

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: ENDOCRINOLOGIA



Tese de Doutorado

CETOCONAZOL NA DOENÇA DE CUSHING

CAMILA VIECCELI

Porto Alegre, agosto de 2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL □

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS: ENDOCRINOLOGIA



Tese de Doutorado

CETOCONAZOL NA DOENÇA DE CUSHING

CAMILA VIECCELI

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

Orientador:

Prof. Dr. Mauro Antônio Czepielewski

Coorientadora:

Profa. Dra. Ticiania da Costa Rodrigues

Porto Alegre, agosto de 2022

AGRADECIMENTOS:

Uma tese nunca é escrita sozinha. É um esforço de muitas mentes e mãos. Desde o momento da ideia inicial até a construção destas páginas, nunca estive sozinha. Agradeço, imensamente, ao Professor Dr. Mauro Antônio Czepielewski pela orientação desta tese. Aprendi e continuo aprendendo com suas aulas, conversas e discussões. O senhor não só me inspirou a escrever sobre este tema, mas me inspira como profissional e ser humano. O seu amor pelos hormônios e pela neuroendocrinologia desperta a curiosidade e o entusiasmo de tantos endocrinologistas já formados pelos seus ensinamentos.

Agradeço, à professora Ticiania da Costa Rodrigues, por ser coorientadora deste projeto. Seu talento e conhecimento, tanto na endocrinologia clínica, quanto em áreas de pesquisa, servem de exemplo e inspiração para tantos. Todas as orientações e críticas construtivas sugeridas na concepção deste trabalho contribuíram, demasiadamente, na finalização desta tese.

Agradeço também aos membros desta banca. Disponibilizar tempo de suas vidas para sugerir, corrigir, propor, criticar e participar deste momento, contribuindo com conhecimento e reflexões sobre o tema desta tese, fazem com que eu me sinta de fato, honrada e privilegiada.

Agradeço ao programa de residência médica em Endocrinologia e Metabologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre por me proporcionar o encontro com os melhores endocrinologistas e professores que eu poderia ter. Foi neste local que aprendi tudo o que sei sobre hormônios e aonde me tornei endocrinologista. Foi neste local que fiz grandes amigos e que a semente da pós-graduação foi plantada.

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) tanto pelo suporte em disciplinas, quanto pelas orientações sempre precisas com relação à construção do conhecimento científico.

Agradeço aos residentes que atenderam os indivíduos incluídos em minhas pesquisas e aos alunos de iniciação científica que contribuíram nas revisões de prontuários, coleta de dados e confecção de bancos de dados utilizados não apenas nesta tese. Sem a colaboração de todos vocês, esta tese jamais poderia ter sido escrita.

Agradeço aos meus pais e irmãos, por sempre terem sido a base forte que contribuiu com meus princípios, valores e força de vontade, para seguir sempre em frente na busca por meus objetivos, independente das adversidades.

Agradeço à minha sempre amiga colega de residência em endocrinologia, Sheila Piccoli Garcia, por ter me encorajado nos momentos em que duvidei de minha própria capacidade. Além de contribuir com sugestões nos artigos, com certeza, sem suas palavras e apoio, mesmo à distância física, esta tese não teria sido construída.

Agradeço à minha colega e amiga Ana Carolina Viana Mattos. Sua receptividade em terras baianas, sua parceria durante a confecção da metanálise e seu incentivo para que terminássemos o artigo ainda durante a minha gestação, vivendo o meu calendário e não o seu, permitiram que eu conseguisse chegar até este momento. Faltam palavras para descrever o quanto me sinto sortuda pelo nosso encontro.

Agradeço ao meu marido e companheiro de tantos anos, Ivan Augusto. Nestes quase 15 anos de convivência, aprendi muito sobre tudo. Obrigada pelos incentivos

desde a faculdade até hoje, nos dias felizes, mas principalmente nos mais difíceis de trabalho. Obrigada por nunca desistir de mim.

Por fim, agradeço à minha filha, Lara. Mesmo antes de nascer, ela me ensinou sobre perseverança, determinação e disciplina. E, sim, me mostrou que filho é combustível para buscarmos nossos sonhos.

SUMÁRIO:

Lista de Abreviaturas-----	8
Lista de Figuras-----	10
Lista de Tabelas-----	12
Apresentação-----	14
Resumo-----	15
Introdução-----	18
Referências -----	28
Objetivos-----	37

Artigo I, original em inglês:

<i>Title</i> -----	38
<i>Resumo</i> -----	39
<i>Abstract</i> -----	41
<i>Introduction</i> -----	43
<i>Patients and Methods</i> -----	44
<i>Results</i> -----	48
<i>Discussion</i> -----	53
<i>Conclusion</i> -----	57
<i>References</i> -----	58
<i>Tables</i> -----	64
<i>Figures</i> -----	72

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS:

Em português

(AB) Adrenalectomia bilateral

(ACTH) Hormônio Adrenocorticotrófico

(CLU) Cortisol livre urinário

(CRH) Hormônio liberador de corticotrofina

(CTE) Cirurgia hipofisária transesfenoidal

(CV) Cardiovascular

(DDAVP) Desmopressina

(DM) Diabetes melito

(DC) Doença de Cushing

(HCPA) Hospital de Clínicas de Porto Alegre

(HAS) Hipertensão arterial sistêmica

(h) horas

(PET-CT) Tomografia computadorizada com emissão de pósitrons

(RM) Ressonância magnética

(SC) Síndrome de Cushing

(UFC) Cortisol livre urinário de 24 horas

(¹⁸F-FDG) ¹⁸F-fluorodeoxyglucose

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS:

Em Inglês

(ACTH) Adrenocorticotrophic hormone

(AI) Adrenal insufficiency

(BMI) Body Mass Index

(CD) Cushing's disease

(CS) Cushing's syndrome

(CT) Computer tomography

(DHEAS) Dehydroepiandrosterone sulfate

(DM) Diabetes mellitus

(FLAIR) fluid attenuation recovery

(GGT) Gamma glutamyl transferase

(h) Hour

(KC) Ketoconazole

(MRI) Magnetic resonance image

(n) Number of patients

(RDT) Radiotherapy

(SAH) Systemic arterial hypertension

(TGO) Oxaloacetic transaminase

(TSS) Transsphenoidal surgery

(ULN) Upper limit of normality

(24-h UFC) 24-h urinary free cortisol

(1 mg-DST) 1-mg overnight dexamethasone

LISTA DE FIGURAS:

Artigo I:

Figure 1: Flowchart of ketoconazole treatment in Cushing's disease patients

Figure 2: Prevalence of controlled hypercortisolism during follow-up of Cushing's disease patients treated with ketoconazole

Figure 3: First and last consultation 24-hour UFC results vs. ketoconazole dosage in Cushing's disease patients

LISTA DE TABELAS:

Artigo I:

Table 1: Baseline clinical data of Cushing's disease patients treated with ketoconazole

Table 2: Individual data

Table 3: Baseline characteristics of Cushing's disease patients according to therapeutic response to ketoconazole

Table 4: Final dose of ketoconazole used in patients with Cushing's disease and controlled hypercortisolism

Table 5: Adverse effects of ketoconazole in Cushing's disease patients treated with ketoconazole and Controlled, Partially Controlled, and Uncontrolled

Table 6: Characteristics of Cushing's disease patients who developed hypokalemia during ketoconazole treatment

Table 7: Effects of associating cabergoline with ketoconazole in Cushing's disease patients

APRESENTAÇÃO:

Esta Tese de Doutorado: “**Cetoconazol na 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 dois artigos originais, sendo apresentada da seguinte maneira:

1. Introdução

2. Desenvolvimento: dois artigos originais

Artigo I: “**Evaluation of ketoconazole as a treatment for Cushing's disease in a retrospective cohort**”

Artigo II: “**Ketoconazole as second-line treatment for Cushing's disease after transsphenoidal surgery: systematic review and meta-analysis**”

3. Conclusões

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes instituições:

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

RESUMO:

O tratamento de primeira linha da Doença de Cushing (DC) é a cirurgia transesfenoidal (CTE). Com este tratamento, ocorre remissão a curto prazo em torno de 60-80%, porém, com taxas de recorrência em longo prazo entre 20 a 30%, mesmo naqueles que apresentaram remissão inicial. Para pacientes que não apresentaram remissão inicial, que tiveram recorrência e para aqueles com contraindicação cirúrgica, terapias medicamentosas são opções terapêuticas, sendo o cetoconazol uma das drogas disponíveis. O objetivo desta tese é apresentar os dados de uma coorte retrospectiva brasileira de pacientes que fizeram uso do cetoconazol em qualquer etapa de seu tratamento da DC, além de trazer uma revisão sistemática com metanálise sobre o uso do cetoconazol em seu melhor contexto: casos de não remissão após a realização de CTE. Em ambos os artigos, foi buscado avaliar a resposta ao tratamento e o perfil de segurança do cetoconazol em pacientes portadores de DC.

Resultados: Na coorte retrospectiva, 33 pacientes se apresentaram com dados disponíveis para análise. Destes, 26 (78%) haviam realizado CTE previamente ao uso do cetoconazol, dos quais 5 (15%) pacientes haviam realizando também radioterapia e 7 utilizaram como tratamento primário. O tempo de uso do cetoconazol variou desde 14 dias até 14 anos e meio. Os pacientes controlados ou parcialmente controlados com o cetoconazol apresentaram cortisolúrias de 24 horas basais menores do que o grupo não controlado (vezes acima do LSN: $0,62 \pm 0,41$ vs. $5,3 \pm 8,21$; $p < 0,005$, respectivamente), além de CTE prévia com maior frequência ($p < 0,04$). A prevalência de não controlados se manteve estável ao longo do tempo, em torno de 30%, a despeito de ajustes de dose do cetoconazol ou associação com outras drogas, porém,

sem significância estatística. Do total, 22 pacientes tiveram resposta completa (66%), 3 pacientes tiveram resposta parcial (9%) e 8 pacientes não tiveram resposta ao tratamento (24%). Pacientes que utilizaram o cetoconazol após a realização de CTE apresentaram melhores taxas de remissão. Nove pacientes receberam cabergolina devido a não resposta clínica ao uso isolado do cetoconazol na dose máxima tolerada, porém, sem melhores resultados no controle do hipercortisolismo. Efeitos adversos leves como náuseas, vômitos, tonturas e inapetência foram descritos em 10 pacientes (30%), porém, apenas 4 pacientes apresentaram efeitos adversos mais sérios com necessidade de suspensão da medicação. Hipocalcemia foi descrita em 10 pacientes em pelo menos 20 episódios.

Na revisão sistemática com metanálise, dez estudos foram incluídos, sendo que não houve viés de publicação para as variáveis de remissão e ausência de remissão ($p=0,06$ e $p=0,42$ respectivamente). Na análise de 270 pacientes, houve remissão do hipercortisolismo em 151 pacientes, 63% (IC 95% 50 a 74%). Já a taxa de não remissão ocorreu em 61 pacientes 20% (IC 95% 10 e 35%). Na meta-regressão, foi verificado que nem a dose final, ou a duração do tratamento, ou o valor inicial da cortisolúria, apresentaram associação de efeito com a remissão do hipercortisolismo. Devido a escassez de dados não foi possível realizar metanálise de prevalência dos efeitos adversos.

Conclusão: Dentro do cenário de saúde pública brasileiro, o cetoconazol se torna uma opção terapêutica relativamente segura para o tratamento daqueles casos de não remissão da DC com as terapêuticas convencionais ou na impossibilidade de realização da CTE como terapia primária. Na revisão sistemática com metanálise foi

demonstrado que o cetoconazol pode ser considerado uma opção eficiente e segura no tratamento da DC em atividade após cirurgia hipofisária.

INTRODUÇÃO:

Doença de Cushing

A Síndrome de Cushing (SC) é causada pelo excesso de produção de esteroides adrenais, especialmente de cortisol. O hormônio adrenocorticotrófico (ACTH, do inglês *adrenocorticotrophic hormone*) é o hormônio estimulador da síntese adrenal destes esteroides (1,2).

Os pacientes com SC caracterizam-se por manifestações clínicas decorrentes da exposição excessiva aos corticoides, que incluem: ganho de peso com obesidade centrípeta, hipertensão arterial sistêmica, intolerância a glicose/diabetes melito, transtornos psiquiátricos, hipogonadismo e irregularidade menstrual. Tais manifestações não são específicas e podem estar presentes em outras condições clínicas. As manifestações clínicas mais específicas da SC são: pletora e rubicundez facial, fragilidade capilar com estrias violáceas largas na pele, fraqueza muscular proximal e osteopenia/osteoporose (2,3).

