

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:
ENDOCRINOLOGIA



Dissertação de Mestrado

“Estudo da acurácia do teste com estímulo por desmopressina realizado em 14 dias de pós-operatório de cirurgia transesfenoidal para a predição de recidiva tardia em coorte de pacientes com Doença de Cushing”

Artur Boschi

Porto Alegre, Novembro de 2017.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:
ENDOCRINOLOGIA



Dissertação de Mestrado

“Estudo da acurácia do teste com estímulo por Desmopressina realizado em 14 dias de pós-operatório de cirurgia transesfenoidal para a predição de recidiva tardia em coorte de pacientes com Doença de Cushing”

Artur Boschi

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Endocrinologia, à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia

Orientador:
Prof. Dr. Mauro Antônio Czepielewski

Porto Alegre, novembro de 2017

CIP - Catalogação na Publicação

Boschi, Artur

Estudo da acurácia do teste com estímulo por desmopressina realizado em 14 dias de pós-operatório de cirurgia transesfenoidal para a predição de recidiva tardia em coorte de pacientes com Doença de Cushing / Artur Boschi. -- 2017.

72 f.

Orientador: Mauro Antonio Czepielewski.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Porto Alegre, BR-RS, 2017.

1. Doença de Cushing. 2. recidiva tardia. 3. teste de desmopressina. 4. DDAVP. I. Czepielewski, Mauro Antonio, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS:

- Ao meu orientador, Professor Dr. Mauro Antonio Czepielewski nesta jornada de quase 15 anos desde a iniciação científica na Graduação em Medicina até hoje, por ser um exemplo de professor, médico e pesquisador. Sempre atualizado e dedicado aos pacientes e incansável na sua vontade de ajudar em todo o possível. Serei sempre grato por teres visto meu potencial na Medicina e pelas oportunidades que me oferecestes nesses anos de aprendizado. Com certeza minha carreira seria apenas uma pequena fração do que é hoje se não fosse por seu apoio.
- Ao Grupo de Pesquisa em Neuroendocrinologia e ao Grupo do Ambulatório de Baixa Estatura pela generosidade de me receber tão jovem na carreira de pesquisador e mostrarem-me a paixão pela Endocrinologia Clínica. Sonhei muito tempo em participar desse time. Aprendi a ser médico seguindo o exemplo de vocês.
- Agradeço a Universidade Federal do Rio Grande do Sul por ter me acolhido e oferecido uma experiência única de graduação e pós-graduação com qualidade reconhecida internacionalmente.
- A todos os pacientes, sem os quais nada disso teria sentido, por confiarem cegamente sua intimidade a jovens médicos e pesquisadores.
- Aos meus familiares queridos, em especial aos meus pais Edê e Aldrovando que foram incansáveis e abriram mão de tanto na busca pelas melhores oportunidades para toda nossa família. Obrigado por me ensinarem que o trabalho duro e dedicado sempre traz bons frutos.

Meus irmãos Samuel, Vitor e Gabriel que acompanharam toda essa jornada até aqui.

- Aos meus queridos amigos, mesmo quando estive distante, mergulhado nos livros, sempre foram fieis e apoiadores de minha jornada.
- Meu querido companheiro Artur. Nos encontramos no meio desta trajetória, mas só cheguei até o final por teu amor e apoio incondicional. Tua visão cotidiana prática foi mais preciosa do que imaginas.

SUMÁRIO:

Lista de Abreviaturas -----	6
Lista de Figuras -----	8
Lista de Tabelas -----	9
Apresentação -----	10
Resumo -----	11
Capítulo I – Introdução -----	13
Capítulo II	
Artigo original: “Resposta do Cortisol e do ACTH à Desmopressina após duas semanas da cirurgia transesfenoidal prediz risco de recidiva em longo prazo da Doença de Cushing”.	
Título -----	32
Resumo -----	33
Introdução -----	34
Material e Métodos -----	35
Resultados -----	40
Discussão -----	47
Referências -----	52
Tabelas -----	56
Figuras -----	62
Conclusões da Tese -----	70
Anexos -----	71
Perspectivas futuras da vida acadêmica -----	71

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS:

ACTH: Hormônio Adrenocorticotrófico

AVP: Neuropeptídeo Arginina-Vasopressina

AUC: do inglês *area under curve*

CBG: Globulina Carreadora de Cortisol Sérico

CBSPI: Cateterismo Bilateral dos Seios Petrosos Inferiores

CLU: Cortisolúria Livre Urinária

CRH: Hormônio Liberador de Corticotrofina

CSN: Cortisol Salivar Noturno

CTE: Cirurgia Transesfenoidal

CVa: Coeficiente de variação intra-ensaio

CVe: Coeficiente de variação inter-ensaio

DC: Doença de Cushing

DDAVP: Desmopressina

ES: Especificidade

LIDDLE I: Teste de Supressão com Dexametasona 2 mg

LIDDLE II: Teste de Supressão com Alta Dose de Dexametasona

LMD: limite mínimo de detecção

Per-OP: peroperatório

Pós-OP: Pós-operatório

Pré-OP: pré-operatório

RC: Razão de Chances

RNM: Ressonância Nuclear Magnética

ROC: Receiver Operator Characteristics

SAE: Secreção de ACTH ectópico

SC: Síndrome de Cushing

SE: Sensibilidade

SNC: Sistema Nervoso Central

TSD 1mg: Teste de Supressão após 1 mg de dexametasona

VPP: Valor Preditivo Positivo

VPN: Valor Preditivo Negativo

LISTA DE FIGURAS:**Capítulo II**

Figura 1A – Curva ROC dos valores de Pico ACTH no teste DDAVP pós-operatório -- -----	62
Figura 1B – Curva de Kaplan-Meyer dos pacientes divididos pelo critério de Pico ACTH > 47 pg/ml no teste DDAVP pós-operatório-----	63
Figura 2A – Curva ROC dos valores de Delta ACTH no teste DDAVP pós-operatório - -----	64
Figura 3A – Curva ROC dos valores de Pico Cortisol no teste DDAVP pós-operatório -----	65
Figura 3B – Curva de Kaplan-Meyer dos pacientes divididos pelo valor de coorte para Pico Cortisol > 17,05 µg/dL no teste DDAVP pós-operatório -----	66
Figura 4A – Curva ROC dos valores de Delta Cortisol no teste DDAVP pós-operatório -----	67
Figura 4B – Curva de Kaplan-Meyer dos pacientes divididos pelo critério de Variação de Cortisol > 7,12 µg/dL no teste DDAVP pós-operatório -----	68
Figura 4C – Curva de Kaplan-Meyer dos pacientes divididos pelos 2 critérios de Pico Cortisol > 17,05 µg/dL e Variação de Cortisol > 7,12 µg/dL no teste DDAVP pós-operatório -----	69

LISTA DE TABELAS:**Capítulo II**

Tabela 1 – Características dos pacientes antes da cirurgia transesfenoidal (CTE) ---	
-----56	
Tabela 2 – Padrão de resposta do teste de estímulo com desmopressina (DDAVP)	
nos pacientes que permaneceram em remissão ou recidivaram a Doença de	
Cushing -----58	
Tabela 3 – Acurácia dos parâmetros diagnóstico obtidos pela curva ROC nos	
pacientes em remissão pós-operatória (n=49) para predizer recidiva de Doença	
de Cushing. -----59	
Tabela 4 – Acurácia dos diferentes critérios do teste DDAVP no pós-operatório	
para predição de recidiva da Doença de Cushing (DC). -----61	

APRESENTAÇÃO:

Esta Dissertação de Mestrado **“Estudo da acurácia do teste com estímulo por Desmopressina realizado em 14 dias de pós-operatório de cirurgia transesfenoidal para a predição de recidiva tardia em coorte de pacientes com Doença de Cushing”** segue o formato proposto pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Metabolismo e Nutrição da Faculdade de Medicina da UFRGS, na forma de introdução ao tema e um artigo científico original, sendo apresentada da seguinte maneira:

1. Introdução
2. Artigo Original

“Resposta do Cortisol e do ACTH à Desmopressina após duas semanas da cirurgia transesfenoidal prediz risco de recidiva em longo prazo da Doença de Cushing”

3. Conclusões

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes instituições:

- Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)
- Fundo de Incentivo a Pesquisa do Hospital de Clínicas (FIPE).

RESUMO:

No capítulo I desta dissertação apresentamos uma revisão da literatura discutindo as evidências recentes sobre o seguimento clínico do pós-operatório de Cirurgia Transesfenoidal (CTE) para o tratamento de Doença de Cushing (DC). Após o diagnóstico e tratamento adequado dos pacientes portadores de DC, os clínicos e endocrinologistas envolvidos no manejo desses pacientes enfrentam dilemas importantes. Atualmente a literatura possui variáveis critérios para definir se o paciente apresenta remissão cirúrgica imediata ou se permanece com a doença ativa. Há consenso na literatura que os pacientes com quedas mais acentuadas nos valores da cortisolemia nas primeiras horas de pós-operatório parecem ter maiores chances de remissão clínica. Entretanto, até o momento nenhum valor de cortisolemia conseguiu determinar quais pacientes apresentarão recidiva da DC tardiamente, visto que esta pode ocorrer após muitos anos de controle da doença. Justamente essa é a grande questão que se sobrepõe na prática clínica dos neuroendocrinologistas: definir quais os pacientes com maior risco de apresentar recidiva tardia da DC após obterem remissão da doença com o tratamento cirúrgico. Nesta introdução discutimos os artigos publicados recentemente que estudaram métodos laboratoriais diferentes para definição de remissão e recidiva tardia em pacientes submetidos à CTE. Enfocamos a revisão nos artigos que avaliaram o teste de estímulo com desmopressina realizado no pós-operatório e seus resultados na determinação de recidiva tardia.

No capítulo II apresentamos o artigo original onde descrevemos a coorte de 65 pacientes portadores de DC submetidos à CTE e que realizaram teste de estímulo com desmopressina após 14 dias de pós-operatório. O objetivo deste estudo foi determinar a acurácia dos valores de cortisol e ACTH após o estímulo de

desmopressina em definir o risco de recidiva tardia da DC precocemente nestes pacientes. Nossa hipótese era que os pacientes com respostas maiores nos valores de ACTH e/ou cortisol apresentassem maior chance de recidiva. Estudamos 65 pacientes, sendo que 49 apresentaram critérios de remissão da DC por 6 meses e 16 permaneceram com doença ativa após CTE. Dentre os 49 pacientes em remissão imediata, 39 permaneceram em remissão prolongada e 10 pacientes apresentaram recidiva da DC após um seguimento médio de 83 meses. Identificamos em nossa amostra que os pacientes com recidiva tardia apresentaram valores medianos de cortisol e ACTH mais elevados após o estímulo com desmopressina. Através da análise das curvas ROC para esses parâmetros, determinamos que o pico de ACTH > 47 pg/mL apresentou valor preditivo positivo (VPP)= 50% e valor preditivo negativo (VPN)= 93% para recidiva e o pico de cortisol $> 17,05$ μ g/dL apresentou VPP= 52% e VPN= 96% para recidiva. Ao analisarmos conjuntamente os valores de cortisol e ACTH após o estímulo com desmopressina e os níveis de cortisolemia pós-operatória imediata, determinamos que os pacientes com nadir de cortisolemia Pós-OP $> 4,15$ μ g/dL e pico ACTH > 47 pg/mL apresentam VPP= 85% e VPN= 92% para recidiva tardia de DC. Outras variáveis estudadas foram as mudanças do padrão de resposta ao estímulo com desmopressina no pré-operatório e pós-operatório dos pacientes utilizando os critérios de positividade do teste de estímulo previamente descritos na literatura. Por fim, identificamos que o teste de estímulo com desmopressina possui boa acurácia para determinar o risco de recidiva tardia da DC quando realizado em 14 dias de pós-operatório.

INTRODUÇÃO:

A Síndrome de Cushing (SC) compreende uma série de sinais e sintomas decorrentes da exposição crônica a níveis elevados de glicocorticoides circulantes (1-4). A síndrome é conhecida desde quando Harvey Cushing descreveu a associação de obesidade central, fragilidade capilar e cutânea em 1911 (5). Alguns sintomas comuns são o ganho de peso, fadiga, perda de libido, insônia, depressão, irregularidade menstrual e dores lombares. A SC pode cursar com sinais mais específicos da síndrome, entre eles pletora facial, fraqueza muscular proximal, estrias violáceas e largas (especialmente se maiores de 1cm) e em crianças a redução da velocidade de crescimento. Outros sinais, menos específicos da SC, são face em lua cheia, gordura supra clavicular, obesidade abdominal, giba, edema periférico, acne, hirsutismo e afinamento cutâneo(3).

A SC se associa à hipertensão, osteoporose e diabetes melito, especialmente quando presentes em pacientes jovens ou com manifestações atípicas. Além dos anteriores é importante mencionar a nefrolitíase, hipocalemia, infecções de repetição, transtornos psiquiátricos e infertilidade (3, 6, 7).

A prevalência da SC é de 39-79 casos a cada 1.000.000 de habitantes, sendo 1,2 a 2,4 casos novos ao ano nessa mesma área populacional. Afeta todas as faixas etárias, sendo mais comum na terceira década de vida e atinge mais mulheres, em proporção de 3:1 (1, 3, 7, 8). Essas estatísticas podem ser ainda maiores, pois a SC eventualmente se manifesta como doença leve (sem os sinais e sintomas mais característicos da síndrome) e, dessa forma, pode ser confundida com diagnósticos mais comuns, como hipertensão arterial sistêmica, obesidade ou diabetes melito(1, 5, 8). Portanto, essa multiplicidade de sinais e sintomas, concomitância com doenças comuns e cursos de remissão e recidiva variados tornam a SC um dos desafios da prática do endocrinologista clínico tanto em termos diagnósticos quanto terapêuticos.

Comorbidades e Mortalidade

A SC gera importantes prejuízos metabólicos e incremento da mortalidade dos seus portadores. A taxa de sobrevivência em 5 anos é de apenas 50% nos pacientes que não recebem nenhum tratamento (3, 9-12).

Uma série de 418 pacientes, selecionada em 2 centros, demonstrou taxa de sobrevida em 10 anos de 95,3% nos pacientes portadores de Doença de Cushing (DC) adequadamente tratados. As principais causas de óbito nesta casuística foram doenças cardiovasculares e sepse/infecção em 50% e 21,4% dos pacientes respectivamente (13).

Os riscos cardiovasculares decorrentes da combinação de hipercortisolismo com diabetes melito, hipertensão ou obesidade podem permanecer mesmo depois da remissão do hipercortisolismo. Esse efeito pode ser consequência das lesões ateroscleróticas desencadeadas pela SC ou outros mecanismos de manutenção da hipertensão (1, 12, 14, 15).

Meta-análise de Clayton e cols. incluiu 6 publicações com relatos de mortalidade em portadores de hipercortisolismo por DC. A taxa de mortalidade dos pacientes agrupados foi de 2,2 (Intervalo de Confiança (IC): 1,45-3,41) quando comparada a população geral hígida(16). Todavia, a meta-análise foi comprometida pela inclusão de estudos com diferentes propostas de terapêutica e de seguimento dos pacientes.

Exposição cerebral crônica ao excesso de glicocorticoides causa alterações estruturais e funcionais. Algumas patologias psiquiátricas, como depressão maior, ansiedade e psicose são associadas a SC, assim como o comprometimento cognitivo na forma de redução na memória e distúrbios do sono podem ocorrer (1). Além disso, as consequências do hipercortisolismo no Sistema Nervoso Central (SNC) podem não se resolver após a remissão da doença. Por exemplo, Bourdeau e cols. avaliaram um grupo de 38 pacientes com hipercortisolismo, dos quais 21 por DC e 17 por adenoma adrenal, através de exames de ressonância nuclear magnética (RNM). Eles demonstraram a ocorrência de atrofia cerebral significativa nos pacientes com doença ativa. Estes pacientes apresentaram volumes ventriculares cerebrais significativamente maiores em comparação aos controles saudáveis, com melhora apenas parcial desta diferença quando os pacientes foram reavaliados 39 meses após a resolução do hipercortisolismo (17).

Diagnóstico da Síndrome de Cushing

Diante da suspeita de SC, o Consenso da *Endocrine Society* de 2008 recomenda que o primeiro passo seja uma entrevista clínica focada no histórico dos medicamentos usados pelo paciente, a fim de excluir a exposição a glicocorticoides exógenos, o que caracterizaria SC iatrogênica, uma vez que essa é a principal causa(3). Em seguida, se

procede para a confirmação do hipercortisolismo através da presença de ao menos dois testes alterados dentre os seguintes:

1- Cortisolúria Livre Urinária (CLU): É a coleta de amostra urinária por 24 horas com a medida da fração livre de cortisol. Possui sensibilidade (SE) variável dependendo do ponto de corte escolhido e a técnica de análise. Valores acima de 4 vezes o limite superior do normal confirmam a SC. Não sofre a interferência de medicações que aumentam os níveis da globulina carreadora de cortisol sérico (CBG), como derivados estrogênicos e mitotano. As limitações do teste são a possibilidade de coleta inadequada da urina em 24 horas ou a presença de doença renal crônica (3, 6, 8).

