

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**FACULDADE DE MEDICINA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:  
ENDOCRINOLOGIA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**AUTOR: GUILHERME ALCIDES FLORES SOARES ROLLIN**

**ORIENTADOR: PROF. DR. MAURO ANTONIO CZEPIELEWSKI**

**2002**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**FACULDADE DE MEDICINA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:  
ENDOCRINOLOGIA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**CORTISOL SÉRICO APÓS CIRURGIA TRANSESFENOIDAL NA  
DOENÇA DE CUSHING: CONTRIBUIÇÕES PARA O  
ESTABELECIMENTO DE CRITÉRIOS DE CURA**

**AUTOR: GUILHERME ALCIDES FLORES SOARES ROLLIN**

**ORIENTADOR: PROF. DR. MAURO ANTONIO CZEPIELEWSKI**

**Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Ciências Médicas:  
Endocrinologia, para obtenção do título  
de Mestre.**

**PORTO ALEGRE**

**2002**

## Ficha Catalográfica

Rollin, Guilherme Alcides Flores Soares

Cortisol Sérico Após Cirurgia Transesfenoidal na Doença de Cushing:  
Contribuições Para o Estabelecimento de Critérios de Cura / Guilherme Alcides  
Flores Soares Rollin. – Porto Alegre: UFRGS, 2002.  
Outubro de 2002.

Dissertação ( Mestrado ). Universidade Federal do Rio Grande do Sul.  
Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas:  
Endocrinologia.

1. Doença de Cushing. 2. Doença de Cushing: Critérios de Cura. 3. Doença  
de Cushing: Cirurgia Transesfenoidal. 4. Cortisol.  
I. Título. II. Título: Cortisol Sérico Após Cirurgia Transesfenoidal na Doença de  
Cushing: Contribuições Para o Estabelecimento de Critérios de Cura. III.  
Czepielewski, Mauro Antonio, orientador.

**A minha esposa, Heloisa, e  
a minha filha, Isabela.**

## **Agradecimentos**

- ❖ Ao meu orientador e amigo, Prof. Dr. Mauro A. Czepielewski, pelo estímulo e exemplo.
- ❖ Ao Prof. Dr. Nelson Pires Ferreira, neurocirurgião dos nossos pacientes.
- ❖ À equipe de Neurocirurgia do Hospital São José, pela colaboração no atendimento dos pacientes.
- ❖ Ao Dr. Maurício Junges, pela ajuda na elaboração deste trabalho.
- ❖ Ao Dr. Jorge Maraschin, pela auxílio na elaboração de alguns gráficos.
- ❖ Ao Dr. Eduardo Camargo pela ajuda com os meus pacientes.
- ❖ Ao Serviço de Endocrinologia e todos os professores pelo exemplo e participação na minha formação de médico endocrinologista e pesquisador.
- ❖ Ao Prof. Dr. Rogério Fridman, pela revisão do texto em inglês.
- ❖ Ao Prof. Dr. Jorge Luiz Gross, pelo estímulo à pesquisa.
- ❖ Aos pacientes, pelo aprendizado.
- ❖ A toda minha família e amigos, pelo apoio e carinho.
- ❖ A minha filha Bela, pela alegria de viver.
- ❖ A minha esposa Heloisa, pelo amor, compreensão e companheirismo.

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	07
1. INTRODUÇÃO.....	08
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	10
3. OBJETIVOS.....	26
4. REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA.....	27
5. ARTIGO EM PORTUGUÊS.....	34
6. ARTIGO EM INGLÊS.....	67