Para o diagnóstico sindrômico, além das manifestações clínicas, os pacientes necessitam de exames laboratoriais para a confirmação da SC. Deve-se sempre descartar o uso de medicações que contenham glicocorticoide (etiologia mais comum da SC em geral) antes de iniciar a investigação. Uma vez descartada esta situação, devem ser realizados os exames de triagem para o hipercortisolismo endógeno. Os exames que caracterizam a SC são o aumento do cortisol livre urinário (CLU), a ausência de supressão do cortisol após 1 mg de dexametasona *overnight*, ausência da

supressão do cortisol sérico após 2 mg de dexametasona, e a elevação do cortisol a meia-noite seja pela dosagem sérica, seja pela dosagem salivar. Considera-se quadro compatível com SC a alteração de no mínimo 2 dos 3 exames de triagem. Após o diagnóstico da SC endógena deve-se dosar o ACTH para caracterizá-la como dependente ou independente de ACTH (2,4). Quando ACTH dependente, pode ser originada de tumor hipofisário secretor de ACTH ou, mais raramente, de tumor ectópico produtor de ACTH. As etiologias ACTH independente são decorrentes de lesões adrenais: adenoma, câncer ou hiperplasia adrenal (5,6).

A doença de Cushing (DC), a principal etiologia da SC endógena, caracteriza-se pela presença de tumor hipofisário secretor de ACTH, que em 90% dos casos é constituído por um microadenoma (2). Em raros casos, a etiologia tumoral está associada a mutações da linhagem germinativa, como na neoplasia endócrina múltipla tipo 1, na mutação da proteína que interage com o receptor de aryl-hidrocarboneto (do inglês *AIP*), entre outras (7). Seu manejo ainda permanece um desafio para os endocrinologistas até os dias atuais e muitas lacunas no seu entendimento ainda precisam ser resolvidas.

Apesar de ser distúrbio relativamente raro, com incidência estimada em 0,7 a 2,4 casos/milhão de habitantes/ano (2,7–9), ocorre em pacientes adultos jovens, na faixa etária de 30-40 anos, com predomínio do sexo feminino 3-5:1, e está associada à elevadas taxas de morbidade e mortalidade, em torno de 2-5 vezes acima da população normal (7,9). A remissão do hipercortisolismo está associada à melhora, ao menos parcial, deste prognóstico. E para melhores taxas de remissão, é importante que haja a localização do adenoma hipofisário.

Na DC, além de ACTH elevado, testes de supressão de cortisol sérico após 8 mg de dexametasona *overnight* ou 2 mg de 6/6 horas por 48 horas (*Liddle II*) são positivos, enquanto que, na maioria dos tumores ectópicos, não ocorre supressão. O exame de imagem de escolha para identificação do adenoma hipofisário é a ressonância magnética (RM) de sela túrcica, que, na presença de lesão hipofisária compatível, possui sensibilidade ao redor de 60% e especificidade de 70-100% para diagnóstico da DC, dependendo do centro estudado e da tecnologia disponível no local (10,11). A ausência de imagem identificada na RM não exclui, portanto, o diagnóstico de DC, já que microadenomas menores do que 2 mm podem não ser detectados pelos métodos de imagem convencionais (12).

Recentemente, a RM com 3 Tesla está mais disponível e tem se demonstrado mais eficaz que suas versões anteriores com 0,5 e 1,5 Tesla para o diagnóstico da DC. Apesar da RM 3 Tesla demonstrar resultados melhores na localização de adenomas responsáveis pela DC, dependendo da localização, do tamanho e da intensidade de sinal do tumor à RM, eles podem não ser identificados em até 28% dos casos, sendo que a sensibilidade deste método para detecção de microadenomas fica em torno de 72% (11). Técnicas especiais de obtenção da imagem na RM parecem ser mais eficazes na demonstração destes adenomas (conforme descrito a seguir).

Assim, como até 40% dos microadenomas não são visualizados em exames de imagem (13), nesses casos, pode-se avaliar gradiente central-periférico de ACTH através de coletas de ACTH obtidas pelo cateterismo bilateral simultâneo de seio petroso inferior sob estímulo de hormônio liberador de corticotrofina (CRH) ou de desmopressina (DDAVP) (14). Este procedimento está, em geral, indicado quando o

adenoma hipofisário não for identificado na RM ou quando a lesão apresentar menos de 6 mm de diâmetro (2). Adicionalmente, pode-se realizar o teste de estímulo com infusão de CRH periférico (elevação de ACTH > 50% do basal) ou de estímulo com DDAVP periférico (pico ACTH > 27 pg/mL do basal) cujas respostas positivas são sugestivas da presença do adenoma hipofisário, auxiliando no diagnóstico diferencial da SC ACTH dependente (5,10).

Apesar do cateterismo de seio petroso inferior sob estímulo de CRH ser atualmente considerado o padrão ouro no diagnóstico da DC nos casos de imagem negativa na RM, este procedimento é dispendioso e necessita de equipe médica treinada, em geral somente disponível em centros de referência. Mesmo nestes centros, nos casos de imagem oculta na RM, este exame tem sensibilidade variável entre 50-90%, dependendo do local de realização do exame (11,15). Algumas coortes chegaram a mostrar sensibilidade de 100% no cateterismo bilateral simultâneo de seio petroso inferior sob estímulo de CRH, porém poucos centros conseguiram reproduzir esses resultados de excelência (15). Particularmente, no Brasil, o acesso ao CRH é algo limitado devido questões burocráticas e sanitárias relacionadas a importação.

Assim, o aprimoramento das técnicas de RM e a melhora na sua interpretação continuam sendo um desafio no diagnóstico da SC ACTH dependente. Neste sentido, tem se empregado equipamentos de campo diagnóstico mais intenso, de até 7 Tesla associados à sequências *Spin Echo* que analisa T1, T2 e densidade de prótons, *Gradient Echo* que consegue analisar cortes mais finos da imagem selar, entre outras sequências como a de difusão, gradiente e *fluid attenuation recovery* (FLAIR) (16). Estas técnicas demonstraram em alguns estudos que foi possível alcançar 90% de

assertividade na identificação de adenomas hipofisários produtores de ACTH que previamente não eram visualizados na RM convencional de 1,5 e, inclusive, 3 Tesla (12,17,18). Sabemos que a identificação do adenoma através do exame de imagem contribui positivamente para o planejamento pré-operatório da cirurgia hipofisária (19). Na tecnologia 7 Tesla é possível, inclusive, através da análise em T2 e difusão, verificar status hormonal e consistência da lesão, parâmetros que também estão relacionados com o sucesso terapêutico na DC (18,20). Apesar das tecnologias de RM 3 e 7 Tesla apresentarem melhores resultados na identificação dos adenomas hipofisários, existe um risco aumentado também para detecção de incidentalomas hipofisários que possam não estar relacionados com a DC e sua produção hormonal (2).

Outras técnicas para obtenção de imagens na DC vem sendo estudadas nos últimos anos, principalmente envolvendo imagens nucleares moleculares e funcionais. A tomografia computadorizada com emissão de pósitrons (PET-CT) utilizando marcadores como o ^{18}F -fluorodeoxyglucose (^{18}F -FDG), ^{11}C -methionine, ^{13}N -ammonia, ^{68}Ga -SSTR e ^{68}Ga (DOTA)-CRH tem se mostrado extremamente úteis tanto no diagnóstico inicial da DC, aumentando a sensibilidade e especificidade, quanto na identificação de doença residual naqueles casos refratários à cirurgia inicial (12,21,22).

Apesar dos grandes avanços na área de diagnóstico por imagem, sabemos da grande limitação de acesso a estes exames por serem realizados em equipamentos mais modernos que não estejam amplamente disponíveis. Em contrapartida, existem algumas tecnologias sendo testadas em diversas áreas da medicina, buscando reconhecer, em exames de imagem, mesmo em aparelhos com 1,5 Tesla, as

patologias que ainda desafiam o olhar médico. *Machine Learning* é uma área da inteligência artificial que busca a melhoria de sistemas com base em experiências. Dentro dos estudos sobre a DC, já existem alguns trabalhos utilizando técnicas de *Machine Learning* para a realização do diagnóstico (23,24), tratamento e predição de resposta ao tratamento e remissão do hipercortisolismo pós-operatório (25,26), baseados nesses sistemas de inteligência artificial.

Uma vez diagnosticada a DC, o tratamento de escolha é a cirurgia hipofisária transesfenoidal (CTE). A taxa de remissão em centros de excelência atinge 60-94%, podendo ocorrer recidiva da doença em 5-35% dos casos em cinco anos (2,27–29).

Adicionalmente é de relativo consenso que o reconhecimento do adenoma nos exames de imagem pré-operatórios permite maiores taxas de sucesso no tratamento de primeira linha preconizado para a DC (5,19).

Neste cenário, critérios de cura fidedignos são essenciais para definir a cura/remissão e se possível predizer recidiva da doença, mas várias questões ainda estão em aberto e precisam ser respondidas com evidências mais sólidas a este respeito (30–32).

O paciente é considerado em remissão da DC quando preenche os seguintes critérios: duas a três coletas de cortisol livre urinário de 24h dentro do limite da normalidade (27,29,32,33), cortisol após 1 mg de dexametasona *overnight* <3 µg/dl (32), ou <1,8 µg/dl (2), ou insuficiência adrenal/dependência do uso de corticoide exógeno (2,30,32,34), cortisol basal normal, ou ainda quando restabelece completamente o ritmo circadiano de secreção do cortisol (30).

A avaliação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal no pós-operatório imediato através das dosagens de cortisol sérico seriado é de extrema importância, a curto e longo prazo, na avaliação da remissão da doença e, em algumas casuísticas, foi capaz de prever o risco de recidiva tumoral (32,35,36). Para melhor avaliação do comportamento do cortisol no pós-operatório da CTE, é fundamental que não seja suplementado glicocorticoide exógeno como rotina a todos os pacientes submetidos à CTE, e sim apenas nos pacientes que apresentarem evidência clínica ou laboratorial (cortisol sérico abaixo de 5 µg/dl) de insuficiência adrenal (32,35–38).

Terapias medicamentosas e/ou realização de radioterapia são opções principalmente para aqueles pacientes que não obtiveram remissão da doença com a CTE, que apresentaram recidiva da doença ou para aqueles que não possuem condições cirúrgicas, seja por lesão hipofisária extensa com comprometimento de estruturas subjacentes, seja por comorbidades clínicas que impeçam a realização de um procedimento cirúrgico seguro (39). A terapia medicamentosa também pode ser utilizada naqueles casos que realizaram radioterapia e estão aguardando seus efeitos para o controle da doença. A discussão sobre qual a melhor opção terapêutica nos casos que não obtiveram cura com a CTE é de grande relevância, visto que mesmo naqueles que apresentaram remissão inicial, a DC pode recorrer em longo prazo. As taxas de recorrência variam na literatura entre 5 e 35%, sendo que a metade ocorre nos primeiros 5 anos após a realização da CTE e a outra após 10 ou mais anos do procedimento cirúrgico (40,41).

Mesmo sendo a DC o distúrbio hipofisário de maior morbimortalidade, evoluindo rapidamente para o óbito se não tratada, apenas recentemente estão disponíveis

drogas aprovadas especificamente para seu tratamento, ainda com resultados limitados (42,43).

As drogas disponíveis para uso neste contexto podem agir como bloqueadoras da esteroidogênese adrenal (cetoconazol, osilodrostat, metirapona, mitotano, levocetoconazol e etomidato), como ligantes de receptores somatostatinérgicos (pasireotide), como agonistas do receptor da dopamina (cabergolina) ou como bloqueadores do receptor glicocorticoide (mifepristone) (2,44). Dentre estas alternativas, até o momento, não se pode considerar que haja droga de primeira escolha no tratamento da DC. Assim, a melhor opção deve ser estabelecida de forma individualizada considerando aspectos como potencial de remissão, risco de efeitos adversos, disponibilidade e custo, entre outros aspectos (2,45,46)

Metanálise recente que avaliou as opções de tratamento medicamentoso da DC chegou aos seguintes resultados de controle do hipercortisolismo de acordo com cada droga: 35% com cabergolina, 44% com o pasireotide, 41% com o cetoconazol, 66% com a metirapona e 66% com o osilodrostat (47). Apesar do achado destas taxas de remissão de cada medicação, não é possível afirmar que uma medicação seja superior à outra devido a ausência de trabalhos comparando as medicações entre si em populações semelhantes. Além disso, as medicações apresentam perfis específicos de efeitos adversos que também devem fazer parte da decisão terapêutica (2).