2- Cortisol Salivar à meia-noite (CSN): Medida de cortisol livre em amostra salivar realizada às 23 horas. Permite demonstrar a falta de redução noturna dos níveis de cortisol. Tem SE de 92-100% e especificidade (ES) de 93-100% para o diagnóstico de SC. Esse exame permite uma coleta sem as dificuldades operacionais e o estresse doloroso da punção venosa, tornando-o mais prático (4, 18). Todavia, o CSN possui variabilidade de resultados conforme a técnica de coleta da saliva, assepsia bucal ou contaminação sanguínea, o que torna necessária a coleta de várias amostras para o mesmo paciente (3, 6, 8).

3- Teste de Supressão após 1 mg de Dexametasona (TSD): Consiste na medida de cortisol sérico matinal após administração de 1 mg de dexametasona às 23:00h na noite anterior. Possui SE >95% quanto o cortisol sérico se reduz a menos de 1,8 µg/dL. Podem ocorrer resultados falsos positivos em decorrência do metabolismo hepático acelerado causado por alcoolismo ou drogas que aumentam a metabolização da dexametasona (rifampicina, fenitoína e outras) (3, 6, 8). Além disso, por medir o cortisol total, sofre interferência com as variações na concentração da globulina carreadora do cortisol.

4- Teste de Supressão com Dexametasona 2 mg (Liddle I): é a medida de cortisol sérico após 4 doses de 0,5 mg dexametasona (0,5 mg cada 6 horas) por 48h. A SE é 97% e a ES é 70% para o diagnóstico de SC. Possui as mesmas limitações relacionadas ao metabolismo da dexametasona por indução hepática do teste acima. (3, 6, 8) e das interferências na concentração da globulina carreadora do cortisol

5- Cortisol Sérico a meia-noite: O ciclo circadiano normal é precocemente afetado nos pacientes portadores de SC. Teste de difícil execução pois exige a internação hospitalar por no mínimo 48 horas para ser realizado adequadamente (3, 19). Quando realizada coleta com paciente dormindo, valores de cortisol > 1,8 µg/dL tem SE de 100%

para o diagnóstico de SC, entretanto apenas o ponto de corte $> 7,5 \mu\text{g/dL}$ apresenta ES de 87%(3). Se a coleta for realizada com paciente acordado, valores de corte mais elevados devem ser adotados, nessa situação cortisolemia $> 7,5 \mu\text{g/dL}$ apresenta SE de 96% e ES de 100% para diagnóstico de SC versus pseudo-SC (19). Por medir cortisol total também sofre com as alterações na globulina carreadora de cortisol. Parece ser um teste de maior valor diagnóstico quando realizado em pacientes com testes ambulatoriais iniciais (TSD 1 mg ou CLU) limítrofes (3).

É importante salientar que as acurácias descritas acima para os referidos testes foram estabelecidas através da análise de pacientes com hipercortisolismo bem estabelecido. Atualmente casos mais leves estão sendo investigados e a prevalência de DC cíclica tem sido bem documentada o que diminui bastante o poder diagnóstico dos testes na prática clínica atual (20)

Etiologia da Síndrome de Cushing

Apenas após a confirmação do hipercortisolismo é que iremos pesquisar as etiologias da SC. Conforme descrito acima, a principal causa é o uso de medicações contendo glicocorticoides na sua formulação (6, 8). Após a exclusão do uso exógeno, os pacientes com SC são classificados pelos níveis séricos do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). Dentre os pacientes com ACTH em níveis detectáveis, 80 % são portadores de adenoma hipofisário produtor de ACTH, ou seja, DC e 10-15 % possuem foco produtor de ACTH em tumores extra-hipofisários – Secreção de ACTH ectópico (SAE). Os demais pacientes com SC e níveis de ACTH baixos (20 % dos casos) são portadores de adenomas ou adenocarcinomas produtores de cortisol de origem adrenal ou mais raramente hiperplasias macronodulares adrenais (1, 4, 6-8).

A classificação etiológica dos pacientes portadores de SC ACTH-dependente (ACTH $>20 \text{ pg/mL}$) pode ser feita por:

1- Teste de Supressão com Alta Dose de Dexametasona (Liddle II): dosagem de cortisol sérico e/ou urinário durante e após administração de dexametasona 2 mg a cada 6 horas por 48h. Distingue a DC de SAE com SE de 60-80% e ES proporcional aos graus de redução do cortisol selecionados(1, 6, 19).

2- Teste de Estímulo com Hormônio Liberador de Corticotrofina (CRH): determinação dos valores de cortisol e ACTH após a infusão de 100 μg de CRH humano ou ovino. Considera-se positivo para DC o teste que atinge variações maiores de 35% em

ACTH e/ou 20% em cortisol em coletas variadas até 45 minutos(6, 19). Apresenta SE de 93% e de 91% para resposta de ACTH e cortisol e, da mesma forma, ES de 100% e de 88-100%, respectivamente (1).

3- Teste de estímulo com desmopressina (DDAVP): O DDAVP é um análogo sintético da vasopressina que possui afinidade com receptores específicos que são hiperexpressos em adenomas corticotróficos (21). O teste consiste na medida em sangue periférico dos níveis de cortisol e ACTH antes e após infusão de DDAVP. Possui papel definido no diagnóstico diferencial da SC e pseudo-SC, apresentando SE de 82-90% e ES de 90-96% neste contexto (22-24). Este exame será descrito mais detalhadamente abaixo.

4- Imagem hipofisária central, preferencialmente a RNM de sela túrcica: Deve ser realizada em todos os pacientes com SC ACTH-dependente. Nesse exame serão encontradas lesões hipofisárias maiores de 6 mm em 60% dos casos, situação que associada aos testes dinâmicos alterados (teste de CRH periférico, Liddle II) confirma o diagnóstico de DC. É essencial ressaltar que até 10% das pessoas sem a patologia podem apresentar lesões hipofisárias menores de 5 mm não funcionantes, logo, só deve ser realizada a RNM após a confirmação bioquímica da SC (1, 6).

5- Teste invasivo do cateterismo bilateral dos seios petrosos inferiores (CBSPI). Considerado o teste padrão de referência para confirmar a fonte hipofisária de ACTH(1). A origem central da produção de ACTH resulta em um gradiente central/periférico de ACTH maior de 2 vezes prévio ao estímulo, ou maior de 3 vezes após estímulo com CRH ou DDAVP. Esse método possui SE e ES de 95% para o diagnóstico de DC(1). É um exame de elevada complexidade, difícil execução, altamente invasivo, que exige pessoal treinado para ser realizado (1, 6, 19).

Tratamento da Doença de Cushing

Confirmada a origem hipofisária do hipercortisolismo, a CTE para ressecção do adenoma produtor de ACTH permanece sendo o tratamento de primeira linha na maioria das situações. A taxa de remissão cirúrgica é de 65-90% dependendo da experiência do neurocirurgião, do tamanho do tumor e do comprometimento de estruturas adjacentes (1, 8, 18, 25). A comparabilidade desses resultados entre diversos centros é muito restrita, em decorrência dos diferentes critérios de remissão escolhidos,

do período de seguimento insuficientes em algumas casuísticas e das diferentes técnicas cirúrgicas empregadas (26).

Seguimento Pós-operatório – Definição de Remissão

O seguimento pós-operatório (pós-OP) dos pacientes é um tema em debate na literatura médica, pois não existem critérios consensuais que caracterizem a remissão cirúrgica, assim como, a avaliação clínica e bioquímica adequada para diagnosticar as recorrências. Os autores descrevem diferentes critérios para definir os pacientes em remissão pós-OP, dentre os quais temos a resolução dos sintomas clínicos de hipercortisolismo, necessidade de reposição glicocorticoide por mais de 6 meses, presença de sinais clínicos/laboratoriais de hipocortisolismo ou insuficiência adrenal como critérios de remissão na maioria das séries de casos (25).

Em 2004, Rollin e cols. descreveram 41 pacientes em pós-OP de CTE seguidos por 4,8 anos em média. Trinta e cinco pacientes foram considerados em remissão pelo critério de TSD < 3 µg/dL e/ou dependência de glicocorticoides por mais de 6 meses. Nesta amostra o nadir de cortisol em 10-12 dias de pós-OP menor de 7,5 µg/dL foi capaz de determinar os pacientes em remissão imediata. Entretanto nenhum valor de cortisol sérico no pós-OP foi capaz de prever recidiva tardia da DC naquela amostra (27).

Nosso grupo publicou, em 2014, uma complementação desta coorte descrita acima, incluindo 103 pacientes portadores de DC que realizaram CTE. Dentre os quais, 84 casos foram considerados em remissão de longo prazo pelo critério de dependência de glicocorticoide ou cortisol sérico < 3 µg/dL após TSD 1mg. Foi encontrado que o nadir do cortisol sérico igual ou inferior a 3,5 µg/dL no período de 48 hs pós-OP apresentou ES e valor preditivo positivo (VPP) de 100% para remissão naquela casuística(28). Entretanto, nenhuma medida de cortisol pós-OP foi capaz de prever os riscos de recidiva tardia, provavelmente pois o seguimento clínico não havia sido longo o suficiente.

Em 2015, Petersenn e cols. realizaram uma revisão sistemática da literatura e encontraram 44 estudos que descreviam claramente os critérios de remissão da DC após a CTE, avaliando um total de 6400 pacientes. Foi identificada uma taxa de remissão cirúrgica muito ampla, com mediana de 77% (IC: 42,0-96,0) no conjunto estudado (29). A principal limitação desta análise, foi a grande variedade de critérios de remissão e

recidiva usados pelos autores dos estudos causando a ampla variação dessas taxas, mostrando a importância de maior padronização destes dados na prática clínica.

Uma vez que não existe consenso no critério de remissão pós-OP da DC, e considerando que os corticotrófos normais se encontram suprimidos no pós-OP imediato pelo hipercortisolismo crônico, o *Guideline da Endocrine Society* recomenda que seja usada a medida de cortisol no pós-OP menor de 5,0 µg/dL ou CLU menor de 20 µg/dia medidos na primeira semana de pós-OP como maneira de quantificar a chance de remissão da DC (18).

Seguimento Pós-operatório – Definição de Recorrência:

A definição de recorrência da DC é controversa entre os estudos. O critério mais frequentemente aceito é a combinação de novos sinais e sintomas clínicos de hipercortisolismo e/ou marcadores bioquímicos alterados em pacientes após a remissão da DC (25).

Considerados os portadores de DC operados que obtém a remissão após a CTE, a recorrência da doença passa a ser uma preocupação significativa para os endocrinologistas e os próprios pacientes. Essas taxas de recorrência variam de 15 a 66% dentro de 5-10 anos após a CTE dependendo de quais critérios foram escolhidos para definir remissão e recorrência (18, 25, 30). Dessa forma, algumas investigações tem sido direcionadas a responder qual a melhor maneira de identificar os pacientes em maior risco de recorrência da DC a qualquer tempo de pós-OP tardio.

São recomendadas avaliações clínicas anuais que busquem a recidiva dos sinais e sintomas da DC ou a sua manifestação laboratorial, uma vez que observam-se recorrências tardias da DC em períodos tão longos quanto 20 anos (25, 31, 32). A melhor técnica para confirmar recorrência da DC ainda não está bem definida na prática clínica. Dentre as opções de investigação de recidiva temos a CLU, o TSD 1 mg e CSN, porém poucos dados focados na acurácia destes métodos para determinar recorrência são disponíveis (25).

Alguns autores defendem que a medida de CSN é mais sensível que o aparecimento dos sintomas clínicos ou até mesmo das alterações de CLU ou TSD 1 mg overnight na investigação da recidiva pós-OP da DC (33-35).

Amlash e cols. estudaram 165 pacientes em pós-operatório de DC que realizaram alguma medida de CSN. Ao considerarem o ponto de corte <1,9 nmol/l, o teste

apresentou SE de 94% e ES de 80% para determinar remissão em 3 meses de pós-OP. Os resultados de CSN, CLU e cortisol sérico matinal no pós-OP foram semelhantes entre si para discriminar os pacientes em remissão. Entretanto, nenhum dos parâmetros do CSN foi melhor do que os níveis séricos de cortisol no pós-OP imediato para determinar os casos de recidiva durante o seguimento médio de 53 meses(36).

O teste de CRH periférico pode oferecer mais informações quanto ao risco de recidiva da DC. Lindsay e cols. prospectivamente estudaram 418 pacientes que foram submetidos a CTE e seguidos por um período médio de 10,6 anos. Eles avaliaram a curva de corstisolemia pós-OP associada ao teste de estímulo com CRH e o risco de recidiva tardia da DC. Os valores de nadir cortisol no terceiro dia de pós-OP foi significativamente maior no grupo de pacientes que recidivaram em comparação aos que se mantiveram em remissão prolongada, respectivamente 1,5 µg/dL e 2,9 µg/dL. Os valores de pico ACTH e pico cortisol após estímulo com CRH apresentaram valores mais altos no grupo que recidivou em relação aos pacientes em remissão prolongada. O teste de CRH apresentou maior acurácia no grupo de pacientes com nadir pós-OP de cortisol > 2 µg/dL (37). Entretanto, apesar da grande amostra de pacientes e seguimento por longo período, o diagnóstico de recidiva foi determinado por auto-avaliação dos pacientes em 35% da amostra, fato que pode ter comprometido a acurácia da aferição dos desfechos significativamente. Assim, a melhor estratégia de investigação dos pacientes em risco de recidiva da DC ainda é tema em debate na literatura.

Papel da desmopressina no fisiopatologia da Doença de Cushing:

A partir dos anos 90 a endocrinologia clínica começou a sofrer com dificuldades no fornecimento de CRH sintético para a realização dos testes funcionais diagnósticos de DC, prejudicando os testes dinâmicos e principalmente o CBSPI. Neste momento, as primeiras evidências do uso de DDAVP na investigação diagnóstica da DC surgiram (38-40).

O DDAVP apresenta características semelhantes ao CRH na secreção de ACTH (41). É um análogo sintético do neuropeptídeo arginina-vasopressina (AVP) que se liga com alta afinidade nos receptores de AVP chamados AVPR1a (V1R), AVPR1b (V3R) e AVPR2 (V2R) (42, 43). Seu principal papel é na homeostase hídrica e pressórica, exercendo suas ações em receptores vasculares e renais AVPR1a (2). Por fim, foram identificados receptores AVPR1b na adenohipófise relacionados com a secreção de

ACTH com papel fisiológico relacionado a resposta inflamatória e estresse(44, 45). Em pacientes saudáveis ocorre apenas uma pequena secreção de ACTH após infusão de DDAVP. Já, em pacientes com DC, ocorre hiperexpressão desses receptores nas células adenomatosas hipofisárias, causando aumentos de 65-100% dos níveis de ACTH em culturas celulares de pacientes portadores de DC (23, 43, 46-48).

Desmopressina no Diagnóstico de Doença de Cushing

Um dos papéis descritos do DDAVP é no diagnóstico diferencial entre DC e Pseudo-Cushing. Dependendo dos pontos de corte nos valores de ACTH após estímulo podemos ter SE de 75-87% e ES de 90-91% nesses casos (23, 46-48).

Nosso grupo testou a acurácia do teste de DDAVP em 124 pacientes com suspeita de hipercortisolismo dos quais 68 foram confirmados portadores de DC através do CBSPI ou imagem de adenoma hipofisário na RNM. Dentre os diferentes parâmetros testados, o pico de ACTH após o estímulo > 71.8 pg/mL apresentou VPP de 95% para DC e valor preditivo negativo (VPN) 90% no diagnóstico de DC sendo o critério de melhor acurácia na amostra(47).

Em 2007, Machado e cols. investigaram dos resultados do CBSPI quando realizado o estímulo com DDAVP. Foram estudados 56 pacientes com SC e imagem de sela túrcica sem definição de lesão hipofisária e determinaram SE 92,1% e ES 100% para o diagnóstico de DC (49). Portanto, apesar de SE e ES do teste de desmopressina serem um pouco inferiores ao estímulo com CRH, ele pode ser utilizado nos centros onde o CRH não é disponível comercialmente (45).

