

Faculdade de Medicina
Mestrado em Endocrinologia

Tobias Skrebsky de Almeida

**Avaliação do papel da desmopressina no gradiente central/periferia do ACTH
no cateterismo de seios petrosos inferiores para o diagnóstico da Doença de
Cushing**

Porto Alegre
2022

Tobias Skrebsky de Almeida

Avaliação do papel da desmopressina no gradiente central/periferia do ACTH no cateterismo de seios petrosos inferiores para o diagnóstico da Doença de Cushing

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Endocrinologia pelo Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
Orientador: Prof. Dr. Mauro Antônio Czepielewski

Porto Alegre
2022

FICHA CATALOGRÁFICA

CIP - Catalogação na Publicação

de Almeida, Tobias Skrebsky

Avaliação do papel da desmopressina no gradiente central/periferia do ACTH no cateterismo de seios petrosos inferiores para o diagnóstico da Doença de Cushing / Tobias Skrebsky de Almeida. -- 2022.

49 f.

Orientador: Mauro Antônio 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, 2022.

1. Síndrome de Cushing. 2. Doença de Cushing. 3. Síndrome do ACTH Ectópico. 4. Cateterismo Bilateral dos Seios Petrosos Inferiores. 5. DDAVP. I. Czepielewski, Mauro Antônio, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

FOLHA DE APROVAÇÃO

Tobias Skrebsky de Almeida

Avaliação do papel da desmopressina no gradiente central/periferia do ACTH no cateterismo de seios petrosos inferiores para o diagnóstico da Doença de Cushing

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Endocrinologia pelo Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
Orientador: Prof. Dr. Mauro Antônio Czepielewski

Aprovado em:Porto Alegre, 14 de fevereiro de 2022.

BANCA EXAMINADORA:

Nome e titulação do orientador
Instituição do orientador

Nome e titulação do membro da banca
Instituição do membro da banca

Nome e titulação do membro da banca
Instituição do membro da banca

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, pelo incentivo incansável em
toda minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Mauro Antônio Czepielewski, por ter me dado incontáveis oportunidades de aprimoramento científico e profissional. Sua dedicação incondicional aos pacientes que atende, sua disponibilidade irrestrita, sua sensibilidade e senso de humanismo são únicos e inspiraram gerações de endocrinologistas, entre os quais me incluo.

Aos meus pais, por sempre me proporcionarem todas as condições necessárias para a realização dos meus sonhos em todas as fases da minha vida.

Aos professores da época de faculdade de Medicina da UCS: Prof. Luiz Fernando Kehl, Prof. Vinícius Victorazzi Lain e Prof. Lessandra Michelim, e à preceptora da residência de Medicina Interna no Hospital São Lucas da PUCRS Profa. Maria Helena Rigatto, que se tornaram amigos e que foram grandes conselheiros na condução da minha carreira profissional.

À minha namorada Luiziane Sbaraini pelo apoio fundamental nas fases finais da redação desta dissertação.

À Dra. Fabíola Costenaro, que teve paciência para sanar minhas dúvidas a respeito do ingresso na pós-graduação e que foi fundamental na minha decisão da escolha do orientador.

À Profa. Dra. Ticiania da Costa Rodrigues, pelo auxílio determinante na escolha do tema desta dissertação e pelo constante incentivo à conclusão do trabalho.

Aos pós-graduandos egressos do Programa de Pós-Graduação em Endocrinologia que me antecederam no estudo da Síndrome de Cushing, pelo zeloso cuidado com os dados.