No Brasil, não temos drogas disponibilizadas pelo sistema público de saúde para tratamento da DC, sendo que das medicações que aparentemente possuem melhor perfil no controle do hipercortisolismo como o osilodrostat, o levocetoconazol e o pasireotide, apenas o pasireotide está aprovado pela ANVISA.

Neste contexto, bloqueadores da esteroidogênese adrenal ganham importância, tendo sido recentemente desenvolvidas inclusive novas drogas com este mecanismo de ação (50,51). Estes, apesar de não atuarem diretamente na doença hipofisária, são capazes de controlar a secreção excessiva de cortisol, reduzindo a morbidade relacionada ao hipercortisolismo.

Apesar do uso *off-label*, o cetoconazol é uma medicação oral prescrita há mais de 30 anos para os pacientes com DC em muitos países, demonstrando taxas variadas de remissão do hipercortisolismo, utilizado tanto em monoterapia, quanto, combinado com outras drogas nos poucos estudos disponíveis (48,49).

O cetoconazol foi concebido como medicamento antifúngico, derivado imidazólico sintético que atua na inibição das enzimas CYP11A1, CYP17, CYP11B2 e CYP11B1. Como antifúngico, em decorrência de riscos de hepatotoxicidade, e da disponibilidade de outras drogas, vem sendo retirado do mercado em vários países (52). Na Europa, ele segue aprovado para uso na DC, porém, nos Estados Unidos, é utilizado apenas *off-label* neste contexto (2,53,54).

Dentre outras opções de tratamento da DC nos casos refratários ou de remissão está a radioterapia hipofisária, principalmente nos casos com invasão parasselar (seios cavernosos), dando-se preferência para a técnica estereotáxica ou em dose única. Geralmente, os pacientes que realizam a radioterapia, devem permanecer em uso de medicações para controle do excesso de cortisol até que a radioterapia tenha o efeito esperado, que pode começar aos 6 meses, mas ocorre mais frequentemente entre 12-18 meses (3).

A adrenalectomia bilateral (AB) também é considerada uma opção terapêutica para os casos não curados com a CTE. Acaba sendo uma opção menos utilizada devido a natureza mais agressiva do tratamento, envolvendo diversos efeitos colaterais potenciais e por exigir reposição contínua de glicocorticóides e mineralocorticóides. As principais indicações para esta opção são os casos de hipercortisolismo severo em que há a necessidade de controle imediato do excesso de cortisol, e também para mulheres em idade fértil que desejem manter a fertilidade sem necessidade de estímulo hormonal. Nos casos de AB é importante salientar que existe a possibilidade de progressão tumoral hipofisária em 25-40% dos casos após 5-10 anos (Síndrome de Nelson) (2,3), devendo esta possibilidade ser monitorada a longo prazo.

O diagnóstico e o manejo da DC persiste um grande desafio em endocrinologia, sendo muito importante contribuir para o entendimento de quais as melhores opções terapêuticas para cada perfil de paciente. Nesta tese apresentamos 2 estudos acerca dos efeitos do cetoconazol no tratamento da Doença de Cushing, analisando seu uso em uma coorte de pacientes e avaliando seus efeitos após cirurgia hipofisária pela revisão sistemática e metanálise de artigos publicados.

Referências Bibliográficas:

1. Nieman LK, Biller BMK, Findling JW, Newell-Price J, Savage MO, Stewart PM, et al. The diagnosis of Cushing's syndrome: An endocrine society clinical practice guideline. Vol. 93, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2008. p. 1526–40.
2. Fleseriu M, Auchus R, Bancos I, Ben-Shlomo A, Bertherat J, Biermasz NR, et al. Consensus on diagnosis and management of Cushing's disease: a guideline update. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2021;9(12):847–75.
3. Machado MC, Fragoso MCBV, Moreira AC, Boguszewski CL, Vieira Neto L, Naves LA, et al. A review of Cushing's disease treatment by the Department of Neuroendocrinology of the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism. *Arch Endocrinol Metab* [Internet]. 2018;62(1):87–105. Available from: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L622295753&from=export>
4. Chanson P, Salenave S. Metabolic syndrome in Cushing's syndrome. *Neuroendocrinology*. 2010;92(SUPPL. 1):96–101.
5. Nieman LK, Biller BMK, 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.
6. Newell-Price J, Jorgensen JOL, Grossman A. The diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome. *Horm Res*. 1999;51(SUPPL. 3):81–94.
7. André Lacroix, Richard A Felders, Constantine A Stratakis LKN. Cushing's

- syndrome. *Lancet*. 2015;386(9996):913–27.
8. Lindholm J, Juul S, Jørgensen JOL, Astrup J, Bjerre P, Feldt-Rasmussen U, et al. Incidence and late prognosis of Cushing's syndrome: A population-based study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(1):117–23.
 9. 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;
 10. Costenaro F, Rodrigues TC, Rollin GAF, Czepielewski MA. Avaliação do eixo hipotálamohipófise adrenal no diagnóstico e na remissão da doença de Cushing. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*. 2012.
 11. Fukuhara N, Inoshita N, Yamaguchi-Okada M, Tatsushima K, Takeshita A, Ito J, et al. Outcomes of three-tesla magnetic resonance imaging for the identification of pituitary adenoma in patients with cushing's disease. *Endocr J*. 2019;66(3):259–64.
 12. Senanayake R, Gillett D, MacFarlane J, Van de Meulen M, Powlson A, Koulouri O, et al. New types of localization methods for adrenocorticotrophic hormone-dependent Cushing's syndrome. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2021;35(1):101513. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.beem.2021.101513>
 13. Pivonello R, Martino M De, Leo M De. Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* [Internet]. 2008; Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889852907000977>
 14. Feng M, Liu Z, Liu X, Zhang X, Bao X, Yao Y, et al. Tumour lateralization in

Cushing's disease by inferior petrosal sinus sampling with desmopressin. *Clin Endocrinol (Oxf)* [Internet]. 2018 Feb;88(2):251–7. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/cen.13505>

15. Bekci T. Efficiency of Inferior Petrosal Sinus Sampling in the Diagnosis of Cushing's Disease and Comparison with MRI. *North Clin Istanbul*. 2018;6(1):53–8.
16. Bashari WA, Senanayake R, Fernández-Pombo A, Gillett D, Koulouri O, Powlson AS, et al. Modern imaging of pituitary adenomas. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2019;33(2).
17. Patel V, Liu CSJ, Shiroishi MS, Hurth K, Carmichael JD, Zada G, et al. Ultra-high field magnetic resonance imaging for localization of corticotropin-secreting pituitary adenomas. *Neuroradiology*. 2020;62(8):1051–4.
18. Rutland JW, Pawha P, Belani P, Delman BN, Gill CM, Brown T, et al. Tumor T2 signal intensity and stalk angulation correlates with endocrine status in pituitary adenoma patients: a quantitative 7 tesla MRI study. *Neuroradiology*. 2020;62(4):473–82.
19. Rutland JW, Delman BN, Feldman RE, Tsankova N, Lin H-M, Padormo F, et al. Utility of 7 Tesla MRI for Preoperative Planning of Endoscopic Endonasal Surgery for Pituitary Adenomas. *J Neurol Surg Part B Skull Base*. 2021;82(03):303–12.
20. Rutland JW, Loewenstern J, Ranti D, Tsankova NM, Bellaire CP, Bederson JB, et al. Analysis of 7-tesla diffusion-weighted imaging in the prediction of pituitary macroadenoma consistency. *J Neurosurg*. 2021;134(3):771–9.
21. Chittiboina P, Montgomery BK, Millo C, Herscovitch P, Lonser RR. High-

- resolution 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography and magnetic resonance imaging for pituitary adenoma detection in Cushing disease. *J Neurosurg.* 2015;122(4):791–7.
22. Koulouri O, Steuwe A, Gillett D, Hoole AC, Powlson AS, Donnelly NA, et al. A role for 11C-methionine PET imaging in ACTH-dependent Cushing's syndrome. *Eur J Endocrinol.* 2015;173(4):M107–20.
 23. Isci S, Yaman Kalender DS, Bayraktar F, Yaman A. Machine Learning Models for Classification of Cushing's Syndrome Using Retrospective Data. *IEEE J Biomed Heal Informatics.* 2021;1–10.
 24. Laws ER, Catalino MP. Machine learning and artificial intelligence applied to the diagnosis and management of Cushing disease. *Neurosurg Focus.* 2020;48(6):21–3.
 25. Fan Y, Li Y, Bao X, Zhu H, Lu L, Yao Y, et al. Development of Machine Learning Models for Predicting Postoperative Delayed Remission in Patients with Cushing's Disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2021;106(1):E217–31.
 26. Zhang W, Sun M, Fan Y, Wang H, Feng M, Zhou S, et al. Machine Learning in Preoperative Prediction of Postoperative Immediate Remission of Histology-Positive Cushing's Disease. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;12(March):1–9.
 27. Rollin G, Ferreira NP, Czepielewski MA. Prospective evaluation of transsphenoidal pituitary surgery in 108 patients with Cushing's disease. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2007;51(8):1355–61.
 28. Invitti C, Giraldi FP, De Martin M, Cavagnini F, Angeli A, Terzolo M, et al. Diagnosis and management of Cushing's syndrome: Results of an Italian

multicentre study. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1999;84(2):440–8. Available from:

<http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L29075666&from=export>

29. Fava A. Risk Factors and Long-Term Cushing's Disease *. *Endocrinol Metab*. 1996;
30. Petersenn S, Beckers A, Ferone D, Van Der Lely A, Bollerslev J, Boscaro M, et al. 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.
31. Dabrh AMA, Ospina NMS, Al Nofal A, Farah WH, Barrionuevo P, Sarigianni M, et al. Predictors of biochemical remission and recurrence after surgical and radiation treatments of Cushing disease: A systematic review and meta-analysis. *Endocr Pract*. 2016;22(4):466–75.
32. Rollin GAFS, 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.
33. Dabrh AM, Singh Ospina NM, Nofal AA, Farah WH BP. Predictors Of Biochemical Remission And Recurrence After Surgical And Radiation Treatments Of Cushing Disease: A Systematic Review And Meta-Analysis. *Endocr Pract*. 2016;22(4):466–75.
34. Trainer PJ, Lawrie HS, Verhelst J, Howlett TA LD. Transsphenoidal resection in Cushing's disease: undetectable serum cortisol as the definition of successful

- treatment. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1993;1:73–8.
35. Esposito F, Dusick JR, Cohan P, Moftakhar P, McArthur D, Wang C, et al. Clinical review: Early morning cortisol levels as a predictor of remission after transsphenoidal surgery for Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(1):7–13.
 36. Ironside N, Chatain G, Asuzu D, Benzo S, Lodish M, Sharma S, et al. Earlier post-operative hypocortisolemia may predict durable remission from Cushing's disease. *Eur J Endocrinol*. 2018;178(3):255–63.
 37. Abdelmannan D, Chaiban J, Selman WR, Arafah BM. Recurrences of ACTH-secreting adenomas after pituitary adenectomy can be accurately predicted by perioperative measurements of plasma ACTH levels. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(4):1458–65.
 38. 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.
 39. Machado MC, Fragoso MCBV, Moreira AC, Boguszewski CL, Neto LV, Naves LA, et al. A review of Cushing's disease treatment by the department of neuroendocrinology of the Brazilian society of endocrinology and metabolism. *Arch Endocrinol Metab*. 2018;62(1):87–105.
 40. 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.

