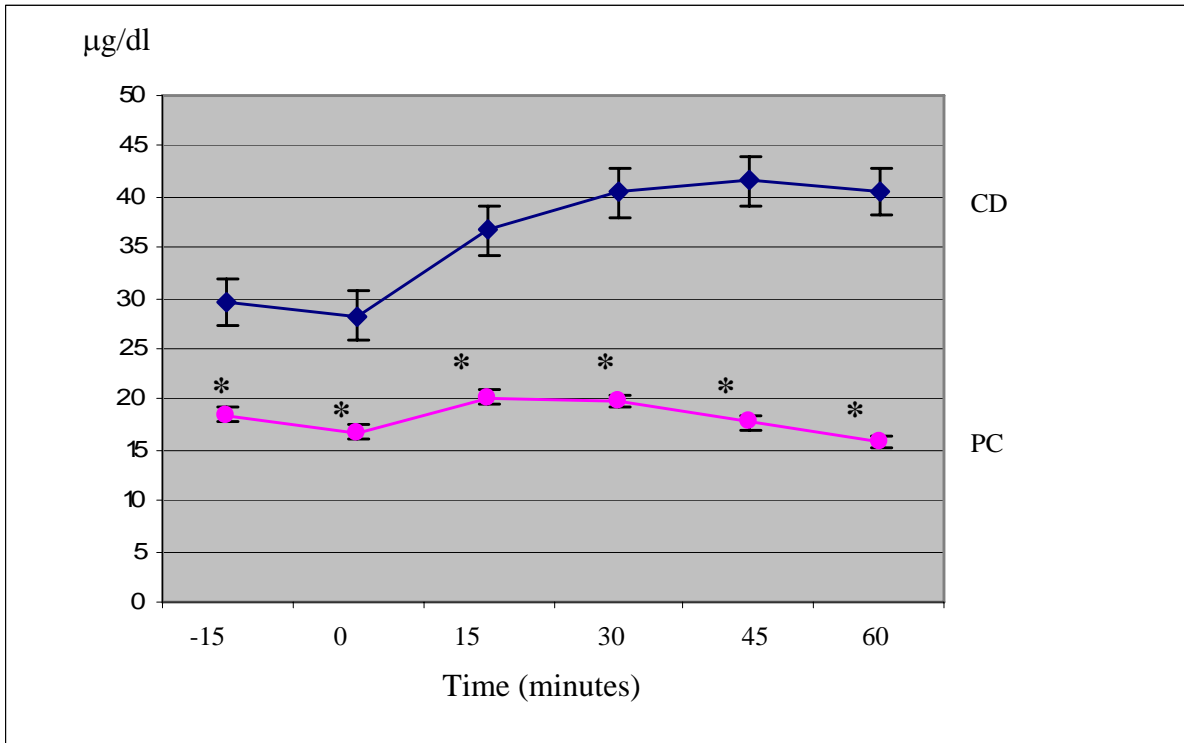


**Figure 2.** ACTH response to DDAVP administration.

CD: Cushing's Disease

PC: Pseudo-Cushing's

\* :  $P < 0.0001$

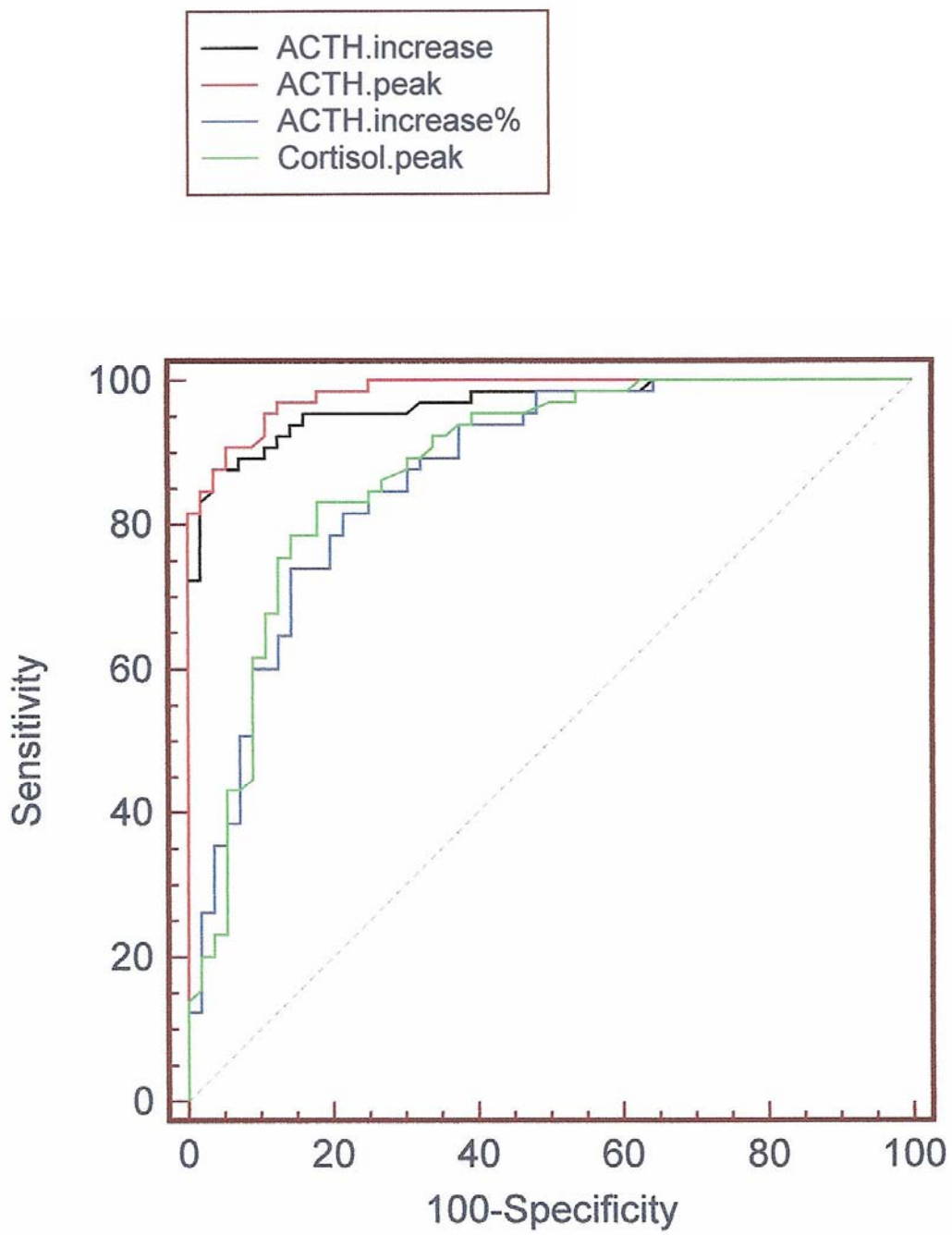


**Figure 3.** Cortisol response to DDAVP administration.

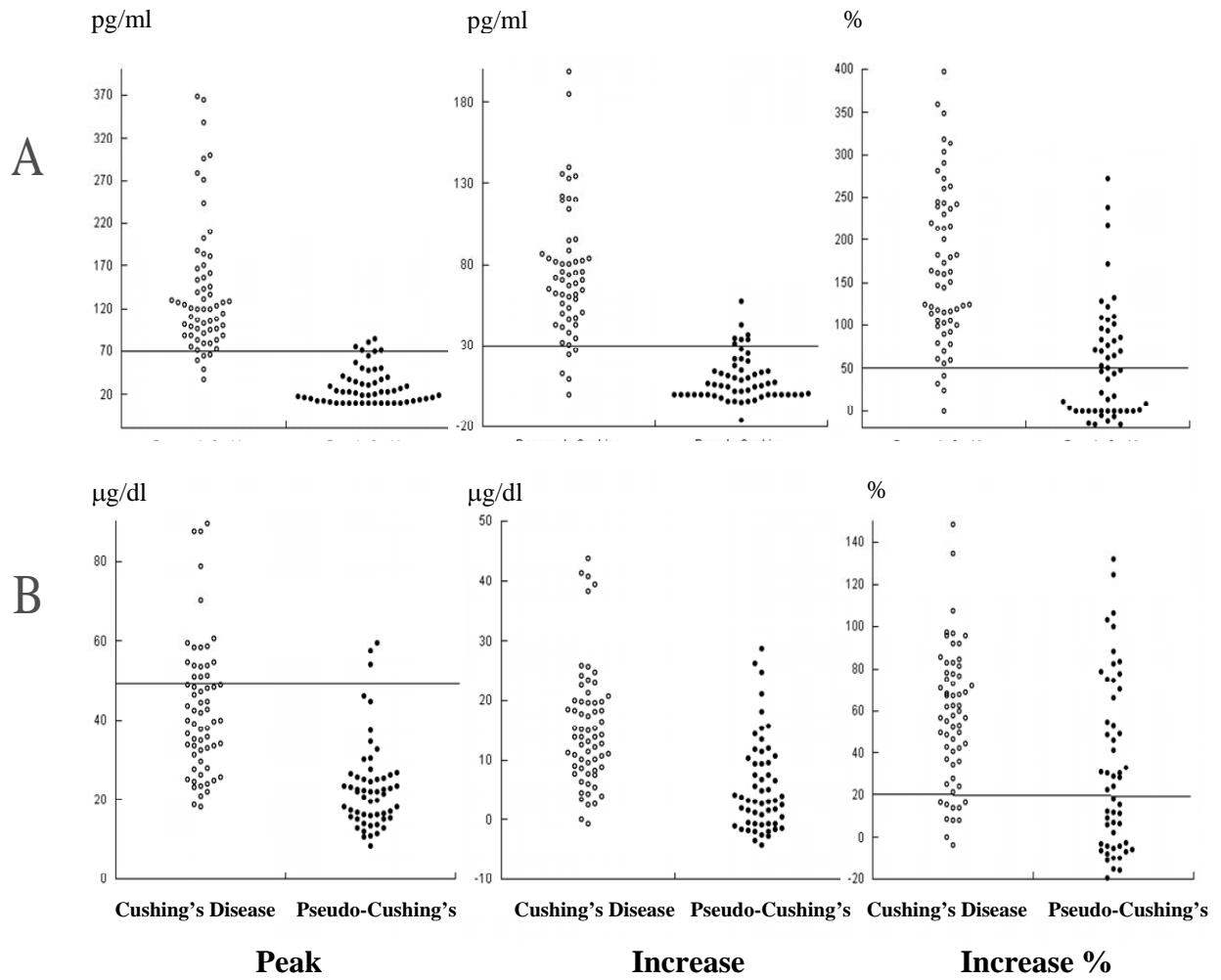
CD: Cushing's Disease

PC: Pseudo-Cushing's

\* : P<0.0001



**Figure 4.** DDAVP test: ROC curves from different criterion.



**Figure 5.** ACTH (A) and cortisol (B): evaluation of peak, absolute increase and relative increase after DDAVP administration.

**Table 1.** Performance of classical tests for the diagnosis of Cushing's Disease.

---

<b>Classical Criterion</b>	<b>Sensitivity (%)</b>	<b>Specificity (%)</b>
Elevated UFC	90.3	79.0
OST: serum cortisol > 5 µg/dl	92.4	77.0
Midnight serum cortisol >7.5 µg/dl	98.4	84.0