RESUMO

No manejo de pacientes com síndrome de Cushing (SC), o diagnóstico diferencial entre Doença de Cushing (DC) e síndrome da secreção ectópica de ACTH (EAS) é complexo e desafiador. O cateterismo bilateral de seios petrosos inferiores (CBSPI) com dosagens de ACTH é considerado padrão-ouro no diagnóstico diferencial da etiologia. O CBSPI é feito preferencialmente com estímulo de CRH, indisponível em muitos países, incluindo o Brasil. O estímulo do ACTH com desmopressina, ainda que menos estudado, é uma alternativa nesta situação. Os objetivos deste estudo são avaliar a acurácia do gradiente central/periferia das dosagens de ACTH (SPI:P) no CBSPI antes e após estímulo de desmopressina para este diagnóstico diferencial em uma coorte de pacientes de um centro de referência no Brasil, aplicando diferentes pontos de corte e definindo critérios específicos da instituição. Cinquenta pacientes (48 com DC e 2 com EAS) com diagnóstico confirmado foram submetidos ao CBSPI com coletas de ACTH basal e estimulado com desmopressina, sendo 44% microadenomas, 38% imagem negativa e 18% macroadenomas. Aplicando o ponto de corte tradicional do SPI:P, a sensibilidade foi 85.1% no basal e 89.6% após estímulo, e a sensibilidade combinada foi 91.7%. Utilizando como critério o SPI:P >1.4 no basal e >2.8 após estímulo, a sensibilidade foi 87.2 e 89.6%, respectivamente, e a sensibilidade combinada foi 91.7%. Realizando uma curva ROC encontramos como melhores valores os pontos de corte de 1.2 no basal e 1.57 após estímulo. Com esses valores, a sensibilidade foi 93.6% e 93.8%, respectivamente, e a sensibilidade combinada foi 97.9%. A especificidade se manteve 100% em todas as análises. Entre os 43 pacientes que positivaram após o estímulo, 42 (97.7%) o fizeram até o terceiro minuto e 43 (100%) após o quinto minuto. Dos 50 pacientes avaliados, 43 realizaram o teste da desmopressina periférico previamente ao CBSPI, que não foi capaz de prever a resposta ao estímulo do ACTH no CBSPI ($p > 0.9999$). Além disso, nenhuma das variáveis clínicas avaliadas foram capazes de prever a resposta do ACTH ao estímulo no CBSPI de forma estatisticamente significativa. Dificuldades técnicas ou variações anatômicas foram encontradas em 6 pacientes submetidos ao CBSPI. Nenhum paciente apresentou complicações tromboembólicas. Em conclusão, o emprego de estímulo do ACTH com desmopressina para avaliar o SPI:P no CBSPI aumenta a sensibilidade de 85.1% para 89.6%. Este aumento, embora pequeno, torna-se útil no cenário da investigação da SC ACTH-dependente. Considerando adicionalmente o baixo risco de complicações e a possibilidade demonstrada neste estudo de que podemos interromper o teste com 5 minutos de duração, nossos dados recomendam a utilização do estímulo com desmopressina no CBSPI para o diagnóstico diferencial da SC ACTH-dependente.

Palavras-chave: Síndrome de Cushing, Doença de Cushing, Síndrome do ACTH Ectópico, Cateterismo Bilateral de Seios Petrosos Inferiores, ACTH, Desmopressina, DDAVP.

ABSTRACT

In the management of Cushing's syndrome (CS), the differential diagnosis between Cushing's Disease (CD) and ectopic ACTH syndrome (EAS) is complex and challenging. Bilateral inferior petrosal sinus sampling (BIPSS) with ACTH sampling is considered the gold-standard in the differential diagnosis of the etiology. BIPSS is preferably performed with CRH stimulation, unavailable in many countries including Brazil. ACTH stimulation with desmopressin, although less studied, is an alternative in this setting. The objectives of this study are to assess the accuracy of inferior petrosal sinus to peripheral ACTH gradient (IPS:P) in BIPSS before and after desmopressin stimulation for this differential diagnosis in a cohort of patients of a referral center in Brazil, applying different cutoffs and to define institution-specific criteria. Fifty patients (48 with CD and 2 with EAS) with confirmed diagnosis underwent BIPSS with basal and desmopressin-stimulated samplings, being 44% microadenomas, 38% negative imaging and 18% macroadenomas. Applying the traditional IPS:P cutoff, sensitivity was 85.1% before and 89.6% after stimulation, and the combined sensitivity was 91.7%. Using the cutoff of IPS:P >1.4 before and >2.8 after stimulation, the sensitivity was 87.2 and 89.6%, respectively, and the combined sensitivity was 91.7%. Performing a ROC curve, we found that the optimal cutoffs were 1.2 before and 1.57 after stimulation. With these values, sensitivity was 93.6% and 93.8%, respectively, and the combined sensitivity was 97.9%. Specificity remained 100% during all analyses. Among the 43 patients who turned positive after stimulation, 42 (97.7%) did so until the third minute and 43 (100%) until the fifth minute. Of the 50 assessed patients, 43 underwent peripheral desmopressin test before BIPSS, which was unable to predict the ACTH response to stimulation in BIPSS ($p>0.9999$). Furthermore, none of the clinical variables assessed were able to predict the ACTH response to stimulation in BIPSS with statistical significance. Technical difficulties or anatomical variations were found in 6 patients who underwent BIPSS. No patient had thromboembolic complications. In conclusion, the use of ACTH stimulation with desmopressin to assess IPS:P in BIPSS increases sensitivity from 85.1% to 89.6%. This increase, although small, becomes useful in the setting of ACTH-dependent CS investigation. Additionally, considering the low risk of complications and the possibility shown in this study that we can interrupt the test within 5 minutes, our data recommend the use of desmopressin stimulation during BIPSS for the differential diagnosis of ACTH-dependent CS.