41. Hofmann BM, Hlavac M, Martinez R, Buchfelder M MO, 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.
42. Zhao N, Yang X, Li C, Yin X. Ef fi cacy and safety of pasireotide for Cushing ' s disease. :21–3.
43. Pivonello R, Fleseriu M, Newell-Price J, Bertagna X, Findling J, Shimatsu A, et al. Efficacy and safety of osilodrostat in patients with Cushing's disease (LINC 3): a multicentre phase III study with a double-blind, randomised withdrawal phase. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2020;8(9):748–61.
44. Gadelha MR, Neto L V. Efficacy of medical treatment in Cushing's disease: A systematic review. *Clin Endocrinol (Oxf)* [Internet]. 2014;80(1):1–12. Available from:
<http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L52865786&from=export>
45. Fleseriu M, Petersenn S. New avenues in the medical treatment of Cushing's disease: Corticotroph tumor targeted therapy. *J Neurooncol* [Internet]. 2013;114(1):1–11. Available from:
<http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L52582660&from=export>
46. Fleseriu M, Petersenn S. Medical management of Cushing's disease: What is the future? *Pituitary* [Internet]. 2012;15(3):330–41. Available from:
<http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L52047577&fro>

m=export

47. Simões Corrêa Galendi J, Correa Neto ANS, Demetres M, Boguszewski CL, Nogueira V dos SN. Effectiveness of Medical Treatment of Cushing's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021;12(September):1–12.
48. Feelders RA, De Bruin C, Pereira AM, Romijn JA, Netea-Maier RT, Hermus AR, et al. Pasireotide alone or with cabergoline and ketoconazole in Cushing's disease. *N Engl J Med [Internet]*. 2010;362(19):1846–8. Available from: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L358833298&from=export>
49. Barbot M, Albiger N, Ceccato F, Zilio M, Frigo AC, Denaro L, et al. Combination therapy for Cushing's disease: Effectiveness of two schedules of treatment. Should we start with cabergoline or ketoconazole? *Pituitary [Internet]*. 2014;17(2):109–17. Available from: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L52481630&from=export>
50. Pivonello R, Ferrigno R, De Martino MC, Simeoli C, Di Paola N, Pivonello C, et al. Medical Treatment of Cushing's Disease: An Overview of the Current and Recent Clinical Trials. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11(December).
51. Creemers SG, Feelders RA, de Jong FH, Franssen GJH, de Rijke YB, van Koetsveld PM, et al. Levoketoconazole, the 2S,4R Enantiomer of Ketoconazole, a New Steroidogenesis Inhibitor for Cushing's Syndrome Treatment. *J Clin Endocrinol Metab [Internet]*. 2021;106(4):e1618–30. Available from:

<https://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&id=L633935459&from=export>

52. Yan JY, Nie XL, Tao QM, Zhan SY, Zhang Y De. Ketoconazole associated hepatotoxicity: A systematic review and meta-analysis. *Biomed Environ Sci* [Internet]. 2013;26(7):605–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.3967/0895-3988.2013.07.013>
53. Castinetti F, Guignat L, Giraud P, Muller M, Kamenicky P, Drui D, et al. Ketoconazole in cushing's disease: Is it worth a try. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(5):1623–30.
54. Castinetti F, Nieman LK, Reincke M, Newell-Price J. Approach to the Patient Treated with Steroidogenesis Inhibitors. *J Clin Endocrinol Metab.* 2021;106(7):2114–23.

OBJETIVOS:

Os objetivos desta tese são analisar os efeitos do cetoconazol no tratamento da Doença de Cushing utilizando duas estratégias científicas:

1. Estudo retrospectivo de uma coorte de pacientes com Doença de Cushing na qual o cetoconazol foi empregado para controle do hipercortisolismo, avaliando prevalência do controle, características clínicas e hormonais associadas aos melhores resultados, doses empregadas, efeitos colaterais e associações terapêuticas utilizadas.
2. Metanálise de artigos da literatura avaliando a eficácia do cetoconazol quando empregado na sua principal indicação, qual seja, em pacientes que persistiram com a doença em atividade após realização de cirurgia transesfenoidal. Este estudo é importante e inédito na literatura, oferecendo informações relevantes para a escolha do melhor tratamento nesta situação.

Artigo I, original em inglês:

Evaluation of ketoconazole as a treatment for Cushing's disease in a retrospective cohort

Viecceli C, Mattos ACV, Costa MCB, Melo RB, Rodrigues TC, Czepielewski MA.

**Graduate Program in Medical Sciences: Endocrinology, Faculty of Medicine,
UFRGS.**

Endocrinology Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, UFRGS.

Corresponding author:

Dr. Mauro A. Czepielewski

Serviço de Endocrinologia e Metabologia, HCPA.

Ramiro Barcelos, 2350 Prédio 14 – 4º Andar

Porto Alegre, RS 90035-903.

Resumo:

Introdução: O tratamento de primeira linha da Doença de Cushing (DC) inclui a cirurgia transesfenoidal (CTE). Ocorre remissão a curto prazo em torno de 60-80%, sendo que em longo prazo existe recorrência de 20 a 30%, mesmo naqueles com remissão inicial. Para pacientes que não apresentaram remissão inicial, que tiveram recorrência e para aqueles com contraindicação cirúrgica, terapias medicamentosas são opções, sendo o cetoconazol uma das principais terapêuticas disponíveis. O objetivo deste trabalho é avaliar a resposta ao tratamento e o perfil de segurança do cetoconazol em pacientes com DC acompanhados no ambulatório de endocrinologia de hospital universitário brasileiro.

Pacientes e Métodos: Coorte retrospectiva de pacientes portadores de DC e hipercortisolismo ativo que utilizaram cetoconazol em qualquer fase do acompanhamento. Foram excluídos pacientes com seguimento inferior a 7 dias, irregularidade de acompanhamento ambulatorial, não aderência ao tratamento ou perda de seguimento.

Resultados: Dos 172 pacientes em acompanhamento no serviço, foram observados 38 pacientes que utilizaram cetoconazol entre 2003 e 2020, porém, apenas 33 com dados disponíveis para análise. Destes, 26 (78%) haviam realizado CTE previamente ao uso do cetoconazol, dos quais 5 (15%) pacientes haviam realizando também radioterapia e 7 utilizaram como tratamento primário. O tempo de uso do cetoconazol variou desde 14 dias até 14 anos e meio. Os pacientes controlados ou parcialmente controlados com o cetoconazol apresentaram cortisolúrias de 24 horas basais menores

do que o grupo não controlado (vezes acima do LSN: $0,62 \pm 0,41$ vs. $5,3 \pm 8,21$; $p < 0,005$, respectivamente), além de CTE prévia com maior frequência ($p < 0,04$). A prevalência de não controlados se manteve estável ao longo do tempo, em torno de 30%, a despeito de ajustes de dose do cetoconazol ou associação com outras drogas, porém, sem significância estatística. Do total, 22 pacientes tiveram resposta completa (66%), 3 pacientes tiveram resposta parcial (9%) e 8 pacientes não tiveram resposta ao tratamento (24%), já incluindo pacientes que realizaram radioterapia durante o tratamento com o cetoconazol. Um paciente já estava em uso de cabergolina de forma concomitante desde o início do acompanhamento e 9 pacientes receberam cabergolina devido a não resposta clínica ao uso isolado do cetoconazol. Efeitos adversos leves como náuseas, vômitos, tonturas e inapetência foram descritos em 10 pacientes (30%), porém, apenas 4 pacientes apresentaram efeitos adversos mais sérios com necessidade de suspensão da medicação. Houve hipocalcemia em 10 pacientes em pelo menos 20 episódios.

Conclusão: O cetoconazol é opção efetiva em controlar o hipercortisolismo em 66% dos pacientes com DC sendo droga relativamente segura podendo ser utilizada em pacientes que não tenham apresentado remissão após CTE ou que necessitem controle até que uma nova terapêutica definitiva seja realizada. Hipocalcemia é um efeito metabólico frequente, ainda não descrito em outras casuísticas, que deve ser monitorizado durante o tratamento.

Palavras-Chave: Doença de Cushing, Síndrome de Cushing, Hipercortisolismo, Tratamento, Cetoconazol

Abstract:

Objective: The first-line treatment for Cushing's disease is transsphenoidal surgery, after which the rates of remission are 60 to 80%, with long-term recurrence of 20 to 30%, even in those with real initial remission. Drug therapies are indicated for patients without initial remission or with surgical contraindications or recurrence, and ketoconazole is one of the main available therapies. The objective of this study was to evaluate the safety profile of and treatment response to ketoconazole in Cushing's disease patients followed up at the endocrinology outpatient clinic of a Brazilian university hospital.

Patients and Methods: This was a retrospective cohort of Cushing's disease patients with active hypercortisolism who used ketoconazole at any stage of follow-up. Patients followed up for less than 7 days, who did not adhere to treatment or were lost to follow-up were excluded.

Results: Of the 172 Cushing's disease patients who were followed up between 2004 and 2020, 38 received ketoconazole. However, complete data was only available for 33 of these patients. Of these, 26 (78%) underwent transsphenoidal surgery prior to using ketoconazole, 5 of whom (15%) had also undergone radiotherapy; 7 used ketoconazole as a primary treatment. Ketoconazole use ranged from 14 days to 14.5 years. A total of 22 patients had a complete response (66%), 3 patients had a partial response (9%), and 8 patients had no response to treatment (24%), including those who underwent radiotherapy while using ketoconazole. Patients whose hypercortisolism was controlled or partially controlled with ketoconazole had lower baseline 24-hour urinary free cortisol levels than the uncontrolled group (times above the upper limit of normal: 0.62 [SD,

0.41] vs. 5.3 [SD, 8.21]; $p < 0.005$, respectively), in addition to more frequent previous transsphenoidal surgery ($p < 0.04$). The prevalence of uncontrolled patients remained stable over time (approximately 30%) despite ketoconazole dose adjustments or association with other drugs, which had no significant effect. One patient received adjuvant cabergoline from the beginning of the follow-up, and it was prescribed to 9 others due to clinical non-response to ketoconazole alone. Ten patients (30%) reported mild adverse effects, such as nausea, vomiting, dizziness and loss of appetite. Only 4 patients had serious adverse effects that warranted discontinuation. There were 20 confirmed episodes of hypokalemia among 10/33 patients (30%).

Conclusion: Ketoconazole effectively controlled hypercortisolism in 66% of Cushing's disease patients, being a relatively safe drug for those without remission after transsphenoidal surgery or whose symptoms must be controlled until a new definitive therapy is carried out. Hypokalemia is a frequent metabolic effect, not yet described in other series, which should be monitored during treatment.

Keywords: Cushing's disease, Cushing's syndrome, Hypercortisolism, Treatment, Ketoconazole

Introduction

Cushing's disease (CD) results from a pituitary tumor that secretes adrenocorticotrophic hormone (ACTH), which leads to chronic hypercortisolism. It is a potentially fatal disease with high morbidity and a mortality rate of up to 3.7 times than that of the general population (1–4) associated to several clinical metabolic disorders caused by excess cortisol and/or loss of circadian rhythm (5). In general, its management is a challenge even in reference centers (6, 7).

Transsphenoidal surgery (TSS), the treatment of choice for CD, results in short-term remission in 60 to 80% of patients (8). However, recurrence rates of 20 to 30% are found in long-term follow-up, even in those with clear initial remission (9). Drug therapies can help control excess cortisol in patients without initial remission, in cases of recurrence, and in those with contraindications or high initial surgical risk (10).

Nevertheless, specific drugs that act on the pituitary adenoma, which could directly treat excess ACTH, have a limited effect, and only pasireotide is approved for this purpose in Brazil (11, 12). In this scenario, adrenal steroidogenesis blockers are important. One such off-label medication is the antifungal drug ketoconazole, a synthetic imidazole derivative that inhibits the enzymes CYP11A1, CYP17, CYP11B2, and CYP11B1. Because of its hepatotoxicity and the availability of other drugs, it has been withdrawn from the market in several countries (13). In Europe, it is still approved for use in CD, although in the United States, it is recommended for off-label use almost in CD (14–16). Due to the potential benefits for hypercortisolism, ketoconazole has been replaced by levoketoconazole, which the European Union has recently approved

for CD with a lower expected hepatotoxicity (17).

Thus, when adrenal inhibitors are used as an alternative treatment for CD, information about the outcomes of drugs such as ketoconazole are important. Clinical studies on these effects in CD are scarce, mostly retrospective, multicenter, or from developed countries (14, 18). A recent meta-analysis on the therapeutic modalities for CD included only four studies (246 patients) that evaluated urinary cortisol response as a treatment outcome and eight studies (366 patients) describing the prevalence of some side effects: change in transaminase activity, digestive symptoms, skin rash, and adrenal insufficiency. Hypokalemia was not mentioned in this meta-analysis (19).

The objective of this study was to evaluate the safety profile of and treatment response to ketoconazole in CD patients followed during a long term in the endocrinology outpatient clinic of a Brazilian university hospital.

Patients and Methods

1.1. Patients

We retrospectively evaluated 38 patients (27 women) diagnosed with CD. These patients, whose treatment included ketoconazole at any time between 2004 and 2020, are part of a prospective cohort series from the Hospital de Clínicas de Porto Alegre neuroendocrinology outpatient clinic.

The diagnostic criteria for hypercortisolism were based on high 24-h urinary free cortisol levels (24-h UFC) in at least two samples, non-suppression of serum cortisol after low-dose dexamethasone testing ($>1.8 \mu\text{g/dl}$), and/or loss of cortisol rhythm

(midnight serum cortisol >7.5 $\mu\text{g}/\text{dl}$ or midnight, salivary cortisol >0.208 nmol/L). CD was diagnosed by normal or elevated ACTH levels, evidence of pituitary adenoma >0.6 cm on magnetic resonance image (MRI), and ACTH central/ periphery gradient on inferior petrosal sinus catheterization when MRI was normal or showed an adenoma <0.6 cm.