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

**ACTH: Hormônio Adrenocorticotrófico**

**AVP: Vaspressina**

**CRH: Hormônio Liberador do ACTH**

**CTE: Cirurgia Transesfenoidal**

**DC: Doença de Cushing**

**DDAVP: Desmopressina**

**HHA: Hipotálamo-Hipófise-Adrenal**

**LHRH: Hormônio Liberador do Hormônio Luteinizante (LH)**

**POMC: Pro-opiomelanocortina**

**TRH: Hormônio Liberador da Tireotrofina (TSH)**

## 1. INTRODUÇÃO

A doença de Cushing (DC) é a causa mais freqüente de síndrome de Cushing espontânea, apresentando uma incidência de 0,7 a 2,4 casos por milhão de habitantes por ano e afetando principalmente mulheres jovens (Extabe & Vazquez, 1994; Rees et al., 2002). Sua investigação diagnóstica inclui a demonstração do excesso de produção do ACTH e do cortisol, e a presença de adenoma hipofisário, evidenciado quer por métodos de imagem quer por dosagens hormonais. Na maioria dos casos a doença está associada à presença de um microadenoma hipofisário, de pequenas dimensões (em média 4 mm), que muitas vezes não é detectado mesmo com as mais apuradas técnicas de imagem. Para o diagnóstico adequado, são muito importantes os testes funcionais com dosagens de cortisol e ACTH e o cateterismo de seios petrosos, com coleta seletiva de ACTH sob estímulo. Assim, uma vez identificado anatômica e hormonalmente o adenoma, o tratamento recomendado é a cirurgia transesfenoidal (CTE) para sua ressecção seletiva (Fahlbush et al., 1986; Malby, 1988; Atkinson, 1991; Trainer et al., 1993; Chee et al., 2001; Yap et al., 2002; Rees et al., 2002; Shimon et al., 2002). Este procedimento é o único que pode levar a cura rápida da doença sem outras alterações hormonais significativas e sem necessidade de reposição hormonal a longo prazo, mantendo intacta a função hipofisária, especialmente o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA)

Diante da alta freqüência de microadenomas e de um número significativo de pacientes com imagens negativas, um dos aspectos mais importantes do procedimento cirúrgico é a identificação do adenoma pelo cirurgião e a seguir sua ressecção seletiva com obtenção de tecido para estudo anátomo-patológico. Mesmo com estes cuidados, na maioria das casuísticas são descritos pacientes nos quais não se evidenciou o adenoma e/ou que não se obteve tecido para estudo histológico e hormonal. Nesta circunstância, ganham importância os métodos de avaliação hormonal que são essenciais para o manejo dos pacientes.

Ao contrário do relativo consenso acerca da indicação da CTE permanecem controversos uma série de aspectos relacionados ao manejo peri-operatório da DC. Entre estas controvérsias estão a recomendação do uso de glicocorticóides no período pré, intra e pós-operatório; o momento em que deve ser avaliada a possibilidade



de cura; que métodos devem ser utilizados para o estabelecimento da cura; quais os pacientes que devem ser considerados como portadores de recidivas verdadeiras e quais são os métodos de seguimento mais adequados para estes casos.

Embora sem critérios definidos, sem qualquer homogeneidade entre as diversas casuísticas, sem a definição de quais e em que momento devem ser avaliados os parâmetros hormonais, são relatados índices de cura que variam de 60 a 90 % (Tabela I).

Os parâmetros recomendados variam conforme a experiência de cada centro e a metodologia de dosagem hormonal utilizada. Devido a raridade da DC e das poucas casuísticas que avaliam o seguimento desses pacientes a longo prazo, ainda é difícil estabelecer um, ou mais, critérios de consenso. Dentre os parâmetros utilizados, encontram-se a medida do cortisol sérico e urinário, do ACTH, os testes de 1 mg de dexametasona “overnight”, do CRH e do DDAVP, além da dependência de glicocorticóide no pós-operatório ( Burch 1985; Fahlbush et al., 1986; Avgerinos et al. 1987; Guilhaume et al. 1988; Pieters et al. 1989; Trainer et al., 1993; Vignati et al., 1994; Bochicchio et al., 1995; Invitti et al.; 1999). O momento em que ocorre a avaliação pós-operatória também varia entre as diferentes casuísticas: pós-operatório imediato (primeiras 48hs), primeira semana ou primeiro mês. Essas diferenças dificultam também estabelecer o verdadeiro índice de cura da CTE na DC, podendo contribuir para algumas discrepâncias detectadas entre os estudos.

O acompanhamento a longo prazo dos pacientes com DC submetidos à CTE, utilizando-se parâmetros e protocolos definidos na avaliação pré e pós-operatória, é fundamental para o estabelecimento dos critérios de cura e para a compreensão da dinâmica da secreção do cortisol no pós-operatório da CTE para a DC.