Keywords: Cushing's syndrome, Cushing's Disease, Ectopic ACTH Syndrome, Bilateral inferior petrosal sinus sampling, ACTH, desmopressin, DDAVP.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Tempo (minutos) até a obtenção de valores de gradiente SPI:P de ACTH considerada resposta positiva do CBSPI após estímulo com desmopressina	38
Figura 2 - Curva ROC dos valores de SPI:P basal no CBSPI na investigação de SC ACTH-dependente	39
Figura 3 - Curva ROC dos valores de SPI:P após estímulo com desmopressina no CBSPI na investigação de SC ACTH-dependente	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH – Hormônio adrenocorticotrófico
CBSPI – Cateterismo bilateral dos seios petrosos inferiores
CLU – Cortisol livre urinário
CRH – Hormônio liberador da corticotrofina
DC – Doença de Cushing
DP – Desvio padrão
EAS – Síndrome do ACTH ectópico
F – French
HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre
IIQ – Intervalo interquartil
LSN – Limite superior da normalidade
RM – Ressonância magnética
ROC – Receiver operating characteristic
SC – Síndrome de Cushing
SPI:P – Gradiente de ACTH do seio petroso inferior:periferia
TC – Tomografia computadorizada
t-CRH – Teste do CRH periférico
t-DES – Teste da desmopressina periférico
TSD-8 mg – Teste de supressão com 8 mg de dexametasona

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
REFERÊNCIAS	17
2 OBJETIVOS	21
2.1 OBJETIVO GERAL	21
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
3 ARTIGO ORIGINAL	22
3.1 RESUMO.....	22
3.2 INTRODUÇÃO	23
3.3 PACIENTES E MÉTODOS.....	25
3.3.1 Coorte de pacientes	25
3.3.2 Diagnóstico de SC e da ACTH-dependência	25
3.3.3 Cateterismo de seios petrosos inferiores	26
3.3.4 Métodos de dosagem hormonal	27
3.3.5 Análise estatística	28
3.4 RESULTADOS	29
3.5 DISCUSSÃO	40
REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

A síndrome de Cushing (SC) é o resultado da exposição crônica a níveis elevados de cortisol, que pode ser de causa endógena ou exógena. É uma doença rara, mais comum em mulheres em uma razão de 4:1(1) com incidência estimada de 0.7-3.2 casos por milhão por ano, variando de acordo com a etiologia(2, 3). As causas de SC endógena são classificadas tradicionalmente entre hormônio adrenocorticotrófico(ACTH)-dependentes (cerca de 80-85% dos casos) e ACTH-independentes (15-20% dos casos)(4). Entre as etiologias de SC ACTH-dependentes, a causa mais comum (75-80%) é a Doença de Cushing (DC), caracterizada por um adenoma hipofisário corticotrópico. Os casos remanescentes (15-20%) são oriundos da produção ectópica de ACTH – síndrome do ACTH ectópico (EAS) - por tumores de diversas histologias, sendo mais comuns o carcinoma de pequenas células de pulmão e os carcinoides pulmonares, além de raríssimos casos (<1%) de produção ectópica do hormônio liberador da corticotrofina (CRH)(4, 5).