CD was considered to be in remission after the improvement of hypercortisolism symptoms or clinical signs of adrenal insufficiency, associated with serum cortisol within reference values, normalization of 24-h UFC and/or serum cortisol <1.8 mg/dl at 8 am after 1 mg dexamethasone overnight, and/or normalization of midnight serum or salivary cortisol. In patients with active disease, to evaluate the ketoconazole treatment response, 24-h UFC was used as a laboratory parameter, as recommended in similar publications (14, 16, 20, 21), but in some cases, we considered elevated late night salivary cortisol and/or 1 mg dexamethasone overnight cortisol (even with normal 24-h UFC), given the greater assessment sensitivity seen through these two methods in the detection of early recurrence when compared with 24-h UFC (22).

1.1.1. Inclusion criteria:

We included patients with CD and active hypercortisolism who used ketoconazole either as primary treatment, after TSS without hypercortisolism remission, or after a recurrence.

1.1.2. Exclusion criteria:

We excluded patients with CD and active hypercortisolism who used

ketoconazole but had <7 days of follow-up, irregular outpatient follow-up, treatment non-adherence, and incomplete medical records or those who were lost to follow-up.

1.2. Evaluated parameters

Prior to ketoconazole treatment, all patients underwent an assessment of pituitary function and hypercortisolism, including serum cortisol, ACTH, 24-hour UFC, cortisol suppression after 1 mg dexamethasone overnight, midnight serum cortisol, and/or midnight salivary cortisol. The evaluated parameters were sex, age at diagnosis, weight, height, prevalence and severity of hypertension and DM, pituitary tumor characteristics, prior treatment (surgery, radiotherapy, or other medications), symptoms at disease onset, biochemical tests (renal function, hepatic function, and lipid profile), number of medications used to treat associated comorbidities, data on medication tolerance, and reasons for discontinuation, when necessary.

The clinical parameters observed during treatment were control of blood pressure and hyperglycemia, anthropometric measurements (weight, height, and body mass index), jaundice, and any other symptoms or adverse effects reported by patients.

The biochemical evaluation included fasting glucose, glycated hemoglobin, lipid profile (total cholesterol, high density lipoprotein, low-density lipoprotein, and triglycerides), markers of liver damage (transaminases, bilirubin, gammaglutamyl transferase, and alkaline phosphatase), electrolytes (sodium and potassium), and renal function (creatinine and urea). Hypercortisolism was assessed preferentially by 24-h

UFC, however, late-night salivary cortisol and cortisol after 1 mg overnight dexamethasone could also be used.

1.3. Study design

This retrospective cohort study included patients with CD who were followed up at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre Endocrinology Division, with their medical records from the first outpatient visit and throughout clinical follow-up collected. This study was approved by the Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Research Ethics Committee (number 74555617.0.0000.5327).

1.4. Outcomes

Hypocortisolism was considered controlled when the 24-h UFC and/or late-night salivary cortisol (LNSC) and/or overnight 1 mg dexamethasone suppression test (DST) levels were normalized in at least two consecutive assessments. Hypocortisolism was considered partially controlled when there was a 50% over-reduction in 24-h UFC and/or LNSC and/or DST levels but still above normal. A reduction lower than 50% in these parameters was considered as non-response. We also assessed the ketoconazole doses that resulted in 24-h UFC normalization, maximum dose, medication tolerance, adverse effects, and changes in liver, kidney, and biochemical function. Due to the characteristics of this study, these outcomes were periodically evaluated in all patient consultations, which occurred usually every 2 to 4 months.

1.5. Data collection

This retrospective cohort evaluated outpatient medical records and any tests indicated by the attending physician as a pragmatic study. Ketoconazole use followed the department's care protocol, which is based on national and international guidelines (4), and all patients received a similar care routine: the recommended initial prescription was generally taken in two to six doses at 100 to 300 mg/day. It was then increased by 200 mg every 2 to 4 months until hypercortisolism was controlled or side effects developed, especially those related to liver function. The maximum prescription was 1,200 mg/day. Clinical follow up of these patients was performed 30 days after starting the medication and every 2–4 months thereafter (23).

Clinical, anthropometric, laboratory, and other exam data were collected through a review of the hospital's electronic medical records for the entire follow-up period. Data from first and last consultation were considered in the final analysis of all parameters.

1.6. Statistical analysis

Baseline population characteristics were described as mean and standard deviation (SD) or median with interquartile ranges (25–75) for continuous variables. The chi-square test was used to compare qualitative variables, and Student's t-test or ANOVA was used to compare the quantitative variables. The Mann–Whitney U-test was used for unpaired data. P-values <0.05 were considered significant. Statistical analysis was performed in SPSS 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) and R package geepack 1.3-1.

Results

Treatment with ketoconazole was indicated for 41 of the 172 CD patients. In 3/41 patients, ketoconazole was unallowed due to concomitant liver disease, and 38 received ketoconazole during CD treatment between 2004 and 2020. Of these, five were excluded due to insufficient data to determine the response to ketoconazole (short treatment time, irregular follow-up, incomplete medical records, or lost to follow-up). The baseline characteristics of every sample are shown in Table 1. Thus, 33/41 patients were included in the final analysis. The patients were predominantly women (84.2%) and white (89.5%); 11 had microadenoma, 15 had macroadenoma, and 11 had no adenoma visualized. In 12/33 patients, pituitary imaging was not performed immediately before starting ketoconazole. Hypertension was observed in 26 patients (78%) and DM in 12 patients (36%). The mean age at CD diagnosis was 31.7 years.

Of the 33 patients with complete data, 26 (78%) underwent TSS prior to starting ketoconazole, five of whom (15%) had also undergone radiotherapy. Thus, seven patients used ketoconazole as primary treatment since performing a surgical procedure was impossible at that time. Of these, four had no response to ketoconazole, one had a partial response, and two had a complete response. At follow-up, four of these patients underwent their first TSS, and three continued the ketoconazole therapy, achieving full UFC control. Among those who used ketoconazole after TSS ($n = 26$), 20 had a complete response, two had a partial response, and four had no response. Figure 1 shows the study flow chart and patient distribution throughout the treatment.

Individual patient data are described in Table 2. The duration of ketoconazole use ranged from 14 days (in one patient who used it pre-TSS) to 14.5 years. The total follow-up time of the 22 patients with controlled CD ranged from 3 months to 14.5 years, with a mean of 5.33 years and a median of 4.8 years.

Therapeutic response:

Relative therapeutic response data are described in Table 3. Patients whose hypercortisolism was controlled or partially controlled with ketoconazole had lower baseline 24-h UFC than the uncontrolled group [times above the upper limit of normal: 0.62 (SD, 0.41) vs. 5.3 (SD, 8.21); $p < 0.005$, respectively], in addition to more frequent prior TSS ($p < 0.04$). In some patients (4/33), 24-h UFC was in the normal range at the beginning of ketoconazole therapy, but they were prescribed with the medication due to the clinical recurrence of CD associated to cortisol non-suppression after 1 mg dexamethasone overnight and/or abnormal midnight salivary or serum cortisol.

Figure 2 shows that the prevalence of uncontrolled patients remained stable over time (approximately 30%) despite dose adjustments or association with other drugs, which led to no differences. When analyzing only the results of the last follow-up visit (eliminating fluctuations during follow-up), 22 patients had a complete response (66%), three patients had a partial response (9%), and eight patients had no response to ketoconazole treatment (24%), which includes patients who underwent radiotherapy during ketoconazole treatment.

During follow-up, no significant differences were found in blood pressure control or in dehydroepiandrosterone sulfate, cortisol, ACTH, or glucose levels. Worsening of

hypertension control was observed in association with hypokalemia in some cases, as described in side effects. The ketoconazole doses ranged from 100 to 1,200 mg per day, and there were no significant dose or response differences between the groups (Table 4).

Figure 3 shows the patients, their dosages, and 24-h UFC control at the first and last consultation, showing a trend toward hypercortisolism reduction in approximately 70% of the cohort (25 of 33). Only four patients used doses lower than 300 mg at the end of follow-up. One of them used before TSS and suspended its use after surgery. One patient, who has already undergone radiotherapy, discontinued ketoconazole due to intolerance, despite adequate control of hypercortisolism. Another one, who had also undergone radiotherapy, was lost to follow-up when it was controlled using 100 mg daily, and one remained controlled using 200 mg, without previous radiotherapy.

Side effects:

Regarding adverse effects (Table 5), there was no significant difference between the controlled/partially controlled group and the uncontrolled group regarding liver enzyme changes or drug intolerance. Mild adverse effects, including nausea, vomiting, dizziness, and loss of appetite, occurred in 10 patients (30%). Only four patients had serious adverse effects that warranted discontinuing the medication. In two cases, ketoconazole was discontinued due to a significantly acute increase in liver enzymes (drug-induced hepatitis) during the use of 400 and 800 mg of ketoconazole. Non-significant elevation of transaminases (up to three times the normal value) was observed in three cases. A slight increase in gammaglutamyltransferase occurred in six

patients. In these nine patients with elevated liver markers, the daily dose ranged from 400 to 1,200 mg. None of those with mild increases in liver markers needed to discontinue ketoconazole.

One female patient developed pseudotumor cerebri syndrome, which was treated with acetazolamide. She did not need to discontinue ketoconazole, having used it for more than 10 years without new side effects and achieving complete control of hypercortisolism (24). Another patient became pregnant during follow-up while using the medication, but no maternal or fetal complications occurred (25).

Hypokalemia was also observed during follow-up. Twenty episodes of reduced potassium levels occurred in 10 patients over the course of treatment. Of these episodes, six occurred in controlled patients, three in partially controlled patients, and 11 in uncontrolled patients (Table 6). The hypokalemia was managed with spironolactone (25 to 100 mg) and oral potassium supplementation.

Ketoconazole and associations:

Of the patients who used an association of cabergoline and ketoconazole, one did so since the beginning of follow-up, while another nine were prescribed cabergoline during follow-up due to non-response to ketoconazole alone. Of these 10 patients, two did not start the medication due to problems in obtaining the drug. Thus, in two of the nine patients on the maximum tolerated dose of ketoconazole or who could not tolerate a higher dose due to hepatic enzymatic changes, 1.5–4.5 mg of cabergoline per week was associated. In patients not controlled with ketoconazole plus cabergoline, mitotane (two patients) or pasireotide (two patients) was added. Only two of nine patients

responded to the combination of cabergoline and ketoconazole. Data on these associations are shown in Table 7.

Considering that one of the indications for the treatment of hypercortisolism may be complementary to radiotherapy, we analyzed the eight patients who underwent radiotherapy after transsphenoidal surgery. In these patients, doses of ketoconazole from 200 to 1,200 mg were used, and in six patients there was a normalization of the UFC in 1 to 60 months of treatment. Thus, the association of ketoconazole with radiotherapy was effective in normalizing the 24-h UFC in 75% of cases.

Clinical follow-up:

New therapeutic approaches were attempted in some patients during follow-up: radiotherapy (eight patients), new TSS (five patients), and bilateral adrenalectomy (four patients). At the end of this analysis, 11 patients remained on ketoconazole, all with controlled hypercortisolism. Among the 11 patients who were not fully controlled by the last visit, five were using ketoconazole as pre-TSS therapy and underwent TSS as soon as possible, while three others underwent radiotherapy and two underwent bilateral adrenalectomy. One patient was lost to follow-up.

Discussion

According to the current consensus about CD, drug treatment should be reserved for patients without remission after TSS, those who cannot undergo surgical treatment, or those awaiting the effects of radiotherapy (4, 16). Drugs available in this context may act as adrenal steroidogenesis blockers (ketoconazole, osilodrostat,

metyrapone, mitotane, levoketoconazole, and etomidate), in pituitary adenoma (somatostatinergic receptor ligands—pasireotide), dopamine receptor agonists (cabergoline), or glucocorticoid receptor blockers (mifepristone) (16, 26). Among these alternatives, the drug of choice still cannot be determined. Thus, the best option must be established individually, considering aspects such as remission potential, safety profile, availability, cost, etc. (16, 27, 28).

For over 30 years, ketoconazole has been prescribed off-label for CD patients with varied rates of remission of hypercortisolism, and it can be used in monotherapy or associated with other drugs (29, 30). The Brazilian public health system does not provide drugs for the treatment of CD, and among medications with a better profile for controlling hypercortisolism, such as osilodrostat, levoketoconazole, and pasireotide, only pasireotide has been approved by the national regulatory authority (ANVISA). Due to such pragmatic considerations, ketoconazole is among the most commonly used drugs in our health system, whether recently associated or not with cabergoline (7).