LDDST : serum cortisol > 5 µg/dl	77.0	85.7

---

UFC: urinary free cortisol

OST: 1 mg overnight dexamethasone suppression test

LDDST: 2 mg dexamethasone suppression test

**Table 2.** Diagnostic tests for Cushing's Disease.

	<b>S=100%</b>	<b>Sp=100%</b>	<b>Best Criterion (S /Sp %)</b>		<b>AUC</b>
UFC	39	200	117	(84.3 / 89.2)	0.88
OST	2.7	18	10.6	(75.8 / 95.9)	0.94
LDDST	5.0	9.1	2.5	(93.4 / 85.7)	0.96
Midnight F	5.0	12.8	12.8	(88.9 / 100)	0.98 <sup>a</sup>
ACTH	22	65	27	(93.8 / 76.6)	0.83 <sup>a</sup>

S: sensitivity

Sp: specificity

AUC: area under the curve

UFC: urinary free cortisol ( $\mu\text{g}/24\text{h}$ )

OST: 1mg overnight dexamethasone suppression test ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )

LDDST: 2mg dexamethasone suppression test ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )

Midnight F: midnight serum cortisol ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )

ACTH: pg/ml

a: P= 0.023 (midnight serum cortisol vs. ACTH)

**Table 3.** ACTH (pg/ml) and cortisol ( $\mu\text{g/dl}$ ) levels after DDAVP in patients with Cushing's Disease (CD) and Pseudo-Cushing's (PC).

<b>ACTH</b>				
	<b>Basal</b>	<b>Peak</b>	<b>Increase</b>	<b>Increase %</b>
CD	59.0 $\pm$ 36.7	198.3 $\pm$ 227.5	139.4 $\pm$ 203.1	230.3 $\pm$ 212
PC	19.9 $\pm$ 14.4	29.5 $\pm$ 20.9	9.6 $\pm$ 14.2	57.2 $\pm$ 82.6
P	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
<b>Cortisol</b>				
CD	28.8 $\pm$ 15.8	45.6 $\pm$ 20.6	16.9 $\pm$ 12.8	67.1 $\pm$ 47.7
PC	17.6 $\pm$ 7.6	23.3 $\pm$ 11.3	5.7 $\pm$ 7.8	36.9 $\pm$ 47.1
P	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0006