Suas complicações são multissistêmicas e incluem distúrbios neuropsiquiátricos, eventos aterotrombóticos, alterações músculoesqueléticas, aumento da susceptibilidade a infecções, entre outras(6). É uma doença cuja mortalidade é elevada e que pode persistir maior que a população em geral mesmo após a remissão do hipercortisolismo(7, 8). Entre os fatores associados ao risco aumentado de mortalidade em pacientes com SC, está a duração da exposição aos níveis elevados de corticoides(9). O diagnóstico da SC é um processo desafiador e complexo, dado o padrão variável dos achados hormonais, a não-especificidade da apresentação clínica, particularmente em estados de hipercortisolismo leve(10), e às limitações técnicas dos testes diagnósticos. O tempo de início de sintomas até o diagnóstico é longo, em média 34 meses, e essa latência diagnóstica não diferiu entre estudos publicados antes ou depois do ano 2000(11). Diminuir a latência diagnóstica, e conseqüentemente o tempo de exposição ao hipercortisolismo, potencialmente pode reduzir as complicações relacionadas à doença, e, portanto, é fundamental otimizar o processo diagnóstico.

A SC apresenta variáveis manifestações clínicas que incluem ganho de peso, distribuição centrípeta da gordura corporal, fadiga, anormalidades menstruais, perda de libido, distúrbios psiquiátricos, hipertensão arterial, diabetes mellitus, osteoporose, nefrolitíase, hipocalcemia e infecções fúngicas incomuns. Essa

apresentação clínica é inespecífica e pode estar presente em patologias bastante frequentes, como obesidade, síndrome dos ovários policísticos, diabetes mellitus grave, síndrome metabólica, depressão e alcoolismo crônico. O rastreamento laboratorial para SC em adultos, portanto, deve ser realizado em indivíduos com características clínicas incomuns para a idade (osteoporose, hipertensão, por exemplo), pacientes com achados múltiplos e progressivos, em especial aqueles mais preditivos de SC, tais quais pletora facial, fraqueza proximal, estrias violáceas >1 cm e equimose espontânea, ou em indivíduos com incidentalomas adrenais com características de adenoma(12, 13).

Nos casos de suspeita clínica de SC, após exclusão da possibilidade de exposição exógena a qualquer formulação de glicocorticoide, é necessária a confirmação do hipercortisolismo. Para tal, são recomendados pelo menos dois tipos de testes diagnósticos distintos. Confirmada a SC, deve-se em seguida diferenciar os casos entre ACTH-dependentes e independentes(12). Para essa diferenciação, recomenda-se a dosagem de ACTH plasmático em pelo menos 2 amostras. Níveis de ACTH <10 pg/ml sugerem uma causa adrenal; níveis >20 pg/ml sugerem causas ACTH-dependentes, e níveis entre 10-20 são considerados indeterminados, necessitando testes adicionais para estabelecer a ACTH-dependência(4, 12). Nos casos em que se confirma a ACTH-dependência, o próximo passo diagnóstico é a diferenciação entre DC e EAS.

Na diferenciação diagnóstica entre DC e EAS, são recomendados inicialmente testes não-invasivos, como o teste do CRH (t-CRH), o teste de supressão com 8 mg de dexametasona (TSD-8 mg), e a ressonância magnética (RM) de sela túrcica(4, 12). O t-CRH, apesar de ser o teste não-invasivo mais eficaz para identificar a etiologia da SC ACTH-dependente, apresenta resultados heterogêneos a depender do tipo de CRH (ovino ou humano), do ensaio de ACTH e dos pontos de corte empregados para sua interpretação(4), além de poder ser responsivo em alguns casos de EAS(14, 15). Ademais, a disponibilidade do CRH é restrita em vários países, incluindo o Brasil, e seu custo é elevado. Uma alternativa para o CRH é a utilização da desmopressina, que estimula a liberação de ACTH na maioria dos pacientes portadores de adenomas secretores de ACTH. Este estímulo ocorre em decorrência de ligação da desmopressina em receptores V2 e V3 hiperexpressos nos adenomas corticotróficos(16). Com relação a esta resposta, na literatura vem sendo estabelecidos critérios de interpretação do teste, tanto