DDAVP no seguimento pós-operatório de Doença de Cushing

Em 2000, Colombo e cols. propuseram que o análogo da vasopressina poderia adicionar alguma informação no risco de recidiva da DC no pós-OP. Ele descreveu 14 pacientes em remissão cirúrgica da DC que realizaram o teste de estímulo com DDAVP. Todos que permaneceram em remissão tinham o teste sem resposta no primeiro mês de pós-OP, sugerindo que o teste poderia ter um VPN de 100%(50). Era uma pequena amostra de pacientes, seguida por curto período, mas que gerou a hipótese dos testes dinâmicos no seguimento pós-OP da DC.

Essa hipótese ganhou força com a descrição de Losa e cols. Eles descreveram uma população de 107 casos de DC operados entre 1995 e 1999 em que todos foram

submetidos a testes de DDAVP. Nessa amostra, 87 apresentavam testes de DDAVP responsivos no pré-OP, dos quais 50 se tornaram não responsivos no pós-OP. Os testes eram considerados responsivos quando havia variação > 20% do cortisol e >30% do ACTH após o estímulo. Identificaram um VPP de 51,3% para recidiva de DC usando esse critério(51). Como os pacientes foram seguidos por curto período (média 17,3 meses), podem ter subestimado a quantidade de recidivas, e também o critério de positividade no teste não foi testado por curvas ROC para tentar identificar quais os melhores pontos para correlacionar com recidiva.

Valero e cols. estudaram novas maneiras de definir a acurácia do teste DDAVP como preditor de recorrência em portadores de DC submetidos a CTE. Seguiram 22 pacientes, que realizaram o teste de DDAVP no pós-OP, em média por 4,5 anos. Identificaram 17 casos em remissão, dentre os quais ocorreram 5 recidivas da DC. Levantou-se a hipótese que o pico de ACTH > 22 pg/ml em valores absolutos após o estímulo com desmopressina poderia apresentar VPP de 100% para determinar recidiva de DC(52). Entretanto, a pequena amostra estudada, curto período de seguimento dos pacientes em remissão e a ausência de teste DDAVP pré-operatório poderia limitar a interpretação destes dados.

Posteriormente, Romanholi e cols. realizaram uma descrição retrospectiva de 57 pacientes que realizaram teste DDAVP no pós-OP de CTE. Obtiveram 41 remissões cirúrgicas dentre os quais 11 pacientes apresentaram recidiva. O grupo sugere que a variação de cortisol após estímulo com desmopressina > 7,0 µg/dL apresenta sensibilidade 33% e especificidade 100% para diagnóstico de recidiva tardia de DC(53). O estudo, entretanto, não descreve claramente os critérios de diagnóstico de recidiva e não analisam os dados da coleta de ACTH no teste devido à variação nas técnicas de medida no período de realização dos exames.

A maior amostra na literatura é a descrita por Losa e cols. Eles estudaram 249 pacientes em pós-OP de CTE que apresentavam teste de DDAVP periférico responsivo na investigação diagnóstica antes da CTE. Foram avaliados 174 casos com remissão cirúrgica definida por CLU normal e TSD 1 mg < 5 µg/dL em 7 dias de pós-OP. Ocorreram 19 recidivas (10,9% dos casos em remissão estudados) definidas por critérios clínicos e alteração de CLU ou TSD 1 mg. Foram considerados responsivos os testes com elevação de 30% e 20% respectivamente do ACTH e do cortisol após o estímulo. Os autores optaram por fazer uma análise de sobrevida livre de recidiva, onde

foi mostrado que os pacientes ACTH responsivo versus não-responsivos tinham 82,6% e 94% de sobrevida livre de doença respectivamente(54). Contudo, os fatos de todos os pacientes receberem reposição glicocorticoide no transoperatório e os critérios de resposta ao teste considerarem apenas a variação percentual dos resultados comprometeram o desempenho dos VPP e VPN desta população.

Barbot e cols investigaram um grupo de 57 pacientes submetidos a CTE para tratamento de DC. Eram considerados em remissão os pacientes com necessidade de reposição glicocorticoide pós-OP, cortisol sérico menor de 2,0 µg/dL no pós-OP imediato, CLU e/ou cortisol matinal normal em 6 meses pós-OP ou importante melhora clínica. Esses pacientes realizaram teste de estímulo com DDAVP e CRH (em dias consecutivos) em até 6 meses de pós-OP. Descrevem que a variação do ACTH > 9 pg/ml após estímulo com DDAVP possui SE de 93% e ES de 82% para recidiva DC na amostra e o teste estimulado com CRH apresentou SE e ES piores em relação ao DDAVP isolado (55). Entretanto, não houve padronização de período pós-OP para realizar o exame no seguimento, assim a heterogeneidade de indivíduos pode mesclar casos com diferentes valores preditivos pré-teste e comprometer o poder discriminatório. Devemos enfatizar que o tempo de seguimento médio foi maior nos pacientes com recidiva (107 meses) em comparação com os casos em remissão (69 meses), ou seja, podem ter sido perdidos alguns casos de recidiva mais tardia.

Em 2015, Marc'hadour e cols. publicaram uma coorte com 67 pacientes submetidos a teste de estímulo com DDAVP após receberem 1 mg de dexametasona no pós-OP de DC. Esse grupo seguiu os indivíduos por 52 meses em média e periodicamente pesquisaram sinais de recidiva da DC. No total, 38 pacientes submetidos a teste DDVAP simples e 40 pacientes submetidos a teste DDAVP após 1 mg de dexametasona no pós-OP de até um mês. Definiram que o teste DDAVP simples apresenta VPP de 37% de recidiva e o teste DDAVP com dexametasona VPP de 44% e VPN de 100% (56). Esse estudo tem o viés de ter realizado os testes de DDAVP em prazos diferentes no seguimento pós-OP e não testar os pacientes no pré-OP, assim, a taxa de VPP deve ter sido subestimada, pois alguns pacientes já poderiam ser não responsivos aos testes previamente à cirurgia.

Recentemente, Vassiliadi e cols estudaram 39 pacientes com testes de DDAVP pré-CTE positivos e que atingiram remissão cirúrgica (cortisol <5 µg/dL em 2 semanas ou CLU normal / TSD 1 mg < 1,8 µg/dL em 30 dias ou sinais de insuficiência adrenal

clínica). O seguimento foi 49 meses em média e identificaram 7 casos de recorrência (2 exames alterados dentre: TSD 1mg > 1,8 µg/dL; cortisol sérico elevado a meia-noite; CLU elevada). Esse grupo testou diferentes parâmetros de resposta ao teste (variação absoluta, percentual, valor de pico) para os valores de ACTH e cortisol, concluindo que a variação do cortisol < 7,4 µg/dL possui a maior razão de chances (RC 186,0) para a recidiva de DC (57). Entretanto, o grupo de pacientes em remissão era pequeno e teve consequente pequena amostra de recidivas.

Acreditamos que o teste de estímulo com DDAVP possui um poder discriminatório nos pacientes em remissão que irão apresentar recidiva em algum momento do seguimento. A comparabilidade dos resultados das diferentes coortes publicadas é muito prejudicada pela heterogeneidade das populações e do manejo peroperatório, assim como a diversidade de critérios para definir a responsividade no teste. Alguns grupos usam corticoterapia rotineiramente no peroperatório e nem todos possuem seguimento uniforme nos pacientes em remissão.

Dessa forma, quais pacientes serão considerados em remissão cirúrgica de baixo risco de recidiva ainda é uma população a ser melhor identificada. Os esforços na busca de estratégias que sirvam para identificá-los e, assim, podermos propor um seguimento diferenciado desses casos é uma das muitas repostas ainda a serem discorridas na neuroendocrinologia.

BIBLIOGRAFIA:

1. Lacroix A, Feelders RA, Stratakis CA, Nieman LK. Cushing's syndrome. *Lancet*. 2015;386(9996):913-27.
2. Vilar L, Freitas Mda C, Faria M, Montenegro R, Casulari LA, Naves L, et al. Pitfalls in the diagnosis of Cushing's syndrome. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2007;51(8):1207-16.
3. Nieman LK, Biller BM, Findling JW, Newell-Price J, Savage MO, Stewart PM, et al. The diagnosis of Cushing's syndrome: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(5):1526-40.
4. Raff H, Carroll T. Cushing's syndrome: from physiological principles to diagnosis and clinical care. *J Physiol*. 2015;593(3):493-506.
5. Loriaux DL. Diagnosis and Differential Diagnosis of Cushing's Syndrome. *N Engl J Med*. 2017;376(15):1451-9.
6. Pivonello R, De Martino MC, De Leo M, Lombardi G, Colao A. Cushing's Syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2008;37(1):135-49, ix.
7. Lonser RR, Nieman L, Oldfield EH. Cushing's disease: pathobiology, diagnosis, and management. *J Neurosurg*. 2017;126(2):404-17.
8. Guaraldi F, Salvatori R. Cushing syndrome: maybe not so uncommon of an endocrine disease. *J Am Board Fam Med*. 2012;25(2):199-208.
9. VILAR L FM, CELHO CE, BRUNO OD. . Diagnóstico e Diagnóstico Diferencial da Síndrome de Cushing. *Endocrinologia Clínica: Guanabara Koogan*; 2013.
10. Dekkers OM, Biermasz NR, Pereira AM, Roelfsema F, van Aken MO, Voormolen JH, et al. Mortality in patients treated for Cushing's disease is increased, compared with patients treated for nonfunctioning pituitary macroadenoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(3):976-81.
11. Etxabe J, Vazquez JA. Morbidity and mortality in Cushing's disease: an epidemiological approach. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1994;40(4):479-84.
12. Prague JK, May S, Whitelaw BC. Cushing's syndrome. *BMJ*. 2013;346:f945.
13. Ntali G, Asimakopoulou A, Siamatras T, Komninos J, Vassiliadi D, Tzanela M, et al. Mortality in Cushing's syndrome: systematic analysis of a large series with prolonged follow-up. *Eur J Endocrinol*. 2013;169(5):715-23.

14. Valassi E, Crespo I, Santos A, Webb SM. Clinical consequences of Cushing's syndrome. *Pituitary*. 2012;15(3):319-29.
15. Colao A, Pivonello R, Spiezia S, Faggiano A, Ferone D, Filippella M, et al. Persistence of increased cardiovascular risk in patients with Cushing's disease after five years of successful cure. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(8):2664-72.
16. Clayton RN, Raskauskiene D, Reulen RC, Jones PW. Mortality and morbidity in Cushing's disease over 50 years in Stoke-on-Trent, UK: audit and meta-analysis of literature. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(3):632-42.
17. Bourdeau I, Bard C, Noel B, Leclerc I, Cordeau MP, Belair M, et al. Loss of brain volume in endogenous Cushing's syndrome and its reversibility after correction of hypercortisolism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(5):1949-54.
18. Nieman LK, Biller BM, Findling JW, Murad MH, Newell-Price J, Savage MO, et al. Treatment of Cushing's Syndrome: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(8):2807-31.
19. Debono M, Newell-Price JD. Cushing's Syndrome: Where and How to Find It. *Front Horm Res*. 2016;46:15-27.
20. Friedman TC, Ghods DE, Shahinian HK, Zachery L, Shayesteh N, Seasholtz S, et al. High prevalence of normal tests assessing hypercortisolism in subjects with mild and episodic Cushing's syndrome suggests that the paradigm for diagnosis and exclusion of Cushing's syndrome requires multiple testing. *Horm Metab Res*. 2010;42(12):874-81.
21. de Keyzer Y, Rene P, Beldjord C, Lenne F, Bertagna X. Overexpression of vasopressin (V3) and corticotrophin-releasing hormone receptor genes in corticotroph tumours. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1998;49(4):475-82.
22. Pecori Giraldi F, Pivonello R, Ambrogio AG, De Martino MC, De Martin M, Scacchi M, 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 (Oxf)*. 2007;66(2):251-7.
23. Tirabassi G, Faloia E, Papa R, Furlani G, Boscaro M, Arnaldi G. Use of the desmopressin test in the differential diagnosis of pseudo-Cushing state from Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(3):1115-22.
24. Moro M, Putignano 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(10):3569-74.

25. Fleseriu M, Hamrahian AH, Hoffman AR, Kelly DF, Katznelson L, Neuroendocrine A, et al. American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology Disease State Clinical Review: Diagnosis of Recurrence in Cushing Disease. *Endocr Pract.* 2016;22(12):1436-48.
26. Bakiri F, Tatai S, Aouali R, Semrouni M, Derome P, Chitour F, et al. Treatment of Cushing's disease by transsphenoidal, pituitary microsurgery: prognosis factors and long-term follow-up. *J Endocrinol Invest.* 1996;19(9):572-80.
27. Rollin GA, Ferreira NP, Junges M, Gross JL, Czepielewski MA. Dynamics of serum cortisol levels after transsphenoidal surgery in a cohort of patients with Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(3):1131-9.
28. Costenaro F, Rodrigues TC, Rollin GA, Ferreira NP, Czepielewski MA. Evaluation of Cushing's disease remission after transsphenoidal surgery based on early serum cortisol dynamics. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2014;80(3):411-8.
29. Petersenn S, Beckers A, Ferone D, van der Lely A, Bollerslev J, Boscaro M, et al. Therapy of endocrine disease: outcomes in patients with Cushing's disease undergoing transsphenoidal surgery: systematic review assessing criteria used to define remission and recurrence. *Eur J Endocrinol.* 2015;172(6):R227-39.
30. Hofmann BM, Hlavac M, Martinez R, Buchfelder M, Muller OA, Fahlbusch R. Long-term results after microsurgery for Cushing disease: experience with 426 primary operations over 35 years. *J Neurosurg.* 2008;108(1):9-18.
31. Alexandraki KI, Kaltsas GA, Isidori AM, Storr HL, Afshar F, Sabin I, et al. Long-term remission and recurrence rates in Cushing's disease: predictive factors in a single-centre study. *Eur J Endocrinol.* 2013;168(4):639-48.
32. Atkinson AB, Kennedy A, Wiggam MI, McCance DR, Sheridan B. Long-term remission rates after pituitary surgery for Cushing's disease: the need for long-term surveillance. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2005;63(5):549-59.
33. Danet-Lamasou M, Asselineau J, Perez P, Vivot A, Nunes ML, Loiseau H, et al. Accuracy of repeated measurements of late-night salivary cortisol to screen for early-stage recurrence of Cushing's disease following pituitary surgery. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2015;82(2):260-6.
34. Carroll TB, Javorsky BR, Findling JW. Postsurgical Recurrent Cushing Disease: Clinical Benefit of Early Intervention in Patients with Normal Urinary Free Cortisol. *Endocr Pract.* 2016;22(10):1216-23.

35. Elias PC, Martinez EZ, Barone BF, Mermejo LM, Castro M, Moreira AC. Late-night salivary cortisol has a better performance than urinary free cortisol in the diagnosis of Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(6):2045-51.
36. Amlashi FG, Swearingen B, Faje AT, Nachtigall LB, Miller KK, Klibanski A, et al. Accuracy of Late-Night Salivary Cortisol in Evaluating Postoperative Remission and Recurrence in Cushing's Disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(10):3770-7.
37. Lindsay JR, Oldfield EH, Stratakis CA, Nieman LK. The postoperative basal cortisol and CRH tests for prediction of long-term remission from Cushing's disease after transsphenoidal surgery. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(7):2057-64.
38. Sakai Y, Horiba N, Tozawa F, Sakai K, Kuwayama A, Demura H, et al. Desmopressin stimulation test for diagnosis of ACTH-dependent Cushing's syndrome. *Endocr J.* 1997;44(5):687-95.
39. Deipolyi AR, Alexander B, Rho J, Hirsch JA, Oklu R. Bilateral inferior petrosal sinus sampling using desmopressin or corticotropin-releasing hormone: a single-center experience. *J Neurointerv Surg.* 2015;7(9):690-3.
40. Deipolyi A, Bailin A, Hirsch JA, Walker TG, Oklu R. Bilateral inferior petrosal sinus sampling: experience in 327 patients. *J Neurointerv Surg.* 2017;9(2):196-9.
41. Terzolo M, Reimondo G, Ali A, Borretta G, Cesario F, Pia A, et al. The limited value of the desmopressin test in the diagnostic approach to Cushing's syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2001;54(5):609-16.
42. Wang FF, Tang KT, Yen YS, Ho DM, Yang AH, Huang CI, et al. Plasma corticotrophin response to desmopressin in patients with Cushing's disease correlates with the expression of vasopressin receptor 2, but not with that of vasopressin receptor 1 or 3, in their pituitary tumours. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2012;76(2):253-63.
43. Luque RM, Ibanez-Costa A, Lopez-Sanchez LM, Jimenez-Reina L, Venegas-Moreno E, Galvez MA, et al. A cellular and molecular basis for the selective desmopressin-induced ACTH release in Cushing disease patients: key role of AVPR1b receptor and potential therapeutic implications. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(10):4160-9.
44. Koshimizu TA, Nakamura K, Egashira N, Hiroyama M, Nonoguchi H, Tanoue A. Vasopressin V1a and V1b receptors: from molecules to physiological systems. *Physiol Rev.* 2012;92(4):1813-64.
45. Rotondo F, Butz H, Syro LV, Yousef GM, Di Ieva A, Restrepo LM, et al. Arginine vasopressin (AVP): a review of its historical perspectives, current research and

multifunctional role in the hypothalamo-hypophysial system. *Pituitary*. 2016;19(4):345-55.