**Table 4.** Performance of DDAVP test for the diagnosis of Cushing’s Disease.

<b>Criterion</b>		<b>Sensitivity (%)</b>	<b>Specificity (%)</b>
Cortisol increase 20%	(Rollin,2008)	88.2	46.4
ACTH increase 50%	(Rollin,2008)	94.1	60.7
ACTH increase 30 pg/ml	(Rollin,2008)	92.6	87.5
	(Moro,2000) <sup>a</sup>	86.8	90.7
	(Moro,2000) <sup>b</sup>	90.0	96.7
	(Giraldi,2007)	81.5	90.0
ACTH increase 37 pg/ml	(Rollin,2008)	88.2	96.4
Peak ACTH 71 pg/ml	(Rollin,2008)	92.6	94.6

a: all patients with CD

b: patients with mild CD



**Table 5.** The DDAVP test in Cushing's Disease: evaluation by ROC analysis.

<b>Criterion</b>	<b>Sensitivity (CI)</b>	<b>Specificity (95%CI)</b>	<b>AUC</b>
ACTH 97% increase	82 % (70.5-90)	78.6 % (65.5-88.5)	0.87 (1)
ACTH 37 pg/ml increase	88.2 % (77.5-94.6)	96.4 % (88.7-99.5)	0.97 (2)
ACTH 71 pg/ml peak	92.6 % (81.5-96.5)	94.6 % (85.1-98.8)	0.98 (3)
Cortisol 33% increase	80 % (68.2-88,9)	60.7 % (46.8-73,5)	0.71 (4)
Cortisol 7.5 µg/dl increase	83 % (71.7-91.2)	69.6 % (55.9-80.5)	0.82 (5)
Cortisol 28 µg/dl peak	83 % (71.7-91.2)	82.1% (69.6-91.1)	0.88 (6)

AUC: area under the curve

- 1 vs. 2:  $P < 0,001$

- 2 vs. 3:  $P = 0,144$

- 2 vs. 6:  $P = 0,005$

- 1 vs. 3:  $P < 0,001$

- 1 vs. 6:  $P = 0,838$

- 3 vs. 6:  $P = 0,001$

## CONCLUSÕES

- O diagnóstico diferencial entre a doença de Cushing e os estados de pseudo-Cushing ainda representa um grande desafio endocrinológico, especialmente nos casos de hipercortisolismo leve. Clinicamente, são muito semelhantes e ainda, os resultados laboratoriais podem ser inconclusivos inicialmente.
- O diagnóstico de doença de Cushing deve sempre ser lembrado naqueles portadores de obesidade central, diabéticos, hipertensos, com síndrome metabólica e hiperandrogenismo (especialmente na presença de quadro clínico compatível com síndrome dos ovários policísticos em mulheres).
- Pacientes com doença de Cushing leve lembram muito os estados de pseudo-Cushing, sendo difícil sua distinção clínica e/ou laboratorial. Entretanto, a presença de fragilidade capilar, fâscies arredondadas com pletora e acúmulo de gordura cervical e supraclavicular apontam de modo muito consistente para o diagnóstico de DC.
- Cortisol pós 1 mg dexametasona “overnight” é um bom teste para triagem: cortisol  $2,7 \mu\text{g/dl}$  significou sensibilidade de 100% e o ACTH basal, por sua vez, também é muito útil na triagem: ACTH de  $22 \text{ pg/ml}$  representou uma sensibilidade de 100% no nosso estudo.
- Cortisol sérico dosado à meia-noite é um excelente teste, com especificidade de 100% para níveis de  $12,8$ .

- ACTH pós-DDAVP é um teste muito bom para confirmar diagnóstico de doença de Cushing: especificidade de 96,4% para aumento de 37 pg/ml e 94,6% para pico de 71 pg/ml. A interpretação do ACTH pós-DDAVP deve considerar o aumento absoluto e o pico atingido. O aumento percentual perde muito em especificidade.
- Cortisol pós-DDAVP não acrescenta informações para o diagnóstico diferencial de doença de Cushing e pseudo-Cushing. O critério clássico de 20% de aumento apresenta especificidade <50%.
- Assim sendo, o diagnóstico da doença de Cushing não pode ser baseado em apenas um teste. Muitas vezes, o diagnóstico pode ser demorado e acaba sendo necessária a realização de vários testes dinâmicos para avaliar o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Em alguns pacientes, apenas o acompanhamento ao longo do tempo, com uma reavaliação hormonal periódica, é que permitirá o diagnóstico definitivo.