Este trabalho pretende contribuir para a discussão de diversos aspectos relacionados aos critérios de cura, avaliação hormonal e manejo pós-operatório dos pacientes com DC submetidos à CTE. A revisão bibliográfica a seguir apresenta os conceitos mais importantes relativos ao diagnóstico e manejo da DC, e os princípios fisiopatológicos que embasam os protocolos de avaliação prospectiva por nós utilizados no estudo do cortisol pós-operatório destes pacientes.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

Antes de abordar os aspectos referentes a critérios de cura da DC, é importante uma revisão sobre o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, ritmo de secreção do cortisol e supressão com dexametasona. Também serão abordadas algumas peculiaridades relativas à CTE de hipófise, principal modalidade terapêutica para a DC.

### **Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HHA)**

Várias funções endócrinas são controladas por células neurosecretoras presentes no hipotálamo, também denominadas de células neuroendócrinas, que produzem neuropeptídeos específicos que são liberados no sistema porta hipofisário para o controle da função hipofisária (Goth et al, 2001). Considerando especificamente o eixo HHA, o controle da secreção do ACTH pelo corticotrofo ocorre via CRH e vasopressina (VP) que são liberados na circulação porta-hipofisária pelos neurônios do núcleo paraventricular do hipotálamo. O CRH e a VP atuam em receptores específicos da membrana das células corticotróficas, respectivamente nos receptores CRH-R1 e V3. A ação do CRH em estimular a liberação do ACTH pela hipófise anterior é potencializada pela VP e vice-versa. O ACTH, por sua vez, atua no córtex adrenal estimulando a secreção de glicocorticóides, mineralocorticóides e andrógenos adrenais. As células corticotróficas produzem o ACTH e representam cerca de 6-10% das células da hipófise anterior (Findling et al., 1997; Goth et al., 2001).

O cortisol, principal glicocorticóide, inibe a produção hipofisária de ACTH atuando diretamente na hipófise e via hipotálamo, e talvez em centros superiores. Este efeito é denominado de “feedback” negativo dos glicocorticóides. Na hipófise anterior, atua inibindo a secreção do ACTH e a transcrição do gene do POMC (peptídeo precursor do ACTH), reduzindo os níveis de RNAm do POMC e sua síntese (Lundblad, 1988). No hipotálamo, o cortisol atua nos neurônios paraventriculares inibindo a síntese do RNAm do CRH e VP (Davis et al., 1986; Beyer et al., 1988; Aron et al., 1997), mas este efeito é menos intenso quando comparado à inibição do POMC. Adicionalmente, o cortisol bloqueia o efeito estimulador do CRH na transcrição gênica do POMC e liberação do ACTH e inibe a expressão dos receptores do CRH na hipófise anterior (Eberwine et al.,

1987; Oki et al., 1991). Finalmente, o cortisol age ainda em neurônios do hipocampo, onde se encontram receptores de glicocorticóides, que se projetam para o hipotálamo, causando inibição do eixo HHA (Aron et al., 1997).

Informações sobre os mecanismos de "feedback" negativo exercido pelos glicocorticóides são escassas em humanos. Estudos em ratos identificaram duas fases deste mecanismo. A primeira fase, mais precoce, ocorre em segundos a minutos, sendo proporcional ao aumento da concentração de glicocorticóide e não ao seu valor absoluto. Esta fase representaria um efeito estabilizador de membrana. Uma segunda fase mais tardia ocorre em horas a dias, sendo proporcional à dose, potência, duração do uso e níveis plasmáticos atingidos pelo glicocorticóide. Seria mediada pelos receptores do glicocorticóide. Assim, em um primeiro momento ocorre inibição da secreção mas não da síntese do CRH e ACTH. Mais tarde, tem-se a diminuição da transcrição gênica do CRH e POMC com redução da síntese destes hormônios (Orth and Kovacs, 1998).

Outro aspecto importante da secreção do cortisol é sua variação ao longo do dia, caracterizando um ritmo circadiano. A secreção do ACTH e do cortisol é pulsátil, caracteristicamente maior no início da manhã atingindo seu nadir poucas horas após o início do sono à noite (Findling et al,1997). Esta característica pode ser utilizada na avaliação diagnóstica da síndrome de Cushing, uma vez que nesta ocorre perda do ritmo circadiano. O restabelecimento deste ritmo, por outro lado, poderia ser útil para avaliar a cura da síndrome de Cushing.