utilizando o delta percentual quanto o delta absoluto de elevação do ACTH. O emprego deste estímulo para o diagnóstico diferencial da DC com EAS é controversa uma vez que tem se demonstrado pacientes com EAS que respondem com elevação do ACTH ao estímulo(17-20). Esta resposta nos EAS ocorreria em decorrência da existência de receptores V2 ou similares nos tumores com secreção ectópica de ACTH(16, 20). Assim, o teste da desmopressina (t-DES), apesar de útil na diferenciação entre SC e estados de pseudo-Cushing(21), é inferior ao t-CRH para distinguir entre DC e EAS(22). O TSD-8 mg é amplamente disponível, entretanto também apresenta limitações devido à variabilidade dos critérios empregados, além de não oferecer capacidade discriminatória suficiente em alguns estudos(23, 24). Por fim, a RM de sela túrcica falha em diagnosticar adenomas hipofisários em pacientes com DC em 30-50% dos casos(25), podendo também gerar resultados falso-positivos uma vez que incidentalomas hipofisários são comuns na população, inclusive macroadenomas(26). Assim, alguns autores e *guidelines* recomendam a realização do cateterismo bilateral dos seios petrosos inferiores (CBSPI) em todos os pacientes com lesões hipofisárias menores que 0.6 cm demonstrados pela RM(4, 12, 13). Outros autores sugerem que o CBSPI deva ser realizado como rotina, em especial no sentido de indicar o tratamento cirúrgico da doença de Cushing(27-31)

Além destes aspectos, em caso de resultados discordantes, ou na indisponibilidade de outros métodos, torna-se rotineiro utilizar o CBSPI a fim de detectar um gradiente central-periférico de ACTH que permita diferenciar a origem da ACTH-dependência(4). O procedimento é considerado padrão-ouro no diagnóstico diferencial de SC ACTH-dependente, podendo ser realizado através de estímulo com CRH. O uso do CRH, novamente, mostra-se um limitante, já que é indisponível em muitos países. O fato da desmopressina não ser útil no diagnóstico diferencial entre a Doença de Cushing e EAS, porém, potencialmente não inviabiliza o seu emprego como estímulo no cateterismo de seios petrosos inferiores, uma vez que se a resposta está presente quando avaliamos a resposta do ACTH em sangue periférico, e a mesma também ocorre nos seios petrosos, é provável que a fonte de secreção excessiva do ACTH seja hipofisária. Embora com esta perspectiva, o uso da desmopressina como estímulo no cateterismo de seios petrosos na investigação etiológica da síndrome de Cushing tem sido pouco discutida e avaliada na literatura, não estando bem estabelecida sua utilidade nesta situação (12, 32-34), Mesmo com

poucos estudos, sem a validação em diversas populações e maiores casuísticas, recentemente até mesmo novos critérios diagnósticos foram propostos, questionando a necessidade de estímulo(35). Neste estudo, o maior já realizado utilizando estímulo com desmopressina, 226 pacientes com DC e 24 com EAS foram avaliados, estimando através de curvas ROC os pontos de corte ótimos para sensibilidade e especificidade tanto na coleta basal como após estímulo. Quando avaliados através do gradiente seio petroso inferior:periferia (SPI:P)>2 no basal e >3 após estímulo, a sensibilidade no basal foi de 87.2%. Quando os resultados antes e após estímulo foram combinados, a sensibilidade atingiu 96.5%, mantendo a especificidade em 100% tanto no basal como após estímulo. Os resultados da curva ROC encontraram um ponto de corte ótimo de SPI:P>1.8 no basal e >2.8 após estímulo. Utilizando esses pontos de corte, a sensibilidade no basal foi de 94.7%, e combinando os resultados antes ou após o estímulo, foi de 97.8%. Os autores identificaram que os pacientes que necessitaram de estímulo foram aqueles com adenomas <0.6 cm ou naqueles com RM negativa ou duvidosa, sugerindo que nos demais casos o estímulo com desmopressina não seja necessário. O estudo também sugere que os centros de referência identifiquem pontos de corte personalizados e que estudos futuros validem os novos pontos de corte encontrados. Além disso, os autores realizaram meta-análise de 25 estudos envolvendo CBSPI, incluindo estudos que utilizaram CRH ou desmopressina, totalizando 1401 casos, sendo 1249 pacientes com DC e 152 com EAS, a fim de avaliar a sensibilidade e especificidade dos critérios tradicionais em condições basais e após estímulo. Na meta-análise, a sensibilidade combinada do gradiente seio petroso inferior:periferia (SPI:P) >2 no basal foi de 86%, com alta heterogeneidade. A especificidade foi de 98%, com baixa heterogeneidade. Após o estímulo, considerando o gradiente SPI:P>3 (exceto em 3 estudos que utilizou >2), a sensibilidade combinada foi de 97% com moderada heterogeneidade, e a especificidade foi de 100% com baixa heterogeneidade.