46. Alwani RA, Schmit Jongbloed LW, de Jong FH, van der Lely AJ, de Herder WW, Feelders RA. Differentiating between Cushing's disease and pseudo-Cushing's syndrome: comparison of four tests. *Eur J Endocrinol*. 2014;170(4):477-86.

47. Rollin GA, Costenaro F, Gerchman F, Rodrigues TC, Czepielewski MA. Evaluation of the DDAVP test in the diagnosis of Cushing's Disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015;82(6):793-800.

48. Findling JW, Raff H. DIAGNOSIS OF ENDOCRINE DISEASE: Differentiation of pathologic/neoplastic hypercortisolism (Cushing's syndrome) from physiologic/non-neoplastic hypercortisolism (formerly known as pseudo-Cushing's syndrome). *Eur J Endocrinol*. 2017;176(5):R205-R16.

49. Machado MC, de Sa SV, Domenice S, Fragoso MC, Puglia P, Jr., Pereira MA, 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(1):136-42.

50. Colombo P, Dall'Asta C, Barbetta L, Re T, Passini E, Faglia G, et al. Usefulness of the desmopressin test in the postoperative evaluation of patients with Cushing's disease. *Eur J Endocrinol*. 2000;143(2):227-34.

51. Losa M, Mortini P, Dylgjeri S, Barzaghi R, Franzin A, Mandelli C, et al. Desmopressin stimulation test before and after pituitary surgery in patients with Cushing's disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2001;55(1):61-8.

52. Valero R, Vallette-Kasic S, Conte-Devolx B, Jaquet P, Brue T. The desmopressin test as a predictive factor of outcome after pituitary surgery for Cushing's disease. *Eur J Endocrinol*. 2004;151(6):727-33.

53. Romanholi DJ, Machado MC, Pereira CC, Danilovic DS, Pereira MA, Cescato VA, et al. Role for postoperative cortisol response to desmopressin in predicting the risk for recurrent Cushing's disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008;69(1):117-22.

54. Losa M, Bianchi R, Barzaghi R, Giovanelli M, Mortini P. Persistent adrenocorticotropin response to desmopressin in the early postoperative period predicts recurrence of Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(9):3322-8.

55. Barbot M, Albiger N, Koutroumpi S, Ceccato F, Frigo AC, Manara R, et al. Predicting late recurrence in surgically treated patients with Cushing's disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2013;79(3):394-401.
56. Le Marc'hadour P, Muller M, Albarel F, Coulon AL, Morange I, Martinie M, et al. Postoperative follow-up of Cushing's disease using cortisol, desmopressin and coupled dexamethasone-desmopressin tests: a head-to-head comparison. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015;83(2):216-22.
57. Vassiliadi DA, Balomenaki M, Asimakopoulou A, Botoula E, Tzanela M, Tsagarakis S. The Desmopressin Test Predicts Better Than Basal Cortisol the Long-Term Surgical Outcome of Cushing's Disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(12):4878-85.

Capítulo II**ARTIGO ORIGINAL**

“Resposta do Cortisol e do ACTH à Desmopressina após duas semanas da cirurgia transesfenoidal prediz risco de recidiva em longo prazo da Doença de Cushing”

Artigo a ser submetido para publicação.

“Resposta do Cortisol e do ACTH à Desmopressina após duas semanas da cirurgia transesfenoidal prediz risco de recidiva em longo prazo da Doença de Cushing”

Autores: Artur Boschi MD¹, Nelson Ferreira MD, PhD³, Mauro A. Czepielewski MD, PhD^{1,2}

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas – Endocrinologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brasil

² Serviço de Endocrinologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brasil

³ Serviço de Neurocirurgia, Hospital São José, Irmandade da Santa Casa de Misericórdia, Porto Alegre, Brasil

Endereço para Correspondência:

Mauro Antonio Czepielewski, PhD

Serviço de Endocrinologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Ramiro Barcelos, 2350 Prédio 14 – 4º andar

CEP 90035-003

Porto Alegre – Brasil

E-mail: maurocze@terra.com.br

Telefone: + 5551 3359-8127 Fax: + 5551 3359-8777

Palavras-chave: Doença de Cushing, recidiva tardia, pós-operatório, teste de desmopressina, DDAVP.

RESUMO:

Objetivo: determinar a acurácia da resposta do cortisol e do ACTH ao estímulo com desmopressina (DDAVP) isolado ou em combinação com dosagens de cortisol sérico no pós-operatório (pós-OP) de cirurgia transesfenoidal (CTE) para prever o risco de recidiva tardia dos pacientes com Doença de Cushing (DC).

Desenho: coorte prospectiva de sessenta e cinco pacientes que realizaram teste de DDAVP no período pós-OP e avaliação do cortisol sérico no pós-OP, foram seguidos por um período médio de 83,10 meses.

Resultados: Os valores de pico do ACTH, pico do cortisol e variação do cortisol após o estímulo com DDAVP foram significativamente maiores nos pacientes com recidiva tardia da DC ($P=0,001$). O critério diagnóstico após o estímulo com DDAVP do pico do ACTH > 47 pg/mL evidenciou sobrevida livre de recidiva em cinco anos de 54% comparada a 88% nos não responsivos ($P=0,013$). A combinação do valor do nadir do cortisol pós-OP em 48 horas $> 4,15$ $\mu\text{g/dL}$ e do pico de ACTH > 47 pg/mL após estímulo com DDAVP apresentou valor preditivo positivo (VPP)= 85% e VPN= 92% para recidiva de DC.

Conclusão: O teste de estímulo com DDAVP realizado nas primeiras duas semanas de pós-OP, avaliando a resposta do cortisol e do ACTH, pode fornecer informações relevantes quanto ao risco de recidiva da DC. Interpretar esse teste conjuntamente com os níveis de cortisol sérico no pós-OP imediato da CTE pode aumentar sua acurácia preditiva de recidiva tardia de DC.

INTRODUÇÃO:

O tratamento de escolha da Doença de Cushing (DC) é a cirurgia transesfenoidal (CTE) buscando a ressecção do adenoma produtor de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). Nas mãos de neurocirurgiões experientes o sucesso cirúrgico atinge 60-80% (1, 2), com taxa de recidiva tardia de 15-66% (3-5). Tais estatísticas são comprometidas pela heterogeneidade dos critérios utilizados para definir remissão imediata e recidiva tardia da doença entre os autores. A exposição crônica aos níveis elevados de glicocorticoides gera importantes comorbidades, prejuízo na qualidade de vida dos pacientes e aumento da mortalidade geral (6-9), logo, é essencial identificar os pacientes candidatos a um seguimento clínico mais rigoroso e às demais terapêuticas disponíveis.

O hipercortisolismo crônico da DC causa supressão dos corticotrófos hipofisários normais e, dessa forma, a cortisolemia obtida no pós—operatório (pós-OP) imediato tem se mostrado excelente marcador de remissão cirúrgica da DC (10). Entretanto, o uso da cortisolemia no pós-OP como determinador de risco de recidiva não está bem estabelecido. Pacientes com níveis indetectáveis de cortisol sérico no pós-OP podem sofrer recorrência da DC, inclusive após períodos tão prolongados quanto 10 anos de seguimento (11, 12). Assim, um método diagnóstico eficiente, que pudesse fornecer informações precoces quanto ao risco de recidiva da DC nos pacientes em remissão imediata, tem sido buscado nos últimos anos.

A desmopressina (DDAVP) é um análogo sintético do neuropeptídeo arginina-vasopressina que se liga com alta afinidade em receptores específicos chamados V1R, V2R e V3R (13, 14). Em pacientes com DC ocorre hiperexpressão dos receptores V2R nas células adenomatosas hipofisárias, causando aumentos de 65-100% dos níveis de ACTH, após estímulo com DDAVP, em culturas celulares destes

pacientes (14-18). Neste contexto, surgiram os primeiros relatos estudando a acurácia diagnóstica do teste de estímulo com DDAVP na predição do risco de recidiva tardia de DC. Estudos recentes têm mostrado acurácia variável deste método, alguns sugerindo valores preditivos positivos (VPP) e valores preditivos negativos (VPN) de até 100% para recidiva tardia de DC (19-26). Entretanto, a reprodutibilidade desses resultados não está bem definida, tendo em vista as dificuldades metodológicas encontradas pelos diferentes centros que estudam esta doença rara, cuja recorrência necessita longos períodos de seguimento para identificação. Desta maneira, até o momento, as séries estudadas constituem-se de pequenas amostras, com diferentes protocolos de teste de estímulo com DDAVP, heterogeneidade dos critérios de resposta e curtos períodos de seguimento dos pacientes.

O objetivo desse estudo é avaliar a acurácia do teste de estímulo com DDAVP isoladamente ou em combinação com as medidas de cortisolemia peroperatória (per-OP) como preditores de risco para recidiva tardia nos pacientes em remissão após CTE, em uma população de pacientes sem administração de glicocorticoides rotineiramente durante o per-OP.

MATERIAIS E MÉTODOS

Pacientes

Este estudo provém de uma coorte de pacientes portadores de DC prospectivamente seguidos no ambulatório especializado em neuroendocrinologia do serviço de endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). A partir de 1999, temos utilizado rotineiramente o teste de estímulo com DDAVP na avaliação ambulatorial da atividade da DC dos pacientes submetidos à CTE. Neste

estudo, incluímos todos os pacientes que foram submetidos ao teste de estímulo com DDAVP nas primeiras duas semanas de seguimento do pós-OP.

O protocolo de estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética local e todos os pacientes obtiveram informações sobre o protocolo e consentiram com o fornecimento dos dados para esse estudo.

Seguimento clínico peroperatório e tardio

Os pacientes com suspeita de síndrome de Cushing (SC) foram avaliados de acordo com o *Guideline da Endocrine Society* (8) e as orientações do Departamento de Neuroendocrinologia da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (27). Resumidamente, os pacientes tinham a SC confirmada por alteração bioquímica de pelo menos dois dos seguintes testes: medida de cortisol livre urinário em 24hs (CLU), cortisol sérico à meia-noite ou teste de supressão com 1 mg de dexametasona *overnight* (TSD 1mg). A DC era diagnosticada pela presença de lesão hipofisária na ressonância nuclear magnética (RNM) de sela túrcica maior de 6 mm e/ou dosagem de ACTH com gradiente central a periférico acima de duas vezes antes do estímulo ou maior de três vezes após estímulo com DDAVP no cateterismo bilateral de seios petrosos inferiores.

As CTE foram realizadas pela mesma equipe de neurocirurgia, coordenada por um dos autores (NPF), e seguiram rotina transoperatória sem a administração de glicocorticoides no per-OP, a não ser que fosse confirmada insuficiência adrenal aguda sintomática ou após confirmação de cortisol sérico per-OP menor de 5 µg/dL, além disso, nenhum paciente recebeu tratamento adrenolítico pré-OP. A rotina per-OP de avaliação dos valores de cortisol sérico dos pacientes foi descrita previamente (11). O valor mais baixo de cortisol sérico obtido dentre as medidas

realizadas a cada 6 horas das primeiras 48 horas de pós-OP foi descrito como nadir de cortisolemia.

Em até duas semanas de pós-OP, os pacientes foram submetidos à consulta clínica ambulatorial em busca de sinais de DC ativa, coleta de cortisol livre urinário 24 hs (CLU), TSD 1mg e teste de estímulo com DDAVP periférico. Todos os pacientes que apresentaram critérios para insuficiência adrenal receberam reposição com prednisona por via oral até quatro dias antes do estímulo com DDAVP e a mesma foi substituída por dexametasona 0,5 mg por via oral três dias antes do teste. No dia anterior ao teste, a dexametasona foi suspensa e iniciada a coleta de CLU que se encerrou na manhã da realização do teste. Assim, os pacientes em reposição de glicocorticoides foram submetidos ao teste de DDAVP após a suspensão da reposição 48 horas antes do exame.

Todos os pacientes, independente dos valores de DDAVP, foram avaliados continuamente pela equipe de neuroendocrinologia e realizaram exames clínicos em busca de sinais e sintomas de SC combinados com coleta de CLU e TSD 1mg trimestralmente no primeiro ano e, no mínimo, anualmente após esse período.

Definição de remissão e recidiva da Doença de Cushing (DC)

Foram considerados casos em remissão imediata da DC os pacientes que apresentaram melhora clínica dos sinais e sintomas da DC ou sinais clínicos de insuficiência adrenal com necessidade de reposição de glicocorticoides, associados com CLU (média de 2 amostras) normal e TSD 1mg < 1,8 µg/dL nos primeiros seis meses de seguimento após a CTE. Por consequência, os casos que não apresentassem estes critérios nos seis meses iniciais de seguimento foram classificados como portadores de doença ativa. Consideramos pacientes em recidiva

tardia de DC aqueles com CLU elevado e/ou TSD 1mg > 1,8 µg/dL em pelo menos duas medidas após terem apresentado evidência clínica e laboratorial de remissão por pelo menos seis meses de seguimento pós-OP. Por fim, após seis meses da CTE, os pacientes que permaneceram sem condições clínicas de suspender o uso de glicocorticoides no seguimento e/ou que apresentaram medidas de TSD 1mg < 1,8 µg/dL e CLU normais, medidos no mínimo anualmente ao longo do seguimento, foram classificados como portadores de remissão prolongada. Portanto, os pacientes foram divididos nos seguintes grupos: grupo com doença ativa e grupo com remissão imediata, sendo que o grupo remissão imediata subdividiu-se em grupo com remissão prolongada e grupo com recidiva tardia.

Técnicas Laboratoriais:

A dosagem de cortisol era realizada em nosso meio até abril/2004 por radioimunoensaio comercialmente disponível (Diagnostic Systems Laboratories, Webster, TX, USA) com coeficiente de variação intra-ensaio (CVa) e inter-ensaio (CVe) de 8,3% e 9,8% respectivamente, com limite mínimo de detecção (LMD) 0,15 µg/dL. Entre maio/2004 até março/2010, o método de cortisol foi modificado para imunoquimioluminescência (ECLIA) (modular Analytics E 170 – Roche, Mannheim, Alemanha) com CVa 1,7% e CVe 2,8% e LMD 0,15 µg/dL. Entre março/2010 até fevereiro/2014 as medidas de cortisol eram feitas pelo método de quimiluminescência (ADVIA Centaur XP imunoassay System, Tarrytown, NY, USA) com CVa 4,8% e CVe 5,5% e LMD 0,38 µg/dL. A partir de fevereiro/2014 até o final deste estudo tem sido usada o ensaio de eletroquimioluminescência (ECLIA) Elecsys Cortisol II (modular Analytics E 170 – Roche, Mannheim, Alemanha) com CVa 5,4% e CVe 10,1% com LMD 0,05 µg/dL.

Os valores de ACTH eram medidos até fevereiro/2014 pela técnica de quimiluminescência da marca IMMULITE, Siemens, CVa 9,5% e CVe 10,0% com LMD 5 pg/mL. Desde março/2014 até o final deste estudo tem sido usada a técnica de eletroquimioluminescência (ECLIA) Elecsys ACTH (modular Analytics E 170 – Roche, Mannheim, Alemanha) com CVa 2,7% e CVe 5,4% com LMD 1 pg/mL.

Teste de estímulo com DDAVP

O teste de estímulo com DDAVP foi realizado pela manhã, após jejum de 8 horas e, conforme descrito acima, sem receber nenhuma forma de glicocorticoide por no mínimo 48 horas. O teste consistia na medida seriada de cortisol e ACTH por punção venosa, através de cateter periférico de permanência, nos tempos -15, 0, 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos, após a infusão de acetato de DDAVP 10 µg endovenoso. Os frascos contendo ACTH eram mantidos em refrigeração durante o período de coleta e prontamente processados no centro de análises clínicas. Foram considerados os seguintes parâmetros de teste: cortisol basal e ACTH basal (determinados pela média dos tempos -15 e 0 para cada uma das variáveis), pico de ACTH e pico de cortisol (medida mais elevada em qualquer tempo entre -15 até 120 minutos do teste, para cada uma das variáveis), variação de ACTH e variação de cortisol (subtração dos respectivos pico de ACTH ou pico do cortisol pelo valor do ACTH ou do cortisol basal) e variação percentual de ACTH e variação percentual de cortisol $((\text{pico} - \text{basal})/\text{basal}) \times 100$ respectivamente do ACTH e do cortisol.

Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas pelos testes *t de student* e *Mann-Whitney* para comparação de variáveis contínuas e teste qui-quadrado para

variáveis categóricas. Curva *receiver operator characterisitcs* (ROC) foi utilizada para determinar os pontos de corte diagnósticos para recidiva de DC nos testes de DDAVP. O ponto de maior acurácia diagnóstica de cada parâmetro foi estimado pela Fórmula de Youden. Os valores de acurácia das curvas ROC foram submetidos ao teste de Delong no aplicativo *R statistic*. Os valores de Sensibilidade (SE), Especificidade (ES), Valor Preditivo Positivo (VPP) e Valor Preditivo Negativo (VPN) foram calculados por tabelas de contingência. Estudadas as Curvas de Kaplan-Meyer dos dados apurados no teste de DDAVP categorizadas pelos pontos de coorte de cada critério. Calculadas as Razões de Chance (RC) para recidiva de cada ponto de corte definido pelo teste e ajustados pelos valores de cortisol e ACTH pré-teste por Regressão de COX. As demais análises foram realizadas pelo aplicativo SPSS v 20.0.0

RESULTADOS:

Nesta coorte de 65 pacientes com DC, que realizaram teste de estímulo com DDAVP entre 10 a 14 dias de pós-OP, 49 pacientes estavam em remissão imediata (75%) e 16 pacientes com doença ativa (24%) nos primeiros seis meses de pós-OP. Dentre os pacientes em remissão imediata, identificamos 10 casos (20,5%) que apresentaram recidiva tardia da DC durante o seguimento e 39 casos (79,5%) que permaneceram em remissão prolongada durante todo o seguimento. Dos 65 pacientes incluídos no estudo, 59 (90%) foram submetidos ao teste de DDAVP no pré-OP e no pós-OP. Os seis pacientes restantes não realizaram o teste do DDAVP no pré-OP por diversas razões técnicas, incluindo dificuldades de acesso venoso e impossibilidade de comparecimento dos pacientes ao ambulatório no período adequado para o teste.

No momento do diagnóstico da DC a idade média da coorte era $38,64 \pm 12,41$ anos, cortisol sérico matinal de $25,93 \pm 10,16$ $\mu\text{g/dL}$ e do cortisol sérico a meia-noite de $24,54 \pm 9,63$ $\mu\text{g/dL}$, CLU (média de 3 amostras) de $364,20$ $\mu\text{g/dia}$ (p25: 199,63 e p75: 795,48 $\mu\text{g/dia}$) e cortisol após TSD 1mg de $18,06 \pm 12,19$ $\mu\text{g/dL}$. A população continha 81,5% de mulheres e 92,3% de etnia caucasiana. Nos exames de imagem pré-OP foram visualizados 40% microadenomas e 27,7% macroadenomas. Foram identificados 67% de adenomas nos exames anatomopatológicos. A média de seguimento da coorte foi $83,10 \pm 65$ meses.

Os pacientes com recidiva tardia da DC apresentaram níveis de cortisol sérico matinal pré-OP mais elevados em comparação aos que permaneceram em remissão prolongada, respectivamente $33,94 \pm 13,69$ $\mu\text{g/dL}$ vs $24,98 \pm 8,82$ $\mu\text{g/dL}$ ($P=0,006$). Menos pacientes tiveram adenomas identificados no anatomopatológico dos casos com doença ativa quando comparados aos que apresentaram remissão imediata, 38,5% vs 74,4%, respectivamente ($P=0,014$). Houve maior proporção de microadenomas no exame de imagem pré-OP dos pacientes em remissão prolongada 46,2% vs 23,1% dos pacientes com doença ativa ($P=0,006$).

O período de seguimento médio entre os grupos não foi significativamente diferente, assim como as frequências de comorbidades e as demais variáveis iniciais descritas na Tabela 1.

Teste DDAVP no pós-OP

As medianas obtidas no teste DDAVP pós-OP dos 49 pacientes em remissão imediata, subdivididos entre os casos que permaneceram em remissão prolongada ou recidiva tardia da DC estão descritas na tabela 2. O pico de ACTH nos pacientes em remissão prolongada foi 20,75 pg/ml vs 81,91 pg/ml no grupo em recidiva tardia

da DC ($P=0,010$). O pico de cortisol foi menor no grupo em remissão prolongada $8,15 \mu\text{g/dL}$ vs $26,28 \mu\text{g/dL}$ no grupo recidiva tardia ($P=0,001$). Os valores de delta do cortisol também foram menores para o grupo em remissão prolongada $1,10 \mu\text{g/dL}$ vs $10,73 \mu\text{g/dL}$ no grupo de recidiva tardia de DC ($P=0,001$). As medianas dos demais parâmetros testados (ACTH basal, cortisol basal, delta do ACTH, delta do cortisol percentual e delta do ACTH percentual) não apresentaram diferenças significativas entre os grupos.

Curva ROC para o teste DDAVP pós-OP dos pacientes em remissão imediata

A acurácia para os valores de ACTH e cortisol durante o teste de estímulo com DDAVP nos pacientes que apresentaram remissão inicial foram determinadas através de curvas ROC para cada parâmetro e estão resumidos na Tabela 2.

O melhor ponto de corte do pico de ACTH no teste DDAVP como preditor de recidiva foi 47 pg/ml . Este critério apresentou área sob a curva (AUC)= $0,806$ ($P=0,003$), SE= 80% , ES= 77% , VPP= 50% e VPN= 93% (Figura 1A). Dois pacientes recidivaram aos 31 meses e 52 meses de seguimento, respectivamente, sendo que ambos apresentaram pico ACTH menor de 47 pg/ml no teste do DDAVP. Dos oito pacientes que apresentaram recidiva tardia e pico ACTH $> 47 \text{ pg/ml}$, sete tiveram o desfecho antes de 53 meses e apenas um aos 179 meses de seguimento. A curva de Kaplan-Meier mostra diferença significativa de sobrevida média livre de recidiva em cinco anos de $54,2\%$ vs $88,4\%$, respectivamente para os pacientes com pico de ACTH maior ou menor de 47 pg/mL ($P=0,013$) (Figura 1B).

O delta de ACTH acima de $22,9 \text{ pg/ml}$ demonstrou AUC= $0,707$ ($P=0,048$), SE= 70% , ES= 76% , VPP= 46% e VPN= 89% (Figura 2). No entanto, a curva de

Kaplan-Meyer não mostrou diferença de período livre de doença para esse critério do teste do DDAVP.

A acurácia do teste DDAVP para recidiva tardia alcançada pelo pico de cortisol $> 17,05 \mu\text{g/dL}$ após o estímulo apresentou $\text{AUC} = 0,801$ ($P=0,004$), $\text{SE} = 90\%$, $\text{ES} = 58\%$, $\text{VPP} = 52\%$ e $\text{VPN} = 96\%$ (Figura 3A). Houve apenas uma recidiva de DC aos 52 meses de seguimento no grupo de pacientes com pico de cortisol $< 17,05 \mu\text{g/dL}$. Entretanto, nos pacientes com pico de cortisol $> 17,05 \mu\text{g/dL}$, identificamos oito recidivas de DC antes de 53 meses de seguimento e apenas uma recidiva ocorreu mais tardiamente, aos 179 meses. A Curva de Kaplan-Meyer mostrou sobrevida livre de doença em cinco anos de 48% vs 93% para os pacientes com pico de cortisol respectivamente acima ou abaixo de $17,05 \mu\text{g/dL}$ ($P=0,001$) (Figura 3B).

Identificamos que o delta de cortisol maior de $7,12 \mu\text{g/dL}$ para recidiva tardia da DC apresentou $\text{AUC} = 0,822$ ($P=0,002$), $\text{SE} = 90\%$, $\text{ES} = 77\%$, $\text{VPP} = 52\%$ e $\text{VPN} = 96\%$ (Figura 4A). Nos pacientes com delta de cortisol menor de $7,12 \mu\text{g/dL}$ houve apenas uma recidiva aos 31 meses de seguimento. A Curva de Kaplan-Meyer mostrou diferença na sobrevida livre de doença em cinco anos de 48% vs 93% para os pacientes com delta do cortisol respectivamente maiores ou menores que $7,12 \mu\text{g/dL}$ ($P=0,001$) (Figura 4B). A presença de pico do cortisol $> 17,05 \mu\text{g/dL}$ ou delta do cortisol $> 7,12 \mu\text{g/dL}$ determinou, quando analisados conjuntamente, $\text{SE} = 100\%$, $\text{ES} = 75\%$, $\text{VPP} = 52,6\%$ e $\text{VPN} = 100\%$, ou seja, todos os pacientes que apresentaram recidiva tardia da DC foram responsivos para algum desses dois pontos de corte analisados, sendo os melhores critérios de exclusão de risco para recidiva na amostra. (Figura 4C).

O melhor ponto de corte identificado para o delta percentual de ACTH foi 93,9% de aumento após o estímulo, entretanto este valor não classificou significativamente os pacientes com risco de recidiva tardia da DC ($P=0,19$). A comparação estatística entre as curvas ROCs de cada parâmetro do teste não demonstrou diferença significativa entre os diferentes critérios escolhidos para prever recidiva ($P= 0,15$). Os demais dados de acurácia diagnóstica e razão de chances para recidiva de DC após controle para os valores cortisol e ACTH pré-OP para cada dado do teste de DDAVP estão apresentados nas Tabelas 2 e 3.

Cortisol sérico pós-OP para avaliação de recidiva tardia

As médias dos valores de cortisol sérico medidos a cada 6 horas nas primeiras 48 horas de pós-OP apresentaram diferença significativa entre os pacientes em recidiva tardia e em remissão prolongada, respectivamente 10,97 $\mu\text{g/dL}$ vs 2,21 $\mu\text{g/dL}$ ($P=0,039$). Essa diferença também foi significativa quando avaliadas as médias dos valores mínimos obtidos de cortisol pós-OP (nadir) medidos até o décimo dia de pós-OP 5,38 $\mu\text{g/dL}$ no grupo em recidiva tardia vs 1,84 $\mu\text{g/dL}$ no grupo remissão prolongada ($P=0,044$).

O melhor ponto de corte para recidiva da DC determinado na Curva ROC para o nadir de cortisol em 48 horas de pós-OP foi 4,15 $\mu\text{g/dL}$. Esse valor determinou SE= 80%, ES= 87%, VPP= 61% e VPN= 94% e AUC= 0,887 ($P=0,001$). A curva de Kaplan-Meier mostrou significativa diferença no período livre de recidiva de DC nos pacientes classificados por esse critério ($P=0,001$). Os pacientes que possuíam os dois critérios conjuntamente: de cortisol nadir em 48 horas de pós-OP maior 4,15 $\mu\text{g/dL}$ e pico ACTH > 47 pg/mL possuem SE= 66%, ES= 97%, VPP= 85% e VPN= 92% para recidiva tardia da DC. Desta maneira esta combinação de critérios

ofereceu o melhor VPP para recidiva tardia nessa casuística. Os demais parâmetros do teste de DDAVP não apresentaram mudança significativa de sua acurácia com a adição de dados do cortisol sérico do pós-OP.

O valor nadir de cortisol $> 1,70 \mu\text{g/dL}$ apresentou SE=100%, ES= 53,8%, VPP 35% e VPN 100% para recidiva de DC. Todos os pacientes com remissão imediata que apresentaram nadir de cortisol sérico em 48 horas pós-OP abaixo de $1,70 \mu\text{g/dL}$ não apresentaram recidiva da DC em nossa casuística. Analisando combinadamente os valores dos parâmetros do teste de DDAVP com os avaliados pelos valores de cortisol per-OP, se identificou que os pacientes com nadir de cortisol em 48hs PO acima de $1,70 \mu\text{g/dL}$ e pico de ACTH $> 47 \text{ pg/mL}$ apresentam AUC= 0,743 (P=0,048), SE= 77%, ES= 68%, VPP= 58% e VPN= 84% para recidiva da DC.

As demais curvas ROC no subgrupo de pacientes com nadir do cortisol sérico em 48 hs pós-OP $> 1,67 \mu\text{g/dL}$ deixaram de ser significativas quando controladas para os demais critérios de resposta ao DDAVP avaliados (dados não descritos). O nadir do cortisol em 10 dias pós-operatório apresentou curva ROC com resultado significativo para recidiva tardia, AUC 0,781 (P=0,007), não apresentando acurácia adicional em relação ao teste de DDAVP combinado ao nadir de cortisol em 48 hs de pós-OP.

Teste DDAVP no pré-OP:

Dentre os pacientes avaliados em remissão imediata da DC, 45/49 (91,8%) foram submetidos ao teste de DDAVP antes e após a CTE. Se considerarmos o critério clássico de resposta ao teste de DDAVP (elevação de ACTH $> 50\%$ ou elevação de cortisol $> 20\%$) (28), seriam considerados responsivos 40/45 (88,8%) no pré-OP e 31/45 (68,8%) no pós-OP. Ainda com base nestes critérios, dos cinco

pacientes com teste não-responsivos no pré-OP, dois (40%) se tornariam responsivos no pós-OP, todos do grupo com recidiva tardia, os demais três pacientes que continuariam não-responsivos pertencentes ao grupo em remissão prolongada ($P=0,10$). Por outro lado, 11/40 (27,5%) dos pacientes responsivos no pré-OP se tornariam não responsivos no pós-OP e todos permaneceram em remissão prolongada ($P=0,08$).

Usando o critério de resposta ao teste DDAVP descrito por Marc'hadour e cols. (elevação de ACTH > 30% e elevação do cortisol > 20%) (25), 32/45 (71,0%) dos pacientes seriam responsivos no pré-OP. Ao avaliarmos os 13 pacientes não-responsivos no pré-OP, identificamos que 7/13 (53%) permaneceriam não-responsivos no pós-OP e 6/13 (46%) mudariam o comportamento de não-responsivos para responsivos, sendo que destes seis, três estavam em recidiva tardia e três em remissão prolongada, não tendo sido identificada diferença estatística para predição de recidiva com o uso destes critérios ($P= 0,07$).

Da mesma maneira, se considerarmos o melhor critério de resposta do DDAVP descrito por Rollin e cols. (pico de ACTH > 71,8 pg/ml ou pico de cortisol > 27,8 $\mu\text{g/dL}$) (17), identificamos que 44/45 (96,5%) seriam responsivos no pré-OP. Desses casos responsivos, 29/44 (65%) tornar-se-iam não responsivos no pós-OP, 25 pacientes em remissão prolongada e 4 pacientes com recidiva no seguimento. A mudança no padrão de resposta ao teste também não foi capaz de predizer os pacientes com risco de recidiva no seguimento ($P=0,25$).

DISCUSSÃO:

O desafio diagnóstico que se impõe no seguimento dos pacientes em remissão pós-OP de DC é determinar quais os casos em maior risco de recidiva

tardia, que necessitariam de intervenções médicas mais precoces, ou os pacientes de baixo risco de recidiva, que assim poderiam ter seguimento clínico com menos intervenções médicas e serem tranquilizados, uma vez que os próprios pacientes sentem ansiedade quanto ao seu prognóstico no médio e longo prazo.

Acreditamos que a curva de sobrevida livre de doença seja a melhor maneira de determinar a relevância do resultado do teste de DDAVP como preditor de recidiva em longo prazo da DC. Em nossa casuística, os pacientes com pico de ACTH > 47 pg/mL apresentaram taxa de 5 anos livre de doença menor (54,2% vs 88,4%) e os casos com delta cortisol > 7,05 µg/dL apresentaram taxa de 5 anos livre de doença também menor (48% vs 93%) que os pacientes com valores abaixo destes pontos de corte no teste de DDAVP.

Nessa casuística o teste de DDAVP contribuiu com boa acurácia para determinar os pacientes com menor risco de recidiva. Quando avaliamos de maneira pareada os valores de cortisol no teste após o DDAVP, a combinação do pico cortisol > 17,05 µg/dL ou delta de cortisol > 7,12 µg/dL apresentou SE= 100% e VPN= 100% para o desfecho de recidiva tardia, ou seja, os pacientes que recidivaram da DC apresentaram ao menos um desses dois critérios elevados. Acreditamos que esta seja a melhor estratégia para excluir recidiva tardia.