Os pulsos de secreção do ACTH aumentam de amplitude, mas não em frequência, após 3-5 horas de sono, atingindo o "plateau" no final do sono e primeiras horas após acordar. Posteriormente, a amplitude diminui ao longo da manhã e torna-se mínima no início da noite (Veldhuis et al., 1990)). Por isso, os níveis de ACTH e cortisol estão mais elevados pela manhã ao acordar e menores no início da noite, atingindo seu nadir uma a duas horas após o início do sono.

Os mecanismos responsáveis por este ritmo circadiano ainda não estão bem compreendidos, embora neurônios do núcleo supraquiasmático do hipotálamo ventral desempenhem um papel essencial neste controle. O CRH é o secretagogo mais potente do ACTH, porém seu papel no ritmo circadiano do ACTH não está claro. Quando

o CRH é infundido continuamente em humanos, o ritmo circadiano do ACTH persiste (Orth and Kovacs, 1998), sugerindo que outros fatores além do CRH estejam envolvidos na geração deste ritmo.

O estresse representa um importante fator que influencia a atividade do eixo HHA. O estresse agudo, físico ou psicológico, é capaz de ativar o eixo HHA e aumentar os níveis de ACTH e cortisol. O estresse dificilmente pode ser quantificado e os mecanismos que desencadeiam sua resposta não são bem compreendidos. Dentre os fatores de estresse que estimulam o eixo, encontram-se alterações emocionais e psicológicas importantes, traumas físicos graves, queimaduras e doenças graves, hipoglicemia, febre, hipotensão, dor, infecção, inflamação, lesão tecidual, toxinas e choque, exposição ao frio e cirurgia de grande porte, resultando em liberação significativa de ACTH e conseqüente aumento do cortisol sérico (Udelsman et al., 1987; Luger et al., 1987; Aron et al., 1997; Findling et al., 1997; Orth and Kovacs, 1998). Em relação à cirurgia, os níveis de ACTH se elevam no momento da incisão e durante a cirurgia, mas o pico da secreção ocorre durante a reversão da anestesia, extubação e período pós-operatório imediato (Udelsman et al., 1987; Luger et al., 1987; Raff et al., 1987). O uso de glicocorticóide pré-operatório bloqueia a resposta hipófise-adrenal a estresse menor, mas não atua nos casos de estresse mais significativo, como cirurgia de grande porte. (Estep et al., 1963; Copinschi et al., 1975; Raff et al., 1987). Estes conceitos são importantes e úteis no entendimento do pós-operatório da CTE para DC.

Outro aspecto a ser considerado é que o ponto de regulação do eixo HHA está alterado durante o estresse crônico. Nesta situação, observa-se uma secreção aumentada de ACTH mesmo na presença de níveis mais elevados de cortisol. Assim, a capacidade do cortisol em inibir a secreção de ACTH encontra-se reduzida (Goth et al., 2001).

### **Supressão com Dexametasona**

Normalmente a hipófise e o hipotálamo são inibidos pela administração exógena de glicocorticóide. A dexametasona, potente glicocorticóide (40 vezes mais potente que o cortisol) tem sido utilizada no teste de supressão do eixo HHA pois praticamente não interfere na medida do cortisol sérico ou urinário. O teste baseia-se no