Outro aspecto adicional para o qual tem sido utilizado o CBSPI é a possibilidade de utilização das dosagens basais e pós-estímulo do ACTH para identificação da provável localização do adenoma, pela lateralização da secreção do ACTH(36). Estes aspectos não serão discutidos neste estudo, uma vez que a relevância destes achados não modifica a abordagem cirúrgica dos pacientes pela

cirurgia transesfenoidal, que sempre deve procurar incluir a identificação do adenoma e sua posterior exérese.

Assim, o objetivo do presente projeto é avaliar o papel do estímulo do ACTH com desmopressina no CBSP para o diagnóstico diferencial da SC ACTH-dependente em uma coorte de pacientes acompanhados em um centro de referência para a SC no Brasil.

REFERÊNCIAS

1. Valassi E, Santos A, Yaneva M, Tóth M, Strasburger CJ, Chanson P, et al. The European Registry on Cushing's syndrome: 2-year experience. Baseline demographic and clinical characteristics. *Eur J Endocrinol*. 2011;165(3):383-92.
2. Newell-Price J, Bertagna X, Grossman AB, Nieman LK. Cushing's syndrome. *Lancet*. 2006;367(9522):1605-17.
3. Wengander S, Timpou P, Papakokkinou E, Ragnarsson O. The incidence of endogenous Cushing's syndrome in the modern era. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2019;91(2):263-70.
4. Lacroix A, Feelders RA, Stratakis CA, Nieman LK. Cushing's syndrome. *Lancet*. 2015;386(9996):913-27.
5. Sharma ST, Nieman LK, Feelders RA. Cushing's syndrome: epidemiology and developments in disease management. *Clin Epidemiol*. 2015;7:281-93.
6. Pivonello R, Isidori AM, De Martino MC, Newell-Price J, Biller BM, Colao A. Complications of Cushing's syndrome: state of the art. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2016;4(7):611-29.
7. 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.
8. Ragnarsson O, Olsson DS, Papakokkinou E, Chantzichristos D, Dahlqvist P, Segerstedt E, et al. Overall and Disease-Specific Mortality in Patients With Cushing Disease: A Swedish Nationwide Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2019;104(6):2375-84.
9. Lambert JK, Goldberg L, Fayngold S, Kostadinov J, Post KD, Geer EB. Predictors of mortality and long-term outcomes in treated Cushing's disease: a study of 346 patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(3):1022-30.
10. Barbot M, Zilio M, Scaroni C. Cushing's syndrome: Overview of clinical presentation, diagnostic tools and complications. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2020;34(2):101380.
11. Rubinstein G, Osswald A, Hoster E, Losa M, Elenkova A, Zacharieva S, et al. Time to Diagnosis in Cushing's Syndrome: A Meta-Analysis Based on 5367 Patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020;105(3).
12. 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.
13. 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.
14. Ilias I, Torpy DJ, Pacak K, Mullen N, Wesley RA, Nieman LK. Cushing's syndrome due to ectopic corticotropin secretion: twenty years' experience at the National Institutes of Health. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(8):4955-62.
15. Isidori AM, Kaltsas GA, Grossman AB. Ectopic ACTH syndrome. *Front Horm Res*. 2006;35:143-56.
16. Dahia PL, Ahmed-Shuaib A, Jacobs RA, Chew SL, Honegger J, Fahlbusch R, et al. Vasopressin receptor expression and mutation analysis in corticotropin-secreting tumors. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81(5):1768-71.