Nenhum dos parâmetros em estudo apresentaram VPP ideais para o diagnóstico de recidiva tardia, apesar disso, a combinação de critérios do teste de DDAVP e do nadir do cortisol sérico pós-OP possibilitaram a melhor acurácia nesse sentido. Nesta coorte, a combinação do valor do nadir de cortisol sérico 48hs pós-OP > 4,15 µg/dL e pico de ACTH > 47 pg/mL após o estímulo com DDAVP mostrou VPP= 85% para o diagnóstico de recidiva em longo prazo. A associação desses dois critérios determinou o maior VPP para recidiva, sugerindo que esta seja a melhor

maneira de predizer recidivas tardias nesta amostra e possivelmente uma maneira de identificar os pacientes que necessitem um seguimento clínico mais constante.

Conforme previamente descrito por outros autores, quanto menor for o valor nadir de cortisol sérico obtido pelo paciente nas primeiras 48 horas de seguimento pós-OP, menor o risco de recidiva da DC no acompanhamento em longo prazo (12, 29). Entretanto, até o momento, nenhum valor de corte havia sido capaz de predizer quais pacientes iriam apresentar recorrência (5).

Em outras séries, pacientes com cortisol indetectável no pós-OP apresentaram recidiva em longo prazo (30, 31). Em nosso estudo, pacientes com nadir do cortisol sérico 48 horas pós-OP menor de 1,70 µg/dL apresentaram VPN= 100% para recidiva tardia, apesar do baixo VPP= 35%. Acreditamos que nossos resultados tenham sido possíveis em decorrência aos nossos critérios rigorosos de remissão e recidiva, à ausência de uso de glicocorticoide de rotina no per-OP, além do número significativo de pacientes com seguimento mais longo nesta casuística. Entretanto, a reprodução destes achados por outras séries poderá responder esta questão de maneira definitiva.

Pacientes com teste de DDAVP pré-OP não responsivos podem tornar-se responsivos no seguimento pós-OP precoce e estas taxas são diferentes, na dependência do critério de resposta utilizado. Em nossa casuística, 62,5% dos pacientes não responsivos se tornaram responsivos pelo critério clássico descrito por Tsagaraskis e cols. (28), 44% se tornaram responsivos pelo critério descrito por Marc'hadour e cols. (25) e 100% se tornaram responsivos pelo critério descrito por Rollin e cols (17). Possíveis justificativas para essa mudança de resposta poderiam ser a manipulação cirúrgica do tumor, causando maior exposição dos receptores V2R de vasopressina presentes nas células adenomatosas hipofisárias residuais

microscópicas ou mesmo pela expressão de outro foco adenomatoso hipofisário. A semelhança do que ocorre para outros receptores hipofisários, é possível também que, com a resolução do hipercortisolismo associado, a remissão da DC no pós-OP modifique a expressão dos receptores V2R.

A análise desta casuística evidenciou que os critérios usados na definição diagnóstica de DC pelo teste de DDAVP não possuem boa acurácia para a determinação de risco de recidiva no longo prazo. Dessa forma, sugerimos o uso de diferentes valores para a categorização de positividade ao teste do DDAVP para avaliação de risco de recorrência.

Existe grande heterogeneidade dos pontos de corte escolhidos para critério de positividade ao teste do DDAVP nas diferentes séries publicadas (21, 22, 24-26). Os valores de corte definidos nas curvas ROC obtidas em nossa população foram próximos aos determinados por outros autores que utilizaram o teste do DDAVP na avaliação de recidiva da DC. Vassiliadi e cols. determinaram que o ponto de corte para a variação de cortisol $> 7,4 \mu\text{g/dL}$ após estímulo com DDAVP diagnosticaria recidiva tardia da DC com SE= 97% e tempo médio livre de doença de 60 meses (26).

Marc'hadour e cols. realizaram teste de DDAVP em até três meses de pós-OP e demonstraram valores de SE =62%, ES= 84%, VPP= 50% e VPN= 90% para a recidiva tardia de DC (25). Esse mesmo grupo avaliou o teste de DDAVP com supressão por dexametasona e usando um critério diferente para categorização de resposta (variação $> 50\%$ para cortisol e ACTH) encontraram SE= 62% e ES= 84% para o diagnóstico de recidiva tardia. Acreditamos que o VPP do teste de DDAVP por eles encontrado tenha sido menor por haver variabilidade no período de tempo pós-OP para realização do teste de estímulo, sendo que alguns foram aplicados em

até 6 meses de pós-OP, tornando possível que alguma recidiva muito inicial já tivesse se desenvolvido em algum paciente. Os mesmos autores mostraram que o teste de DDAVP precedido pela supressão por dexametasona apresentou bom desempenho para recorrência, tendo VPN= 100% nessa situação, entretanto, foram realizados testes repetidamente ao longo do seguimento do mesmo paciente, dificultando a reprodutibilidade desta técnica na rotina clínica.

Romanholi e cols. selecionaram pacientes em pós-OP de CTE com teste de DDAVP pós-OP e nadir de cortisol per-OP < 6 µg/dL, os quais foram seguidos por 20-161 meses. Eles encontraram que o valor do delta de cortisol > 7,0 µg/dL (valor pico – valor basal) após o DDAVP apresentou ES= 100%, entretanto com SE= 33% para determinar recidiva de DC. Este estudo descreve boa ES diagnóstica, contudo 6/11 (54%) das recidivas em sua amostra não seriam identificadas dessa forma (22). Em nossa amostra, este ponto de corte foi muito semelhante ao identificado na curva ROC para esta variável (delta cortisol 7,12 µg/dL), entretanto apresentamos SE e ES respectivamente 90% e 77,8%. Essa diferença poderia ser decorrente de heterogeneidade da categorização dos desfechos remissão e recidiva da DC entre as coortes descritas e da exclusão de pacientes com cortisol pós-OP mais baixos.

Losa e cols. estudaram 174 pacientes e encontram diferença significativa de taxa de cinco anos livre de doença nos pacientes responsivos para ACTH (90,4%) vs os não responsivos (83,5%) ($P < 0,001$) (23). Nestes pacientes não houve boa acurácia em termos de SE e ES provavelmente decorrente do critério arbitrário usado para diagnosticar o teste responsivo.

Nossa coorte apresenta a possível limitação de não termos disponível a avaliação de cortisol salivar sistematizada no pós-OP imediato dos pacientes, uma vez que o método não era padronizado em nosso meio no período das CTE.

Entretanto, acreditamos que a variabilidade intra-individual de resultados do cortisol salivar como marcador de recorrência(32) seja uma importante limitação na interpretação do exame para este fim.

As análises dos critérios de resposta do teste de DDAVP como preditor de recidiva no subgrupo de pacientes com nadir de cortisol em 48 hs $> 1,67 \mu\text{g/dL}$ não apresentou significância estatística, talvez pelo pequeno número de pacientes estudados nesse subgrupo ($n=28$) recaindo em erro beta estatístico. Por outro lado, este estudo apresenta o maior período de seguimento médio descrito até o momento em relação ao teste do DDAVP como preditor de recidiva e é o primeiro que demonstra o ganho de VPP ao combinarmos os valores de nadir do cortisol sérico 48 hs pós-OP com critérios de resposta do teste de DDAVP.

Previamente, Marc'hadour e cols não evidenciaram acréscimo de VPP para recidiva com a combinação do teste de estímulo com desmopressina em relação aos valores de cortisolemia pós-OP(25). Diferentemente deste grupo, nosso trabalho encontrou VPP= 85% para recidiva tardia encontrado nos pacientes com nadir do cortisol em 48 hs $> 4,15 \mu\text{g/dL}$ e pico do ACTH após estímulo com DDAVP $> 47 \text{ pg/mL}$. Esta combinação de resultados pode identificar grande parte dos pacientes com maior risco de recidiva tardia.

Além disso, o uso do teste de estímulo com DDAVP no pós-OP pode auxiliar na determinação do risco de recidiva para DC, independentemente dos valores do teste pré-OP dos pacientes. Desta maneira, o pico de ACTH no teste de DDAVP pós-OP em combinação com o valor de nadir do cortisol sérico em 48 hs de pós-OP nos parece a avaliação ideal para a previsão dos pacientes em maior risco de recidiva da DC.

Estas contribuições para uma definição precoce da expectativa de evolução em longo prazo acrescentam uma ferramenta clínica importante e de grande relevância na orientação dos clínicos e dos pacientes com DC em pós-OP imediato e ao longo do seu seguimento.

BIBLIOGRAFIA:

1. Petersenn S, Beckers A, Ferone D, van der Lely A, Bollerslev J, Boscaro M, et al. Therapy of endocrine disease: outcomes in patients with Cushing's disease undergoing transsphenoidal surgery: systematic review assessing criteria used to define remission and recurrence. *Eur J Endocrinol*. 2015;172(6):R227-39.
2. Yamada S, Inoshita N, Fukuhara N, Yamaguchi-Okada M, Nishioka H, Takeshita A, et al. Therapeutic outcomes in patients undergoing surgery after diagnosis of Cushing's disease: A single-center study. *Endocr J*. 2015;62(12):1115-25.
3. Nieman LK, Biller BM, Findling JW, Murad MH, Newell-Price J, Savage MO, et al. Treatment of Cushing's Syndrome: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(8):2807-31.
4. Hofmann BM, Hlavac M, Martinez R, Buchfelder M, Muller OA, Fahlbusch R. Long-term results after microsurgery for Cushing disease: experience with 426 primary operations over 35 years. *J Neurosurg*. 2008;108(1):9-18.
5. Fleseriu M, Hamrahian AH, Hoffman AR, Kelly DF, Katznelson L, Neuroendocrine A, et al. American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology Disease State Clinical Review: Diagnosis of Recurrence in Cushing Disease. *Endocr Pract*. 2016;22(12):1436-48.
6. Etxabe J, Vazquez JA. Morbidity and mortality in Cushing's disease: an epidemiological approach. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1994;40(4):479-84.
7. Dekkers OM, Biermasz NR, Pereira AM, Roelfsema F, van Aken MO, Voormolen JH, et al. Mortality in patients treated for Cushing's disease is increased, compared with patients treated for nonfunctioning pituitary macroadenoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(3):976-81.
8. Nieman LK, Biller BM, Findling JW, Newell-Price J, Savage MO, Stewart PM, et al. The diagnosis of Cushing's syndrome: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(5):1526-40.
9. Prague JK, May S, Whitelaw BC. Cushing's syndrome. *BMJ*. 2013;346:f945.
10. Sundaram NK, Carluccio A, Geer EB. Characterization of persistent and recurrent Cushing's disease. *Pituitary*. 2014;17(4):381-91.
11. Costenaro F, Rodrigues TC, Rollin GA, Ferreira NP, Czepielewski MA. Evaluation of Cushing's disease remission after transsphenoidal surgery based on early serum cortisol dynamics. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2014;80(3):411-8.

12. Ramm-Pettersen J, Halvorsen H, Evang JA, Ronning P, Hol PK, Bollerslev J, et al. Low immediate postoperative serum-cortisol nadir predicts the short-term, but not long-term, remission after pituitary surgery for Cushing's disease. *BMC Endocr Disord.* 2015;15:62.
13. Wang FF, Tang KT, Yen YS, Ho DM, Yang AH, Huang CI, et al. Plasma corticotrophin response to desmopressin in patients with Cushing's disease correlates with the expression of vasopressin receptor 2, but not with that of vasopressin receptor 1 or 3, in their pituitary tumours. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2012;76(2):253-63.
14. Luque RM, Ibanez-Costa A, Lopez-Sanchez LM, Jimenez-Reina L, Venegas-Moreno E, Galvez MA, et al. A cellular and molecular basis for the selective desmopressin-induced ACTH release in Cushing disease patients: key role of AVPR1b receptor and potential therapeutic implications. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(10):4160-9.
15. Tirabassi G, Faloiu E, Papa R, Furlani G, Boscaro M, Arnaldi G. Use of the desmopressin test in the differential diagnosis of pseudo-Cushing state from Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(3):1115-22.
16. Alwani RA, Schmit Jongbloed LW, de Jong FH, van der Lely AJ, de Herder WW, Feelders RA. Differentiating between Cushing's disease and pseudo-Cushing's syndrome: comparison of four tests. *Eur J Endocrinol.* 2014;170(4):477-86.
17. Rollin GA, Costenaro F, Gerchman F, Rodrigues TC, Czepielewski MA. Evaluation of the DDAVP test in the diagnosis of Cushing's Disease. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2015;82(6):793-800.
18. Findling JW, Raff H. DIAGNOSIS OF ENDOCRINE DISEASE: Differentiation of pathologic/neoplastic hypercortisolism (Cushing's syndrome) from physiologic/non-neoplastic hypercortisolism (formerly known as pseudo-Cushing's syndrome). *Eur J Endocrinol.* 2017;176(5):R205-R16.
19. Colombo P, Dall'Asta C, Barbetta L, Re T, Passini E, Faglia G, et al. Usefulness of the desmopressin test in the postoperative evaluation of patients with Cushing's disease. *Eur J Endocrinol.* 2000;143(2):227-34.
20. Losa M, Mortini P, Dylgjeri S, Barzaghi R, Franzin A, Mandelli C, et al. Desmopressin stimulation test before and after pituitary surgery in patients with Cushing's disease. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2001;55(1):61-8.

21. Valero R, Vallette-Kasic S, Conte-Devolx B, Jaquet P, Brue T. The desmopressin test as a predictive factor of outcome after pituitary surgery for Cushing's disease. *Eur J Endocrinol*. 2004;151(6):727-33.
22. Romanholi DJ, Machado MC, Pereira CC, Danilovic DS, Pereira MA, Cescato VA, et al. Role for postoperative cortisol response to desmopressin in predicting the risk for recurrent Cushing's disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008;69(1):117-22.
23. Losa M, Bianchi R, Barzaghi R, Giovanelli M, Mortini P. Persistent adrenocorticotropin response to desmopressin in the early postoperative period predicts recurrence of Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(9):3322-8.
24. Barbot M, Albiger N, Koutroumpi S, Ceccato F, Frigo AC, Manara R, et al. Predicting late recurrence in surgically treated patients with Cushing's disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2013;79(3):394-401.
25. Le Marc'hadour P, Muller M, Albarel F, Coulon AL, Morange I, Martinie M, et al. Postoperative follow-up of Cushing's disease using cortisol, desmopressin and coupled dexamethasone-desmopressin tests: a head-to-head comparison. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015;83(2):216-22.
26. Vassiliadi DA, Balomenaki M, Asimakopoulou A, Botoula E, Tzanela M, Tsagarakis S. The Desmopressin Test Predicts Better Than Basal Cortisol the Long-Term Surgical Outcome of Cushing's Disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(12):4878-85.
27. Machado MC, Fragoso MC, Moreira AC, Boguszewski CL, Vieira LN, Naves LA, et al. Recommendations of the Neuroendocrinology Department of the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism for the diagnosis of Cushing's disease in Brazil. *Arch Endocrinol Metab*. 2016;60(3):267-86.
28. Tsagarakis S, Vasiliou V, Kokkoris P, Stavropoulos G, Thalassinou N. Assessment of cortisol and ACTH responses to the desmopressin test in patients with Cushing's syndrome and simple obesity. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1999;51(4):473-7.
29. Patil CG, Prevedello DM, Lad SP, Vance ML, Thorner MO, Katznelson L, et al. Late recurrences of Cushing's disease after initial successful transsphenoidal surgery. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(2):358-62.
30. Lindsay JR, Oldfield EH, Stratakis CA, Nieman LK. The postoperative basal cortisol and CRH tests for prediction of long-term remission from Cushing's disease after transsphenoidal surgery. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(7):2057-64.

31. Ayala A, Manzano AJ. Detection of recurrent Cushing's disease: proposal for standardized patient monitoring following transsphenoidal surgery. *J Neurooncol.* 2014;119(2):235-42.
32. Amlashi FG, Swearingen B, Faje AT, Nachtigall LB, Miller KK, Klibanski A, et al. Accuracy of Late-Night Salivary Cortisol in Evaluating Postoperative Remission and Recurrence in Cushing's Disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(10):3770-7.