In this cohort, the most prevalent response type was complete (66%). Since 75% of the CD patients who used ketoconazole had a complete or partial response, there was a clear trend towards improvement in hypercortisolism. When only those who used ketoconazole post-TSS were evaluated, the rate of control increased to 76%. We found that patients with a higher initial 24-h UFC tended to have less control of excess cortisol, a difference that was not observed when analyzing ketoconazole dose or follow-up time.

In our series and at the prescribed doses, the combination of cabergoline and ketoconazole was not effective in the management of hypercortisolism since only two of

nine patients (22%) had their 24-hour UFC normalized. However, it should be observed that this association was used in patients who had more severe CD and, consequently, were less likely to have a favorable response. The effects of cabergoline in CD patients remain controversial, although some studies have shown promising responses (31, 32).

Previous reviews found that the efficacy of ketoconazole for hypercortisolism control was quite heterogeneous, ranging from 14 to 100% in 99 patients (33, 34). Our cohort's response rate was lower than that of Sonino et al. (89%) (20) but higher than that of a multicenter cohort by Castinetti et al. (approximately 50%) (14). Regarding other smaller series (35–37) our results reinforce some findings that demonstrate a percentage of control greater than 50% of the cases.

Our analyses showed a trend toward a response that continued, with some oscillations, over time. The rate of uncontrolled patients remained stable over time (approximately 30%), regardless of association with other drugs (cabergoline, mitotane, or pasireotide) or dose adjustments. Speculatively, it would appear that patients who respond to ketoconazole treatment would show some type of response as soon as therapy begins.

Our cohort has the longest follow-up time of any study on ketoconazole use in CD, nearly 15 years. Our results demonstrate that patients who benefit from ketoconazole (i.e., control of hypercortisolism and associated comorbidities) can safely use it for a long term since those who did not experience liver enzyme changes at the beginning of treatment also had no long-term changes.

Another relevant information for clinical practice is the result of treatment with ketoconazole associated with radiotherapy, which demonstrated normalizing the 24-h

UFC in 75% of cases, a finding that reinforces the use of this therapeutic combination, especially in cases that are more resistant to different treatment modalities.

As described in the literature, adverse effects, such as nausea, vomiting, dizziness, headache, loss of appetite, and elevated transaminases, are relatively frequent (38). In our cohort, 10 patients (30%) had mild adverse effects, and four (12%) had more serious adverse effects requiring discontinuation. In other studies, up to 20% of patients required discontinuation due to side effects (14). We documented 20 episodes of hypokalemia during ketoconazole treatment, some with worsening blood pressure control. In most cases, hypokalemia has occurred in association with the use of diuretic drugs, which may have potentiated potassium spoliation, reinforcing the need of stringent surveillance in hypertensive Cushing's disease patients using this combination. It can also result from the enzymatic blockade that could lead to the elevation of adrenal mineralocorticoid precursors (pex. deoxycorticosterone), with consequent sodium retention and worsening hypertension.

Although it has not been analyzed in other series with ketoconazole, this side effect has been observed in patients who received other adrenal-blocking drugs, such as osilodrostat and metyrapone (16). This alteration seems to be transient in some patients; in our series, it was managed by suspending drugs that could worsen hypokalemia and introducing spironolactone and/or potassium supplementation. Hypokalemia may also result from continuing intense adrenal stimulation by ACTH and changes in the activity of the 11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase enzyme, which increase the mineralocorticoid activity of cortisol, as observed in patients with severe hypercortisolism in uncontrolled CD (39). Hypogonadism occurred in one male patient.

In two adolescent patients (one female and one male), hypercortisolism was effectively controlled without altering the progression of puberty. As described in other cohorts, this effect was expected due to the high doses, which block adrenal and testicular androgen production (20).

Thus, our findings confirm previous reports in the literature and add important information about the side effects and safety of long-term ketoconazole use in CD treatment. Our data reinforce the current recommendations about ketoconazole for recurrent cases or those refractory to surgery, including proper follow-up by an experienced team specializing in evaluating clinical and biochemical responses and potential adverse effects (7, 18, 40). Despite the severity of many of our CD patients, no ketoconazole-related death occurred during follow-up, including long-term observation. On the other hand, no patient progressed to definitive remission of hypercortisolism, even after many years of treatment with ketoconazole.

Conclusions

In our cohort of patients, ketoconazole proved to be an effective and safe alternative for CD treatment, although it can produce side effects that require proper identification and management, allowing effective long-term treatment. We found side effects that have been rarely described in the literature, including hypokalemia and worsening hypertension, which require specific care and management. Thus, ketoconazole is an effective alternative for CD patients who cannot undergo surgery, who do not achieve remission after pituitary surgery, or who have recurrent hypercortisolism.

References

1. Fleseriu M, Castinetti F. Updates on the role of adrenal steroidogenesis inhibitors in cushing's syndrome: a focus on novel therapies. *Pituitary* (2016) 19 (6):643–53. doi: 10.1007/s11102-016-0742-1
2. Pivonello R, De Leo M, Cozzolino A, Colao A. The treatment of cushing's disease. *Endocr Rev* (2015) 36(4):385–486. doi: 10.1210/er.2013-1048
3. Nieman LK, Biller BMK, 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. doi: 10.1210/jc.2008-0125
4. Nieman LK, Biller BMK, 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. doi: 10.1210/jc.2015-1818
5. Pivonello R, De Martino M, De Leo M, Lombardi G, Colao A. Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab Clin North* (2008) 37(1):135–49. doi: 10.1016/j.ecl.2007.10.010
6. Alexandraki KI, Grossman AB. Therapeutic strategies for the treatment of severe cushing's syndrome. *Drugs* (2016) 76(4):447–8. doi: 10.1007/s40265-016-0539-6
7. Machado MC, Fragoso MCBV, Moreira AC, Boguszewski CL, Neto LV, Naves LA, et al. A review of cushing's disease treatment by the department of neuroendocrinology of the Brazilian society of endocrinology and metabolism.

- Arch Endocrinol Metab (2018) 62(1):87–105. doi: 10.20945/2359-3997000000014
8. Rollin G, Ferreira NP, Czepielewski MA. Prospective evaluation of transsphenoidal pituitary surgery in 108 patients with Cushing's disease. Arq Bras Endocrinol Metabol. (2007) 51(8):1355–61. doi: 10.1590/s0004-27302007000800022
 9. Patil CG, Prevedello DM, Lad SP, Lee Vance M, 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. doi: 10.1210/jc.2007-2013
 10. Rubinstein G, Osswald A, Zopp S, Ritzel K, Theodoropoulou M, Beuschlein F, et al. Therapeutic options after surgical failure in cushing's disease: A critical review. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab (2019) 33(2):101270. doi: 10.1016/j.beem.2019.04.004
 11. Zhao N, Yang X, Li C, Yin X. Efficacy and safety of pasireotide for Cushing's disease: A protocol for systematic review and meta-analysis. Medicine (Baltimore). (2020) 99(51):e23824. doi: 10.1097/MD.00000000000023824
 12. Pivonello R, Fleseriu M, Newell-Price J, Bertagna X, Findling J, Shimatsu A, et al. Efficacy and safety of osilodrostat in patients with cushing's disease (LINC 3): a multicentre phase III study with a double-blind, randomised withdrawal phase. Lancet Diabetes Endocrinol (2020) 8(9):748–61. doi: 10.1016/S2213-8587(20)30240-0
 13. Yan JY, Nie XL, Tao QM, Zhan SY, De Zhang Y. Ketoconazole associated hepatotoxicity: A systematic review and meta-analysis. Biomed Environ Sci

- (2013) 26(7):605–10. doi: 10.3967/0895-3988.2013.07.013
14. Castinetti F, Guignat L, Giraud P, Muller M, Kamenicky P, Drui D, et al. Ketoconazole in cushing's disease: Is it worth a try. *J Clin Endocrinol Metab* (2014) 99(5):1623–30. doi: 10.1210/jc.2013-3628
 15. Castinetti F, Nieman LK, Reincke M, Newell-Price J. Approach to the patient treated with steroidogenesis inhibitors. *J Clin Endocrinol Metab* (2021) 106(7):2114–23. doi: 10.1210/clinem/dgab122
 16. Fleseriu M, Auchus R, Bancos I, Bem-Shlomo A, Bertherat J, Biermasz NR, et al. Consensus on diagnosis and management of cushing's disease: a guideline update. *Lancet Diabetes Endocrinol* (2021) 9(12):847–75. doi: 10.1016/s2213-8587(21)00235-7
 17. Fleseriu M, Pivonello R, Elenkova A, Salvatori R, Auchus RJ, Feelders RA, et al. Efficacy and safety of levoketoconazole in the treatment of endogenous cushing's syndrome (SONICS): a phase 3, multicentre, open-label, single-arm trial. *Lancet Diabetes Endocrinol* (2019) 7(11):855–65. doi: 10.1016/S2213-8587(19)30313-4
 18. Tritos NA. Adrenally directed medical therapies for cushing syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* (2021) 106(1):16–25. doi: 10.1210/clinem/dgaa77
 19. Simões Corrêa Galendi J, Correa Neto ANS, Demetres M, Boguszewski CL, dos S V. N. nogueira, "Effectiveness of medical treatment of cushing's disease: A systematic review and meta-analysis, ". *Front Endocrinol (Lausanne)* (2021) 12:732240(September). doi: 10.3389/fendo.2021.732240
 20. Sonino N, Boscaro M, Paoletta A, Mantero F, Zilotto D. Ketoconazole treatment

- in cushing's syndrome: experience in 34 patients. *Clin Endocrinol (Oxf)* (1991) 35(4):347–52. doi: 10.1111/j.1365-2265.1991.tb03547.x
21. Costenaro F, Rodrigues TC, Rollin GAF, Czepielewski MA. Avaliação do eixo hipotálamohipófise adrenal no diagnóstico e na remissão da doença de cushing. *Arquivos Brasileiros Endocrinologia e Metabologia* (2012). doi: 10.1590/S0004-27302012000300002
22. 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. doi: 10.1210/jc.2015-2107
23. Silveiro SP, Satler F. *Rotinas em endocrinologia*. (Porto Alegre: Artmed) (2015).
24. Costenaro F, Rodrigues TC, Ferreira NP, da Costa TG, Schuch T, Boschi V, et al. Pseudotumor cerebri during cushing's disease treatment with ketoconazole. *Arq. Bras Endocrinol Metabol* (2011). doi: 10.1590/s0004-27302011000400008
25. Costenaro F, Rodrigues TC, De Lima PB, Rusczyk J, Rollin G, Czepielewski MA. A successful case of cushing's disease pregnancy treated with ketoconazole. *Gynecol Endocrinol* (2015) 31(3):176–8. doi: 10.3109/09513590.2014.995615
26. Gadelha MR, Neto LV. Efficacy of medical treatment in cushing's disease: A systematic review. *Clin Endocrinol (Oxf)* (2014) 80(1):1–12. doi: 10.1111/cen.12345
27. Fleseriu M, Petersenn S. New avenues in the medical treatment of cushing's disease: Corticotroph tumor targeted therapy. *J Neurooncol* (2013) 114(1):1–11.