17. Newell-Price J, Perry L, Medbak S, Monson J, Savage M, Besser M, et al. A combined test using desmopressin and corticotropin-releasing hormone in the differential diagnosis of Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(1):176-81.
18. 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.
19. Suda T, Kageyama K, Nigawara T, Sakihara S. Evaluation of diagnostic tests for ACTH-dependent Cushing's syndrome. *Endocr J.* 2009;56(3):469-76.
20. Tsagarakis S, Tsigos C, Vasiliou V, Tsiotra P, Kaskarelis J, Sotiropoulou C, et al. The desmopressin and combined CRH-desmopressin tests in the differential diagnosis of ACTH-dependent Cushing's syndrome: constraints imposed by the expression of V2 vasopressin receptors in tumors with ectopic ACTH secretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(4):1646-53.
21. 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.
22. Vassiliadi DA, Tsagarakis S. DIAGNOSIS OF ENDOCRINE DISEASE: The role of the desmopressin test in the diagnosis and follow-up of Cushing's syndrome. *Eur J Endocrinol.* 2018;178(5):R201-R14.
23. Aron DC, Raff H, Findling JW. Effectiveness versus efficacy: the limited value in clinical practice of high dose dexamethasone suppression testing in the differential diagnosis of adrenocorticotropin-dependent Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(6):1780-5.
24. Isidori AM, Kaltsas GA, Mohammed S, Morris DG, Jenkins P, Chew SL, et al. Discriminatory value of the low-dose dexamethasone suppression test in establishing the diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(11):5299-306.
25. Vitale G, Tortora F, Baldelli R, Cocchiara F, Paragliola RM, Sbardella E, et al. Pituitary magnetic resonance imaging in Cushing's disease. *Endocrine.* 2017;55(3):691-6.
26. Freda PU, Beckers AM, Katznelson L, Molitch ME, Montori VM, Post KD, et al. Pituitary incidentaloma: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(4):894-904.
27. Graham KE, Samuels MH, Nesbit GM, Cook DM, O'Neill OR, Barnwell SL, et al. Cavernous sinus sampling is highly accurate in distinguishing Cushing's disease from the ectopic adrenocorticotropin syndrome and in predicting intrapituitary tumor location. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(5):1602-10.
28. Wiggam MI, Heaney AP, McIlrath EM, McCance DR, Sheridan B, Hadden DR, et al. Bilateral inferior petrosal sinus sampling in the differential diagnosis of adrenocorticotropin-dependent Cushing's syndrome: a comparison with other diagnostic tests. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(4):1525-32.
29. Findling JW, Kehoe ME, Shaker JL, Raff H. Routine inferior petrosal sinus sampling in the differential diagnosis of adrenocorticotropin (ACTH)-dependent Cushing's syndrome: early recognition of the occult ectopic ACTH syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;73(2):408-13.
30. Kaskarelis IS, Tsatalou EG, Benakis SV, Malagari K, Komninos I, Vassiliadi D, et al. Bilateral inferior petrosal sinuses sampling in the routine investigation of Cushing's syndrome: a comparison with MRI. *AJR Am J Roentgenol.* 2006;187(2):562-70.

31. Loriaux DL. Diagnosis and Differential Diagnosis of Cushing's Syndrome. *N Engl J Med*. 2017;376(15):1451-9.
32. Castinetti F, Morange I, Dufour H, Jaquet P, Conte-Devolx B, Girard N, et al. Desmopressin test during petrosal sinus sampling: a valuable tool to discriminate pituitary or ectopic ACTH-dependent Cushing's syndrome. *Eur J Endocrinol*. 2007;157(3):271-7.
33. 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.
34. 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.
35. Chen S, Chen K, Wang S, Zhu H, Lu L, Zhang X, et al. The Optimal Cut-off of BIPSS in Differential Diagnosis of ACTH-dependent Cushing's Syndrome: Is Stimulation Necessary? *J Clin Endocrinol Metab*. 2020;105(4).
36. Wind JJ, Lonser RR, Nieman LK, DeVroom HL, Chang R, Oldfield EH. The lateralization accuracy of inferior petrosal sinus sampling in 501 patients with Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(6):2285-93.