Tabela 1 – Características dos pacientes antes da cirurgia transesfenoidal (CTE)

Características	Remissão (n=39)	Recidiva (n=10)	Falha Cirúrgica (n=16)
Mulheres (%)	30 (76,9)	9 (90)	11 (84,6)
Branco (%)	35 (89,7)	9 (90)	13 (100)
Negro/Pardo (%)	4 (7,9)	1 (10)	0
Idade (anos)	40,4 (+-14,2)	36,6 (8,66)	36,6 (9,5)
Comorbidades:			
Hipertensão Arterial (%)	23 (59,0)	9 (90)	12 (92,3)
Intolerância a Glicose (%)	8 (20,5)	2 (20)	4 (30,8)
Diabete Melito (%)	10 (25,6)	6 (60)	7 (53,8)
Dislipidemia (%)	14 (35,9)	6 (60)	9 (69,2)
Coagulopatia (%)	3 (7,7)	10(100)	12 (100)
Cardiopatia (%)	7 (17,9)	1 (10)	3 (23,1)
Doença Psiquiátrica (%)	6 (15,4)	5 (50)	6 (46,2)
Osteoporose (%)	8 (20,5)	3 (30)	4 (30,8)
Imagem Pré-operatória:			
Microadenoma (%)	18 (46,2)#	4 (40)	3 (23,1)#
Macroadenoma (%)	8 (20,5)	5 (50)	3 (23,1)
Imagem Normal (%)	12 (30,8)	1 (10)	4 (30,8)
Adenoma no AP (%)	29 (74,4)#	7 (70)	5 (38,5)#

Cortisol 8hs pré-op (µg/dL)	24,98 (8,82)	33,94 (13,69)#	22,49 (8,19)
Cortisol a meia noite (µg/dL)	23,58 (9,65)	27,11 (9,09)	24,94 (9,90)
Cortisolúria 24 hs *	398,33 (211,5- 866,0)	290,98 (129,3- 917,2)	367,66 (333,2- 776,9)
Cortisol DST(µg/dL)	17,31 (10,42)	21,44 (20,68)	16,90 (11,48)
ACTH basal (pg/ml)	64,00 (44,35)	59,84 (23,07)	61,02 (36,49)
SDHEA *	227,00 (144,7- 359,0)	191,20 (88,8- 347,5)	114,00 (89,2- 468,0)
Seguimento (meses)	78,05 (56,79)	98,70 (79,08)	104,38 (70,9)
Dependentes	17 (43,6)	0#	5 (38,5)
Corticosteroides PO (%)			
Radioterapia (%)	0	6 (60)#	7 (53,8)#
Adrenalectomia (%)	0	0	3 (23,1)#
Drogas adrenolíticas (%)	0	7 (70)#	7 (53,8)#

Imagem pré-operatória, AP = anatomopatológico, Valores expressos em média (desvio-padrão); DST: teste 1mg de dexametasona; ACTH: hormônio adrenocorticotrófico, SDHEA: sulfato de dehidroepiandrosterona; PO: pós-operatório; * valores expressos em mediana (p25-p75); # variáveis com diferença estatística (P<0,05),

Tabela 2 -Padrão de resposta do teste de estímulo com desmopressina(DDAVP) nos pacientes que permaneceram em remissão ou recidivaram a Doença de Cushing.

Variáveis	Remissão	Recidiva Tardia	P
	Prolongada (n=39)	(n=10)	
ACTH basal (pg/ml)	11,05 (7,38-23,45)	24,30 (21,55-43,25)	NS
Pico ACTH (pg/ml)	20,75 (10,00-48,50)	81,91 (44,12-115,00)	0,010
Delta ACTH (pg/ml)	5,37 (0,00-23,27)	35,52 (6,53-86,27)	NS
Delta porcentual ACTH (%)	42,72 (0,00-179,14)	95,70 (28,60-418,97)	NS
Cortisol basal (µg/dL)	4,50 (1,10-11,56)	13,50 (6,39-15,59)	NS
Pico Cortisol (µg/dL)	8,15 (1,47-18,16)	26,28 (21,65-28,40)	0,001
Delta Cortisol (µg/dL)	1,10 (-0,02-7,38)	10,73 (9,08-16,93)	0,001
Delta porcentual Cortisol (%)	32,13 (-0,69-87,29)	77,40 (60,80-204,44)	NS

Valores expressos em mediana (p25-p75); NS = não significativo (p>0,05)

Tabela 3 - Acurácia dos parâmetros diagnóstico obtidos pela curva ROC nos pacientes em remissão pós-operatória (n=49) para predizer recidiva de DC.

Critérios	AUC	Odds não ajustado	Odds Ajustado
ACTH basal	0,818		5,53
(> 22,1 pg/ml)	(0,689-0,946)	11,11	(0,99-30796)
	p: 0,002	(1,97-62,46) p0,007	p 0,051
Pico ACTH		13,50	36,37
(> 47 pg/ml)	0,806 (0,669-0,943)	(2,37-76,82)	(2,15-613,38)
	p: 0,003	p 0,002	p 0,013
Delta ACTH		7,58	19,87
(> 22,9 pg/ml)	0,707 (0,504-0,910)	(1,58-36,36)	(1,74-226,45)
	p: 0,048	p 0,019	p 0,016
Delta ACTH		3,13	10,92
Percentual	0,635 (0,433-0,838)	(0,73-13,43)	(1,19-100,00)
(>93,9%)	p: 0,19	p 0,15	p 0,034
Cortisol Basal		12,60	7,61
(> 5,13 µg/dL)	0,778 (0,677-0,926)	(1,43-110,31)	(0,85-68,13)
	p: 0,008	p 0,011	p 0,069
Pico Cortisol		31,50	17490388,6
(> 17,05 µg/dL)	0,801 (0,556-0,809)	(3,45-287,24)	(30,9-988,7)
	p: 0,004	p 0,001	p 0,014
Delta Cortisol		31,50 (3,45-287,24) p	91,52 (1,67-5000,83)
(> 7,12 µg/dL)	0,822 (0,704-0,941)	0,001	p 0,027
	p: 0,002		
Delta Cortisol		12,600	85,61
Percentual	0,72 (0,57-0,87)		(1,47-4974,85)
(> 47,5%)	p: 0,033	(1,43-110,31) p0,011	p 0,032

Odds: razão de chance. Odds ajustado: razão de chance ajustada para cortisol matinal, ACTH e Cortisolúria média no pré-operatório.

Tabela 4 – Acurácia dos diferentes critérios do teste DDAVP no pós-operatório para predição de recidiva da DC.

Critérios	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
ACTH basal	80	73,53	47,06	92,59
(> 22,1 pg/ml)	(44,39-97,48)	(55,64-87,12)	(31,91-62,77)	(78,07-97,77)
Pico ACTH	80	77,14	50,00	93,10
(> 47 pg/ml)	(44,39-97,48)	(59,86-89,58)	(33,56-66,44)	(79,41-97,93)
Delta ACTH	70	76,5	46,67	89,66
(> 22,9 pg/ml)	(34,75-93,33)	(58,83-89,25)	(29,68-64,47)	(76,76-95,79)
Delta ACTH percentual	60	67,6	35,29	85,19
(>93,9%)	(26,24-87,84)	(49,47-82,61)	(21,29-52,39)	(72,22-92,71)
Cortisol Basal	90	58,3	37,50	95,45
(> 5,13 µg/dL)	(55,50-99,75)	(40,76-74,49)	(27,91-48,19)	(76,22-99,28)
Pico Cortisol	90	77,8	52,94	96,55
(> 17,05 µg/dL)	(55,50-99,75)	(60,85-89,88)	(37,11-68,20)	(81,22-99,45)
Delta Cortisol	90	77,8	52,94	96,55
(> 7,12 µg/dL)	(55,50-99,75)	(60,85-89,88)	(37,11-68,20)	(81,22-99,45)
Delta Cortisol Percentual	90	58,3	37,50	95,45
(> 47,5%)	(55,50-99,75)	(40,76-74,49)	(27,91-48,19)	(76,22-99,28)

Valores expressos em média, mediana ou percentual (%) e intervalo de confiança 95%.

Figura 1A – Curva ROC dos valores de Pico ACTH no teste DDAVP pós-operatório

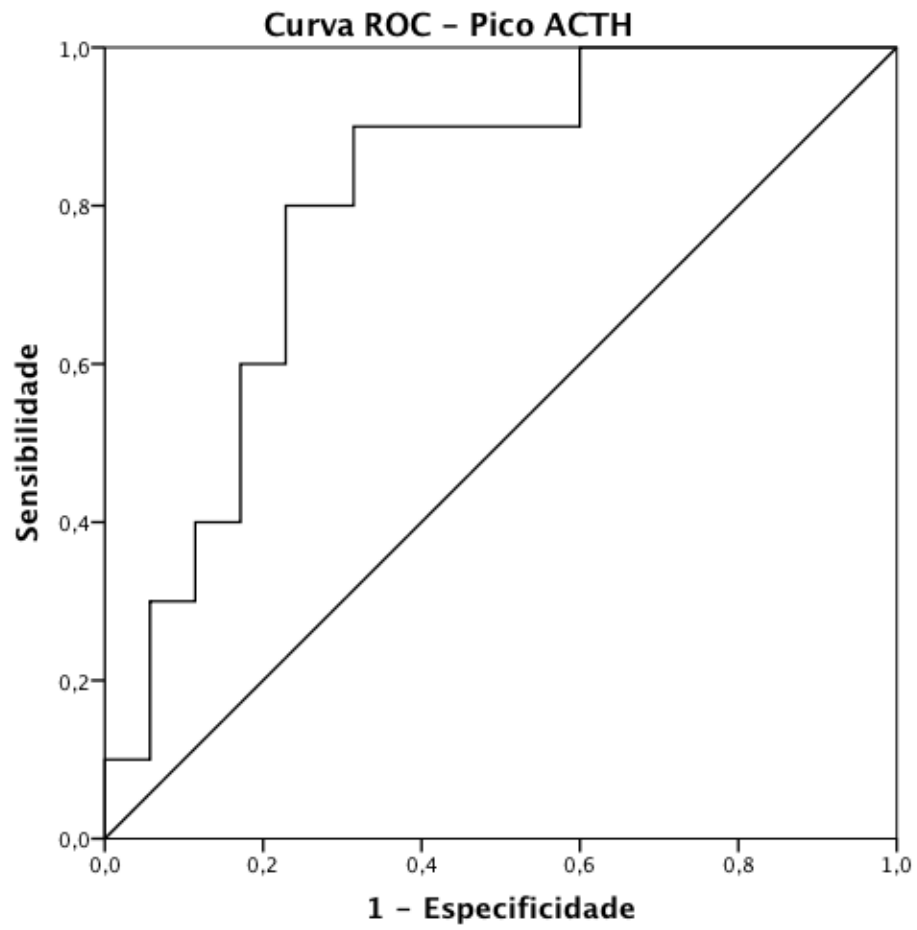


Figura 1B – Curva de Kaplan-Meier dos pacientes divididos pelo critério de Pico ACTH > 47 pg/ml no teste DDAVP pós-operatório

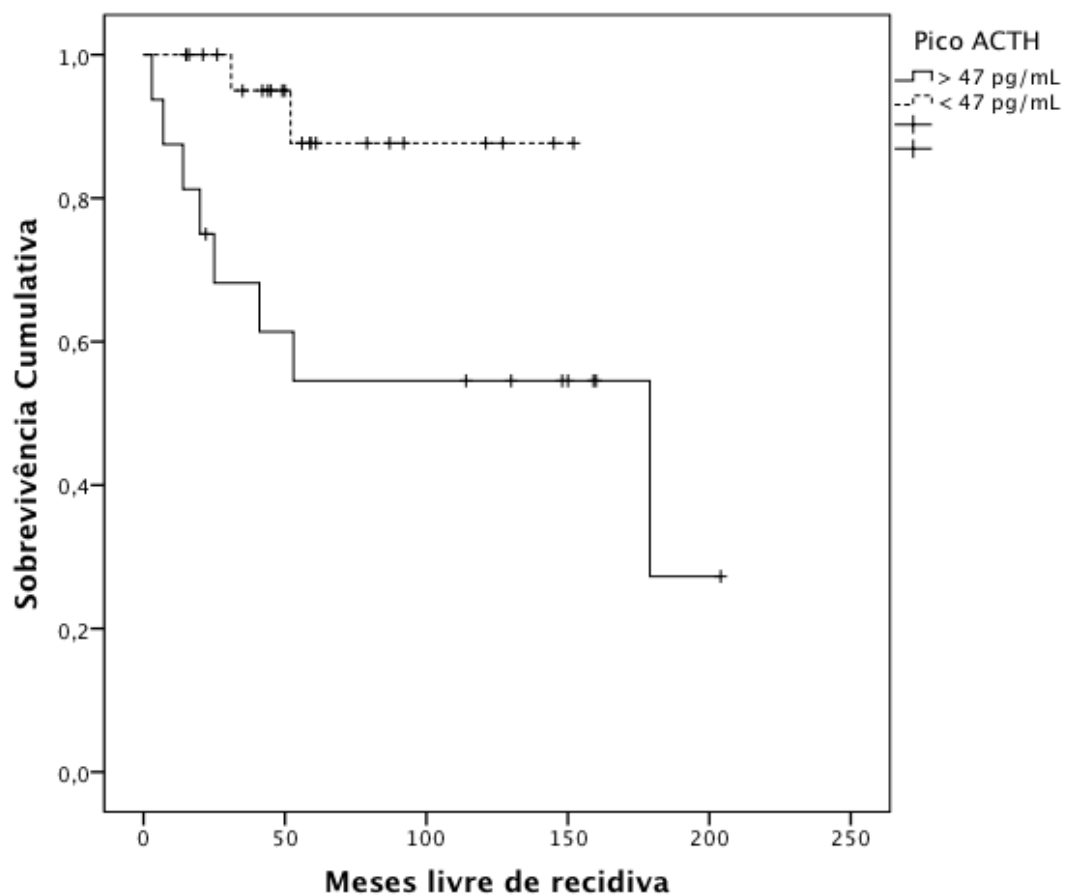


Figura 2 - Curva ROC dos valores de Delta ACTH no teste DDAVP pós-operatório

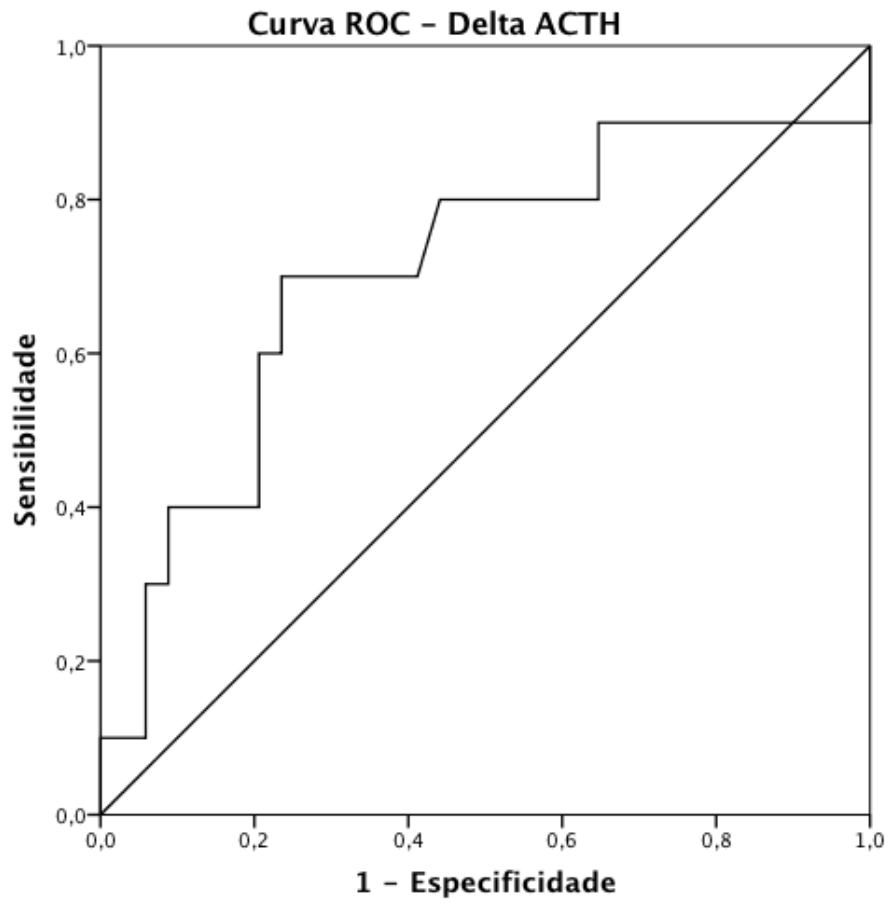


Figura 3A – Curva ROC dos valores de Pico Cortisol no teste DDAVP pós-operatório

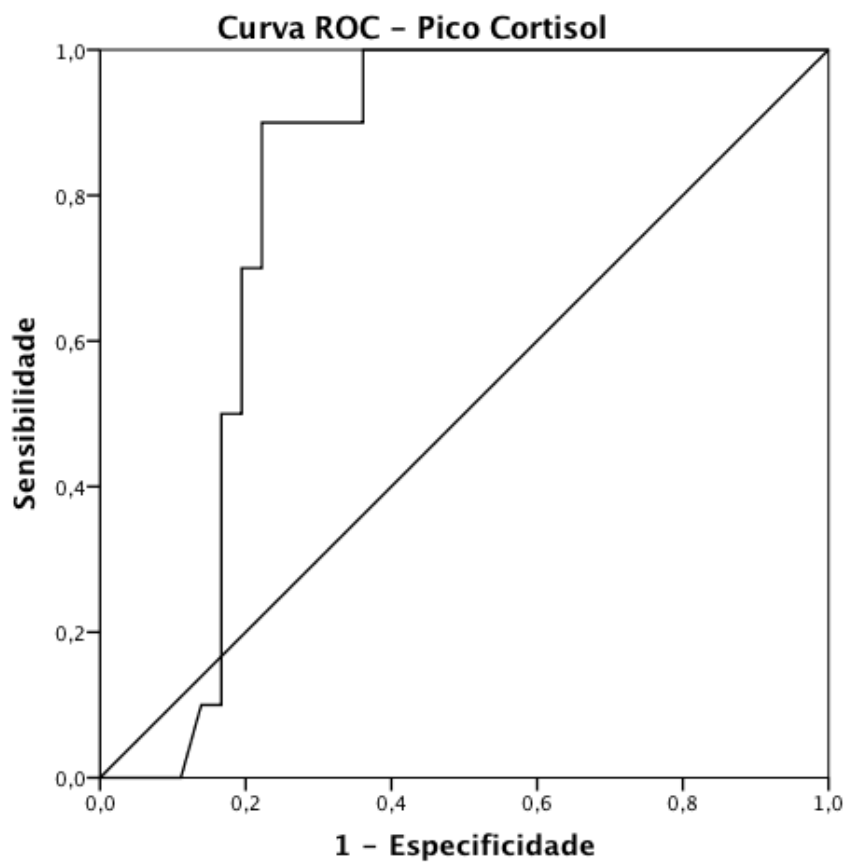


Figura 3B – Curva de Kaplan-Meyer dos pacientes divididos pelo valor de corte para Pico Cortisol > 17,05 µg/dL no teste DDAVP pós-operatório