- doi: 10.1007/s11060-013-1151-1
28. Fleseriu M, Petersenn S. Medical management of cushing's disease: What is the future? *Pituitary* (2012) 15(3):330–41. doi: 10.1007/s11102-012-0397-5
 29. Feelders RA, De Bruin C, Pereira AM, Romijn JÁ, Netea-Maier RT, Hermus AR, et al. Pasireotide alone or with cabergoline and ketoconazole in cushing's disease. *N Engl J Med* (2010) 362(19):1846–8. doi: 10.1056/NEJMc1000094
 30. Barbot M, Albiger N, Ceccato F, Zilio M, Frigo AC, Denaro Lc, et al. Combination therapy for cushing's disease: Effectiveness of two schedules of treatment. should we start with cabergoline or ketoconazole? *Pituitary* (2014) 17 (2):109–17. doi: 10.1007/s11102-013-0475-3
 31. Vilar L, Naves LA, Azevedo MF, Arruda MJ, Arahata CM, Silva LM, et al. Effectiveness of cabergoline in monotherapy and combined with ketoconazole in the management of cushing's disease. *Pituitary* (2010) 13(2):123–9. doi: 10.1007/s11102-009-0209-8
 32. Pivonello R, De Martino MC, Cappabianca P, De Leo M, Faggiano A, Lombardi G, et al. The medical treatment of cushing's disease: Effectiveness of chronic treatment with the dopamine agonist cabergoline in patients unsuccessfully treated by surgery. *J Clin Endocrinol Metab* (2009) 94(1):223–30. doi: 10.1210/jc.2008-1533
 33. Castinetti F, Morange I, Jaquet P, Conte-Devolx B, Brue T. Ketoconazole revisited: A preoperative or postoperative treatment in cushing's disease. *Eur J Endocrinol* (2008). doi: 10.1530/EJE-07-0514
 34. Loli P, Berselli ME, Tagliaferri M. Use of ketoconazole in the treatment of

- cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* (1986) 63(6):1365–71. doi: 10.1210/jcem-63-6-1365
35. Kakade HR, Kasaliwal R, Khadilkar KS, Jadhav S, Bukan A, Khare Sc, et al. Clinical, biochemical and imaging characteristics of cushing's macroadenomas and their long-term treatment outcome. *Clin Endocrinol (Oxf)* (2014) 81(3):336–42. doi: 10.1111/cen.12442
36. Luisetto G, Zangari M, Camozzi V, Boscaro M, Sonino N, Fallo F. Recovery of bone mineral density after surgical cure, but not by ketoconazole treatment, in cushing's syndrome. *Osteoporos Int* (2001) 12(11):956–60. doi: 10.1007/s001980170025
37. Huguet I, AguirreM, Vicente A, AlramadanM, Quiroga I, Silva J, et al. Assessment of the outcomes of the treatment of cushing's disease in the hospitals of castilla-la mancha. *Endocrinol y Nutr* (2015) 62(5):217–23. doi: 10.1016/j.endonu.2015.02.007
38. Tritos NA, Biller BMK. Advances in the medical treatment of cushing disease. *Endocrinol Metab Clin North Am* (2020) 49(3):401–12. doi: 10.1016/j.ecl.2020.05.003
39. Torpy D, Mullen N, Ilias I, Nieman L. Association of hypertension and hypokalemia with cushing's syndrome caused by ectopic ACTH secretion. *Ann N Y Acad Sci* (2002) 970:134–44. doi: 10.1111/j.1749-6632.2002.tb04419.x.
40. Varlamov EV, Han AJ, Fleseriu M. "Updates in adrenal steroidogenesis inhibitors for cushing's syndrome – a practical guide,". *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* (2021) 35(1):101490. doi: 10.1016/j.beem.2021.101490

Tables

Table 1: Baseline clinical data of Cushing's disease patients treated with ketoconazole

Variable	Total n=38 (%)
Sex (F/M)	32/6 (84.2/15.8%)
Age (years)	31.7 (11-51)
Ethnicity (White/Non-White)	34/4 (89.5/10.5%)
Facial plethora	22 (57.9%)
Diabetes Mellitus	12 (36%)
Hypertension	26 (78%)
Purpuric striae	21 (55.3%)
Acne	11 (28.9%)
Proximal weakness	19 (50%)
Supraclavicular fat	17 (44.7%)
"Buffalo hump"	22 (57.9%)
Psychiatric illness	12 (31.6%)
Microadenoma	11 (28,94%)
Macroadenoma	15 (39,47%)
Normal RM	11 (28,94%)
Unavailable	1 (2,63%)

Table 2. Individual data

ID	Sex	Time (Months)	Prior TSS	Prior RDT	Dose variation (mg)*	Daily doses	Baseline ACTH	Baseline X > ULN UFC	Final X > ULN UFC	Final therapeutic response	Comorbidities	Altered liver function	Regular use	Intolerance/adverse effects	Outcome
1	F	42	Yes	No	400-600	3	41	0.13	0.4	Complete	SAH and DM	No	Yes	No	Continued use
2	F	7	Yes	Yes	100-200	2	88	1	0.79	Complete	SAH	No	Yes	Yes, nausea	Interrupted due to intolerance
3	F	5	No, pre-TSS use	No	200-400	2		5.4	0.39	Partial	SAH	Yes - drug hepatitis	Yes	Yes, hepatitis	Interrupted due to drug hepatitis
4	F	120	No	No	200-800	4	76	2.92	0.8	Complete	-	No	Yes	Yes	Pseudotumor cerebri resolved with acetazolamide
5	F	126	Yes	No	150-1000	4 to 5	129	0.05	-0.36	Complete	Dyslipidemia	No	Yes	No	Continued use
6	F	90	Yes	No	300-1000	4 to 5	26	3.9	-0.7	Complete	SAH and DM	No	Yes	No	Underwent radiotherapy
7	F	63	Yes	No	400-1000	3	148	5.8	-0.46	Complete	SAH	No	Yes	No	Underwent radiotherapy
8	F	26	No, pre-TSS use	No	600-800	4	106	2.56	0.39	No response	SAH and DM	No	Yes	No	Underwent TSS
9	F	81	Yes	No	600-1200	5	24	22.2	5.68	No response	SAH	No	Yes	Yes	Underwent bilateral adrenalectomy
10	F	86	Yes	No	400-1200	4 to 5	65	0.72	-0.47	Complete	-	Important and isolated elevation of GGT	Yes	No	Underwent new TSS
11	F	51	Yes	No	400-800	2	48	-0.68**	-0.8	Complete	SAH and dyslipidemia	Discrete and isolated elevation of GGT	Yes	No	Continued use
12	F	14 days	No	No	600	3	121	4.3	3.5	No response	SAH and DM	No	Yes	No	Underwent TSS
13	F	15	Yes	No	600-800	4	50	0.1	-0.06	Complete	SAH, DM and dyslipidemia	Discrete and isolated elevation of GGT	No	No	Continued use
14	F	85	Yes	No	200-800	4	37	2.11	-0.38	No response	SAH	Elevation of TGO and GPT, discontinued medication	Yes	Yes	Underwent radiotherapy
15	F	119	Yes	No	600-1200	4 to 5	40	2.31	1.3	Partial	SAH, DM and dyslipidemia	Discrete and isolated elevation of GGT	Yes	No	Underwent radiotherapy
16	F	14	Yes	Yes	600	3	300	0.27	-0.06	Partial	SAH and dyslipidemia	No	Yes	No	Underwent bilateral adrenalectomy
17	M	29	Yes	No	400-600	3	54	1.62	-0.6	Complete	-	No	Yes	Yes, loss of appetite	Ketoconazole suspended due to loss of appetite
18	F	5	Yes	No	400	2	65	-0.08**	-0.8	Complete	SAH and DM	Discrete and isolated GGT	Yes	No	Underwent radiosurgery

															uptake
19	M	42	No, pre-TSS use	No	400-1200	2 to 6	51	3.67	2.8	No response	SAH	Discrete elevation of TGO and GGT	No	No	Underwent TSS
20	F	6	Yes	No	400	2	115	3.9	2	No response	-	No	Yes	No	Lost to follow-up
21	F	125	Yes	Yes	400-1000	3 to 5	84	1.34	-0.02	Complete	SAH	No	Yes	Yes, diarrhea	Underwent bilateral adrenalectomy
22	M	34	Yes	Yes	100	2		0.3	-0.8	Complete	SAH, DM and dyslipidemia	No	Yes	No	Lost to follow-up
23	F	53	Yes	No	200-600	2 to 4	61	1.19	-0.6	Complete	SAH and DM	No	Yes	Yes, dizziness	Continued use
24	M	3	Yes	No	600	3	1,696	34	0.8	Complete	SAH	No	Yes	No	Underwent bilateral adrenalectomy
25	F	133	Yes	No	400	2	89	0.4	-0.8	Complete	SAH	No	Yes	No	Continued use
26	F	23	Yes	No	200-800	2 to 4	57	0.53	-0.08	No response	-	No	Yes	No	Underwent Radiosurgery
27	F	38	No, pre-TSS use	No	400-600	2 to 3	102	4.1	-0.3	Complete	SAH and DM	No	Yes	Yes, dizziness and loss of appetite	Continued use
28	M	111	Yes	No	400-1200	3 to 4	75	3.9	-0.8	Complete	SAH	Discrete elevation of TGO, GPT, and GGT	Yes	Yes, nausea	Underwent radiotherapy
29	F	8	No, pre-TSS use	No	300	3	92	2.2	0.8	No response	SAH	No	Yes	No	Underwent TSS
30	F	132	Yes	No	200-400	2 to 3	20	-0.2**	-0.5	Complete	SAH, DM and dyslipidemia	No	Yes	No	Continued use
31	F	40	Yes	No	400-800	2 to 3	21	0.7	-0.99	Complete	SAH and DM	No	Yes	No	Continued use
32	F	64	Yes	No	400-800	2 to 4	41	-0.7**	-0.6	Complete	-	Discrete and isolated elevation of GGT	Yes	No	Underwent Radiotherapy
33	F	173	Yes	Yes	400-800	2 to 4	40	0.05	-0.5	Complete	SAH	No	No	No	Pregnancy; continued using ketoconazole without complications.

RDT: radiotherapy; DM: Diabetes mellitus; GGT: Gamma glutamyl transferase; SAH: Systemic arterial hypertension; TGO: oxaloacetic transaminase ; GPT: glutamate-pyruvate transaminase; TSS: Transsphenoidal surgery ; ULN: Upper limit of normal

* The highest dose used was not necessarily the final dose used.

** In these patients, the criterion used to consider active hypercortisolismo was late night salivary cortisol and/or elevated 1 mg dexamethasone overnight.

Table 3. Baseline characteristics of Cushing's disease patients according to therapeutic response to ketoconazole

	Controlled/partially controlled		Uncontrolled	p
Sex (F/M)	17/8 (68/32%)		7/1 (87.5/12.5%)	0.2281
Initial UFC (Times > ULN)	0.62 ± 0.41 (-0.71–0.73)		5.3 ± 8.21 (-0.14–34)	<0.005
Final UFC (Times > ULN)	-0.48 ± 0.55 (-0.99–1.3)		5.13 ± 6.58 (-0.09–19.9)	<0.005
ACTH	83.6 ± 81.8 (20–300)		172.3 ± 408.2 (1–1696)	0.635
Basal cortisol	18.8 ± 9.5 (8.1–43)		26.5 ± 12.39 (5.8–47)	0.092
BMI	34.5 ± 7.6 (25.8–48)		31.3 ± 6.5 (23.6–50.4)	0.268
Final dose	468 ± 314 (0–1000)		562 ± 184 (300–800)	0.576
Fasting blood glucose	111.5 ± 39.9 (69–177)		120.7 ± 46.4 (77–219)	0.881
Prior TSS (Y/N)	22/3 (88/12%)		4/4 (50/50%)	0.043
RDT (Y/N)	9/16 (36/64%)		2/6 (25/75%)	0.56
Regular use (Y/N)	23/2 (92/8%)		6/2 (75/25%)	0.2

ACTH: adrenocorticotrophic hormone; TSS: transsphenoidal surgery; RDT: radiotherapy; UFC: urinary free cortisol; ULN: Upper limit of normal

Table 4. Final dose of ketoconazole used in patients with Cushing's disease

Final dose	Controlled/	
	partially controlled	Uncontrolled
≤ 100 mg	1 (4%)	0
200 mg	2 (8%)	0
300 mg	0	1 (12.5%)
400 mg	6 (24%)	2 (25%)
600 mg	9 (36%)	3 (37.5%)
800 mg	6 (24%)	2 (25%)
1000 mg	1 (4%)	0

Table 5. Adverse effects of ketoconazole in Cushing's disease patients treated with ketoconazole

	Controlled/partially controlled	Uncontrolled	p
AST	70 ± 230 (12–1128)	59 ± 90 (15–244)	0.608
ALT	97 ± 341 (16–1665)	112 ± 214 (17–550)	0.871
Intolerance (Y/N)	3/22 (12/88%)	1/7% (12.5–87.5%)	0.97

AST: aspartate transaminase; ALT: alanine aminotransferase

Table 6. Characteristics of Cushing's disease patients who developed hypokalemia during ketoconazole treatment

ID	Dose (mg)	HK episodes	K value	Disease control	BP control	Previous medications in use
9	1200	7	3.3	No	High	HCTZ (suspension) enalapril, spironolactone, PPL, amlodipine, cabergoline, mitotane
			3.3	No	High	
			3	No	Normal	
			2.8	No	Normal	
			2.8	Partial	Normal	
			2.8	No	High	
3	No	Normal				
15	600	1	3.2	Yes	Normal	HCTZ
16	1000	1	2.8	Yes	High	Spironolactone, furosemide, enalapril, chlorthalidone, simvastatin
8	600	1	3.4	Yes	Normal	HCTZ
10	800	1	3.1	No	High	HCTZ
14	800	1	3.3	No	Normal	HCTZ and captopril
19	1200	1	2.9	No	Unavailable	Amlodipine, atenolol, losartan, hydralazine, spironolactone
25	400	1	3.2	Partial	High	HCTZ
28	1200	3	2.9	Partial	High	Losartan, chlorthalidone, spironolactone, hydralazine
			2.6	Partial	High	
			3.3	No	High	
27	400	3	3.1	Yes	Normal	Enalapril and HCTZ
	400		3.4	No	Normal	
	600		3.4	Yes	Normal	