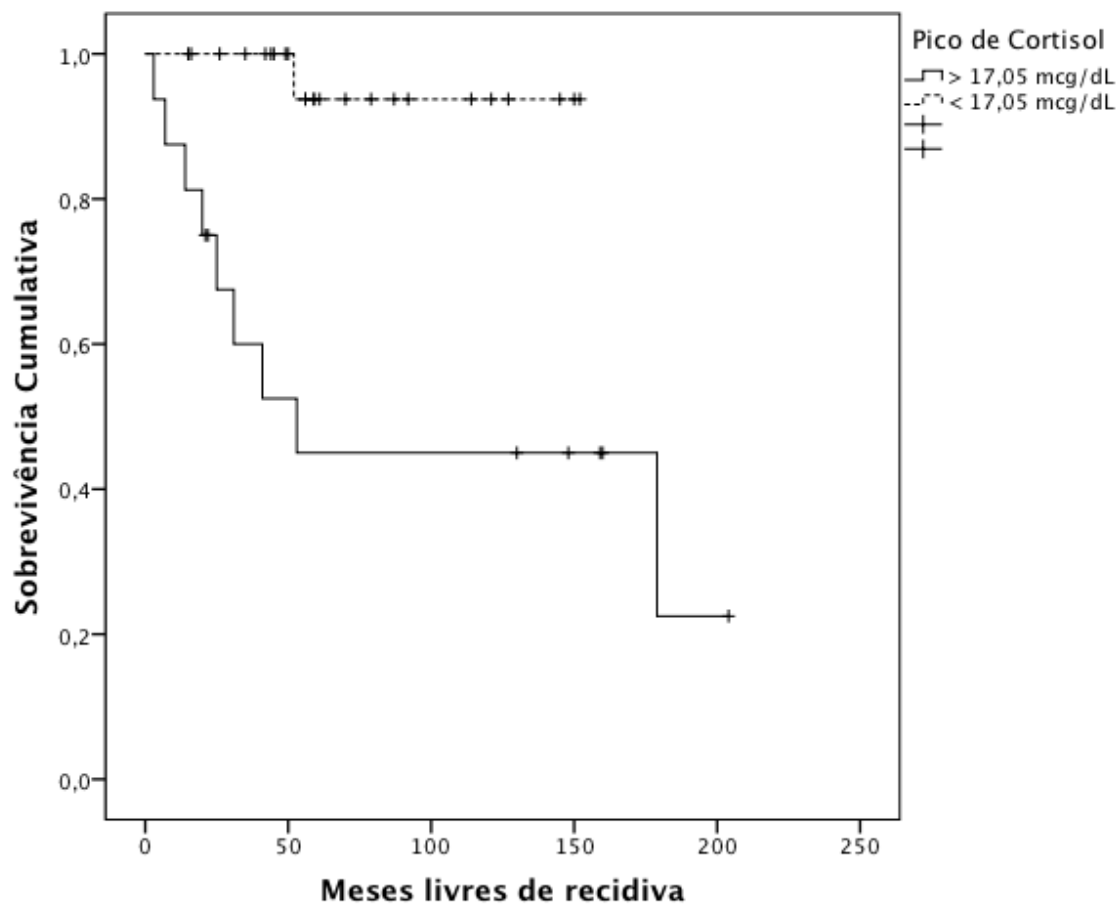


Figura 4A – Curva ROC dos valores de Delta Cortisol no teste DDAVP pós-operatório

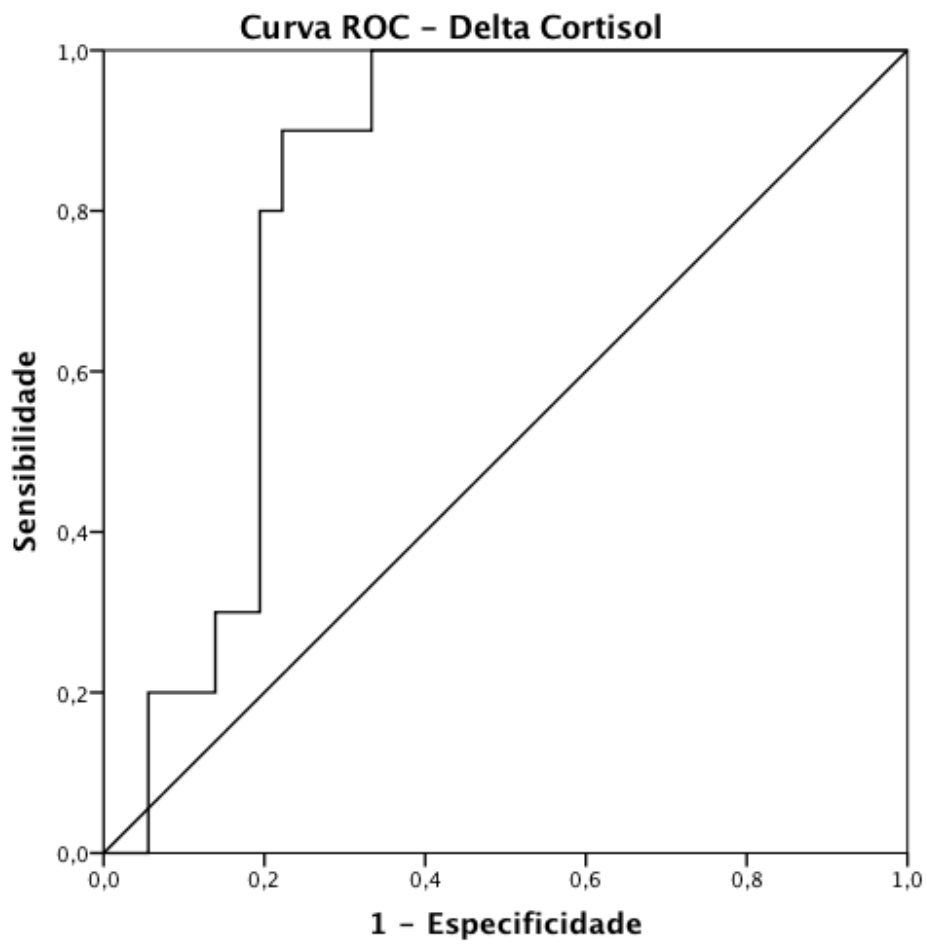


Figura 4B – Curva de Kaplan-Meyer dos pacientes divididos pelo critério de Variação de Cortisol > 7,12 µg/dL no teste DDAVP pós-operatório

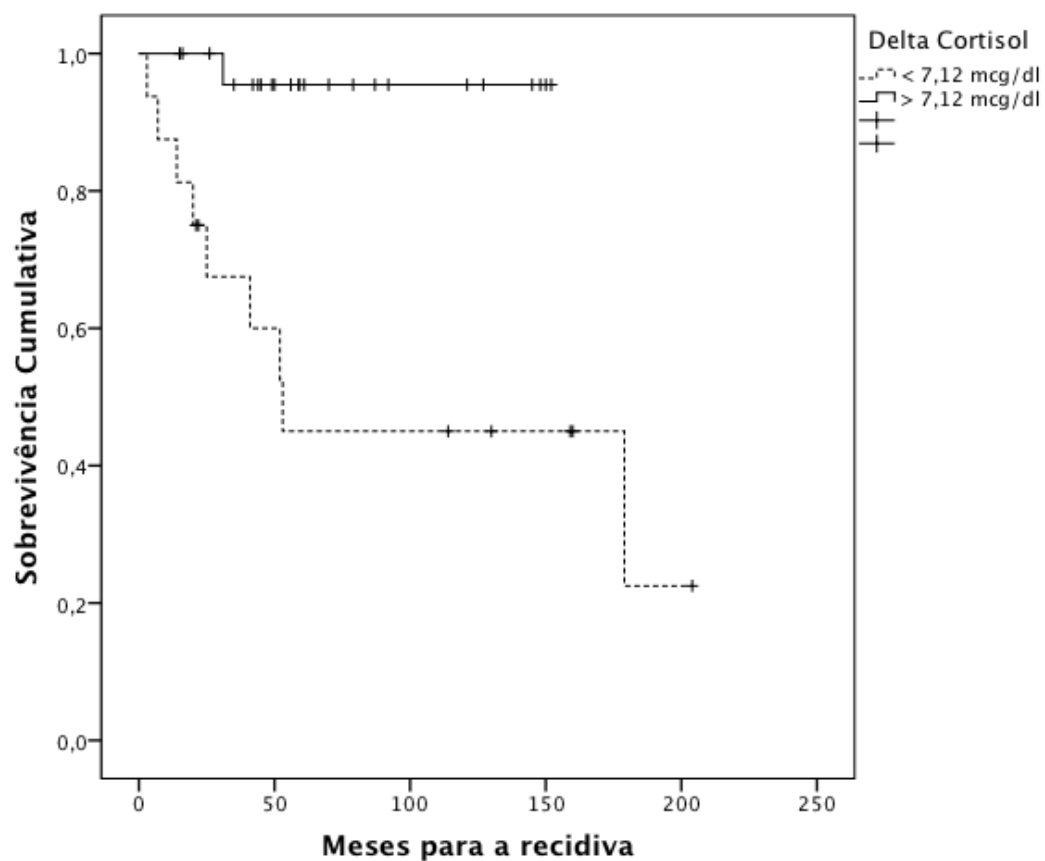
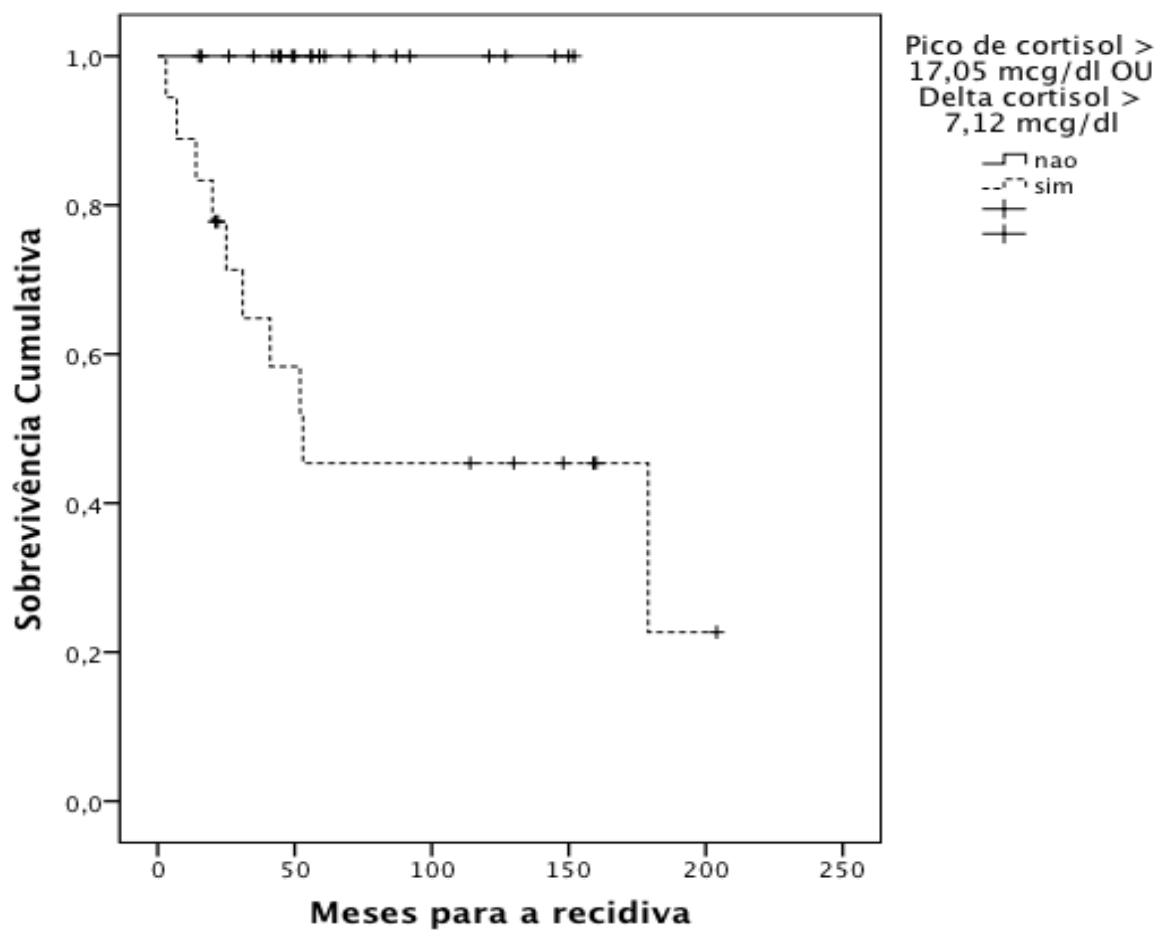


Figura 4C - Curva de Kaplan-Meier dos pacientes divididos pelos 2 critérios de Pico Cortisol > 17,05 µg/dL e Variação de Cortisol > 7,12 µg/dL no teste DDAVP pós-operatório



CONCLUSÃO DA DISSERTAÇÃO:

O Teste de DDAVP realizado no acompanhamento pós-OP dos portadores de DC em remissão cirúrgica imediata apresenta boa acurácia na avaliação de recidiva tardia da doença. A curva de sobrevida livre de doença dos pacientes com pico de ACTH > 47 pg/mL apresentaram taxas menores de recidiva em 5 anos (54,2% vs 88,4%) nesses casos. Os critérios de pico cortisol > 7,05 µg/dL e a variação dos níveis de cortisol > 7,12 µg/dL após estímulo possuem SE= 90% e VPN= 96% para o desfecho recidiva tardia de DC. Apesar dos baixos VPP descritos na literatura médica para o diagnóstico de recidiva tardia, a combinação dos valores nadir per-OP de cortisol > 4,15 µg/dL associado a valor de pico ACTH > 47 pg/ml apresentaram os maiores VPP em nossa casuística.

Dessa forma o teste de estímulo com DDAVP apresenta boa acurácia na definição dos pacientes com maiores chances de permanecer em remissão prolongada da DC, quando utilizado em até 2 semanas de pós-op. Assim como, quando avalia-se o teste de DDAVP conjuntamente aos valores de cortisol medidos no per-OP podemos alcançar valores maiores de VPP para a recidiva de DC nessa população.

ANEXOS:**Outros trabalhos acadêmicos desenvolvidos durante o período do mestrado:****- Artigo publicado em periódico internacional:**

1. Long-Term Remission of Acromegaly after Octreotide Withdrawal Is an Uncommon and Frequently Unsustainable Event. Casagrande A, Bronstein MD, Jallad RS, Moraes AB, Elias PC, Castro M Neuroendocrinology. 2017;104(3):273-9.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Pretendo prosseguir na carreira acadêmica dentro da linha de pesquisa em Neuroendocrinologia. Pretendo fazer o doutorado e assim que possível me vincular a alguma instituição de ensino na área da saúde.