HK: hypokalemia; HCTZ = hydrochlorothiazide; PPL = propranolol

Table 7. Effects of associating cabergoline with ketoconazole in Cushing's disease patients

ID	Sex	Adenoma	Max. daily (mg) dose ketoconazole	Max. weekly dose cabergoline	Control	Other medications	Side effects	Outcome
7	F	Macro	1000	3.5 mg	No	Temozolomide and pasireotide	Gastrointestinal effects	RDT
9	F	Normal	1000	3.5 mg	No	Mitotane	AI symptoms	Adrenalectomy
10	F	Macro	1200	3 mg	Yes	-	-	Medications maintained
14	F	Macro	800	1.5 mg	No	-	Elevation of transaminases	RDT
15	F	Micro	1200	3 mg	No	Mitotane	-	RDT
21	F	Normal	600	2 mg	Yes	-	Gastrointestinal symptoms	Adrenalectomy
26	F	Macro	400	2 mg	No	-	-	RDT
28	M	Macro	1200	4.5 mg	No	Pasireotide	Hyperglycemia, hypogonadism, and hypokalemia	RDT

AI: adrenal insufficiency ; ND: No data; RDT: radiotherapy

Figure 1: Flowchart of ketoconazole treatment in Cushing's disease patients

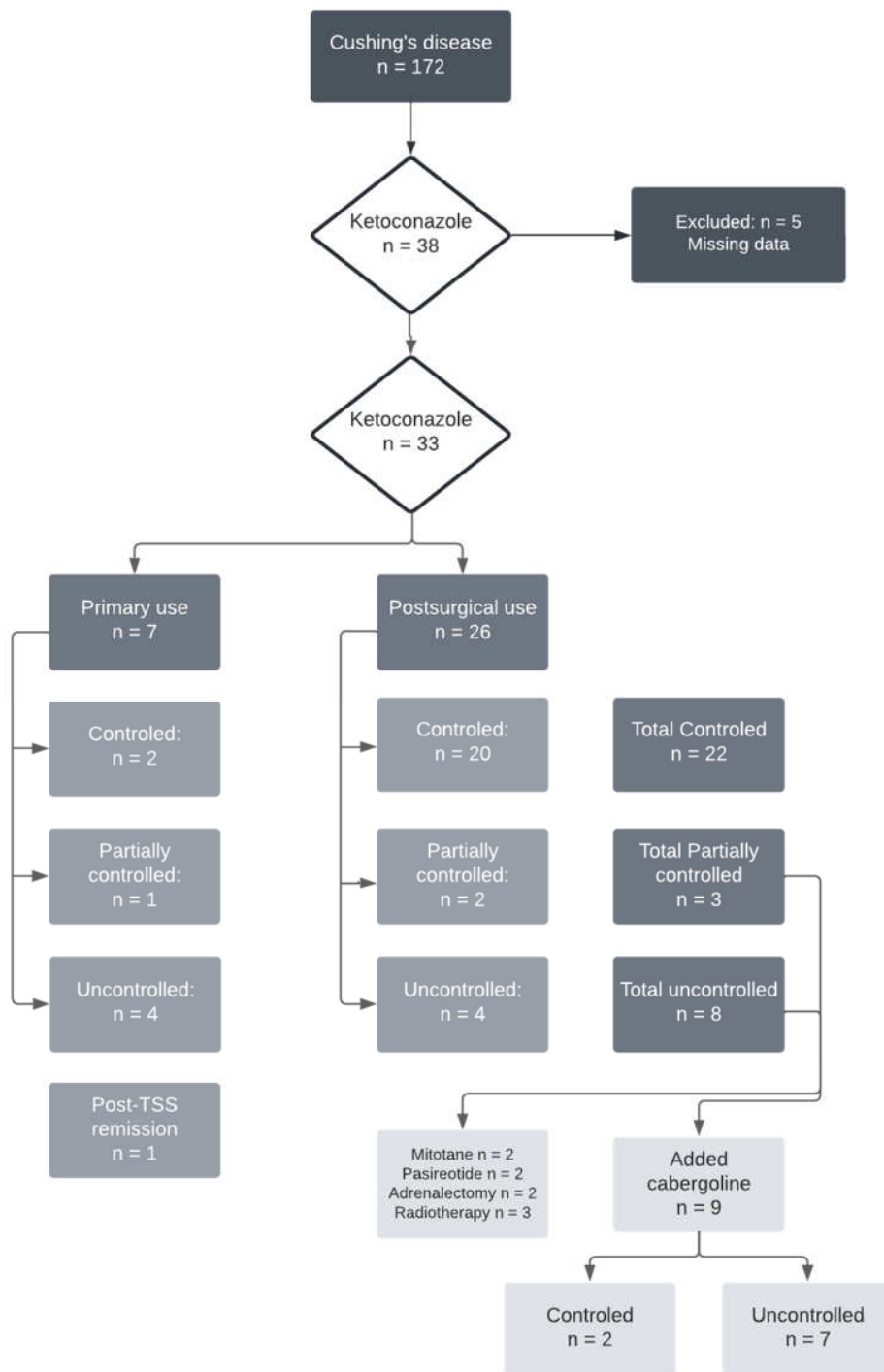


Figure 2. Prevalence of controlled hypercortisolism during follow-up of Cushing's disease patients treated with ketoconazole

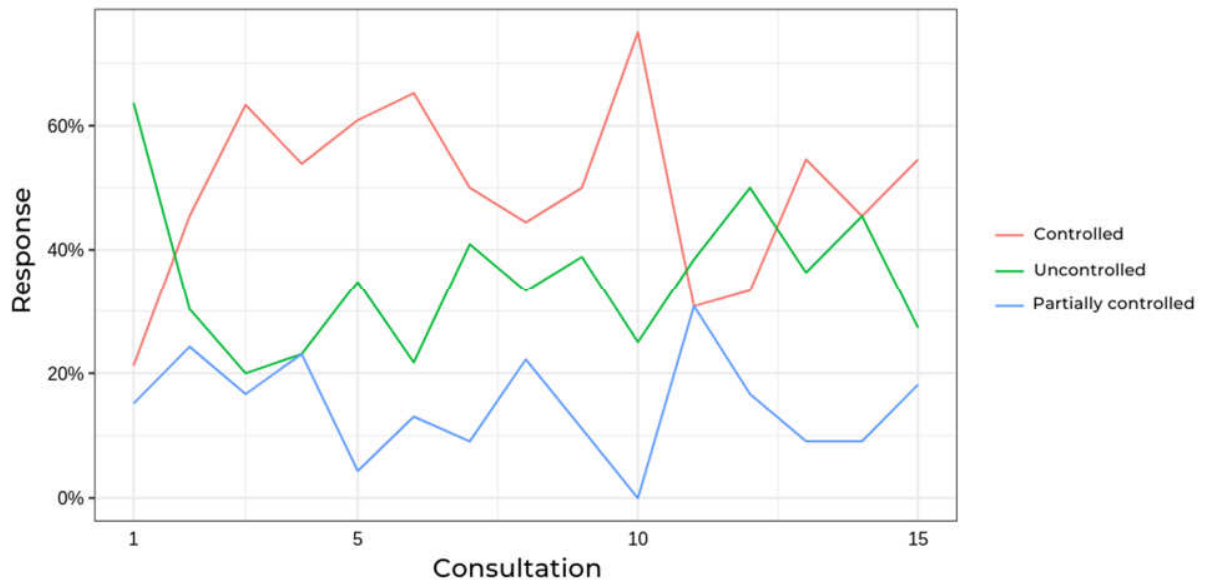
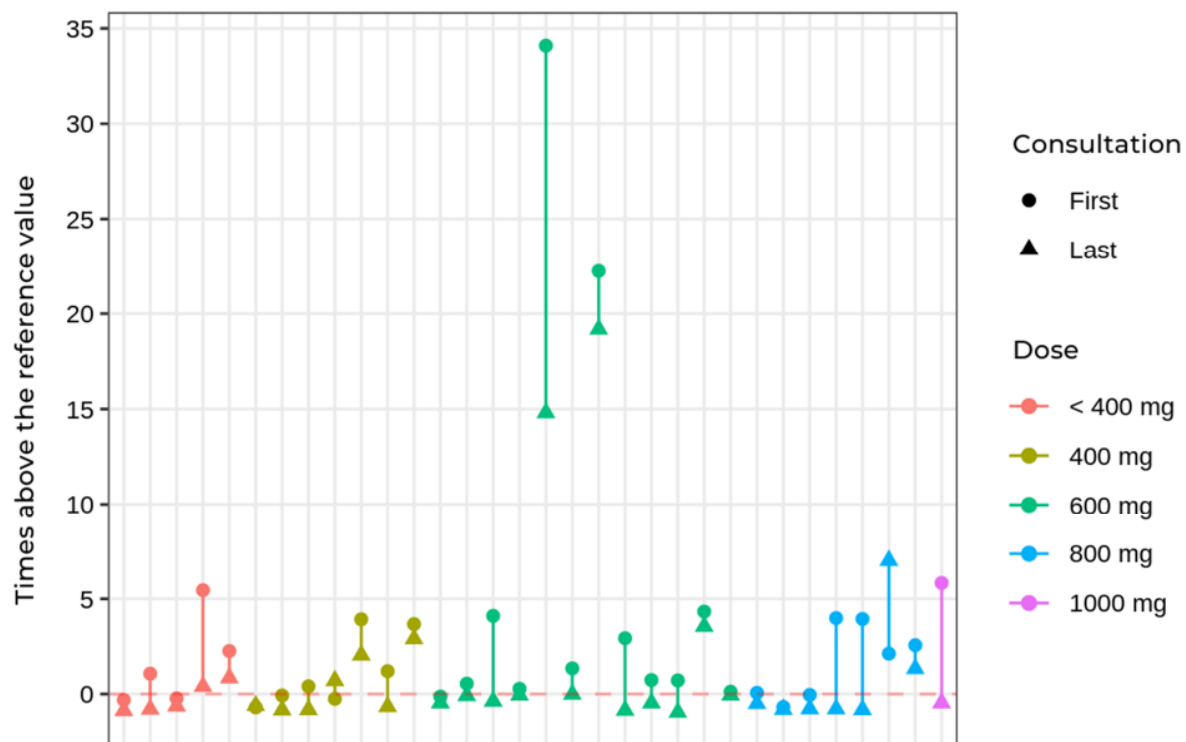


Figure 3. First and last consultation 24-hour UFC results vs. ketoconazole dosage in Cushing's disease patients



CONCLUSÕES DA TESE:

Conforme resultados obtidos nos artigos apresentados:

1. Dentre os 33 pacientes que utilizaram cetoconazol por até 14 anos e meio, e que faziam acompanhamento da DC no HCPA, independente do uso pré ou pós CTE, 22 apresentaram resposta completa (66%), 3 pacientes tiveram resposta parcial (9%) e 8 pacientes não tiveram resposta ao tratamento (24%), já incluindo pacientes que realizaram radioterapia durante o tratamento com o cetoconazol. Os pacientes controlados ou parcialmente controlados com o cetoconazol apresentaram cortisolúrias de 24 horas basais menores do que o grupo não controlado, além de CTE prévia com maior frequência. A prevalência de não controlados se manteve estável ao longo do tempo, em torno de 30%, a despeito de ajustes de dose do cetoconazol ou associação com outras drogas, sendo que a associação com cabergolina não se mostrou eficaz no controle do hipercortisolismo em nossa amostra. Efeitos adversos leves como náuseas, vômitos, tonturas e inapetência foram descritos em 30% da amostra, porém, apenas em 4 pacientes houve necessidade de suspensão da medicação. A ocorrência de hipocalcemia foi flagrada mesmo em pacientes com a DC controlada.

2. Quando analisados apenas pacientes que fizeram uso do cetoconazol após a realização de CTE, em dez estudos que foram incluídos na metanálise (n = 270), houve remissão do hipercortisolismo em 151 pacientes (63%) e não remissão em 61 pacientes (20%). Não houve associação de efeito com a remissão do hipercortisolismo relacionada com a dose final, a duração do tratamento, ou o valor inicial da cortisolúria.

Podemos concluir que no cenário atual da endocrinologia, em especial na saúde pública brasileira, o cetoconazol se torna uma opção terapêutica relativamente segura para o tratamento daqueles casos de não remissão da DC com as terapêuticas convencionais ou na impossibilidade de realização da CTE como terapia primária.