princípio de que a dexametasona, sendo um glicocorticóide, tem a capacidade de inibir a secreção do CRH e ACTH, no hipotálamo e hipófise respectivamente, com conseqüente redução da secreção de cortisol pelas adrenais em indivíduos normais. Assim, após sua administração ocorre supressão dos níveis de cortisol, constatando-se a integridade do eixo HHA e excluindo-se síndrome de Cushing com alta probabilidade. O teste mais utilizado em nível ambulatorial consiste na administração de 1mg de dexametasona via oral às 23h ou à meia-noite com dosagem do cortisol sérico às 8hs da manhã seguinte. Classicamente, cortisol sérico inferior a 5 µg/dl apresenta alto valor preditivo negativo e praticamente exclui síndrome de Cushing (Barrou et al, 1996; Orth and Kovacs, 1998; Boscaro et al., 2000). Mais recentemente, alguns autores (Findling et al.,1997; Newell-Price et al., 1998; Findling and Raff, 1999) sugerem a redução do ponto de corte para 1,8-3,0 µg/dl, aumentando ainda mais a sensibilidade e o valor preditivo negativo do teste. Por outro lado, a ausência da supressão com 1 mg de dexametasona não é indicativo necessariamente de síndrome de Cushing, pois podem ocorrer falsos positivos, em obesidade, depressão, etilismo, uso de estrógeno, entre outras situações. Assim, a não supressão do cortisol indica a necessidade de investigação complementar. Devido a este perfil de acurácia, este teste pode ser utilizado como critério de cura de DC. Nesta situação a presença da supressão deve ser valorizada pois em sendo um teste altamente sensível o mesmo se constitui em bom método para excluir doença ativa e demonstrar a retomada da normalização do eixo HHA. (Orth and Kovacs, 1998; Findling et al, 1997; Newell-Price et al., 1998; Boscaro et al., 2000) . Esta avaliação pode se constituir em importante parâmetro para avaliar a cura na DC e acompanhar os pacientes a longo prazo, uma vez que o método é bastante simples, permitindo coletas ambulatoriais, sem o desconforto de internação ou da obtenção de repetidas amostras de sangue.

### **Cirurgia Hipofisária**

A CTE de hipófise é o tratamento inicial de escolha para a DC. Esta cirurgia foi desenvolvida no início do século XX, sendo a técnica refinada no final da década de 60 com a introdução do uso de microscópios para a remoção seletiva dos adenomas hipofisários (Hardy J, 1969). A maioria dos adenomas causadores da DC são pequenos, em torno de 4 mm e apenas 10% são macroadenomas (Mampalam et al., 1988; Ludecke 1991). Sua localização muitas vezes é difícil, sendo os resultados cirúrgicos bastante heterogêneos nos diferentes centros. Por este motivo, recomenda-se

que o paciente com DC seja preferencialmente operado por um cirurgião experiente nesta técnica (Lo et al., 2001).

No que se refere a abordagem cirúrgica dos macroadenomas, a mesma também deve ser realizada por via transesfenoidal, tornando-se cada vez mais rara a abordagem transcraniana que pode ainda ser utilizada nos raríssimos casos de tumores com significativa extensão supra-selar ou para-selar (Wilson and Dempsey, 1978; Wilson, 1984). Um aspecto importante do procedimento é o fato de que após a remoção do tumor, pode-se banhar o leito cirúrgico de onde foi removido o adenoma, com etanol absoluto objetivando-se a destruição de alguma eventual célula tumoral residual. Este procedimento não é uniformemente recomendado na literatura, embora utilizado rotineiramente em diversos centros de referência. Em pacientes com imagem negativa o cateterismo do seio petroso inferior pode ser útil na localização do lado em que está presente o adenoma. Pode ocorrer, porém, uma falsa lateralização e o cirurgião deve estar atento para os raros casos de adenoma intracavernoso, realizando sempre uma exploração meticulosa da sela túrcica antes de remover qualquer tecido hipofisário (Wilson et al., 1995; Mamelak et al. 1996). Mais recentemente, o uso da ultra-sonografia e da ressonância magnética no transoperatório tem facilitado a localização do adenoma em alguns centros mais avançados(Lo et al., 2001).

### **Complicações Cirúrgicas**

A CTE de hipófise é um método cirúrgico relativamente seguro, com mortalidade perioperatória em torno de 1 a 2%, sendo as principais causas de óbito o infarto agudo do miocárdio e tromboembolismo pulmonar (Mampalam et al., 1988; Bochicchio et al., 1995). As complicações mais frequentes são hiponatremia transitória (5-20%), diabetes insípido transitório (10-15%) e rinorréia com perda líquórica (2-5%). Podem ocorrer também complicações infecciosas como a meningite e a sinusite esfenoidal. Diabetes insípido permanente ocorre em menos de 3 % dos casos. Hipopituitarismo e hemorragia severa também não são comuns (em torno de 2%) (Lo et al., 2001).

## **Manejo transoperatório e pós-operatório imediato**

A experiência dos diversos centros é bastante heterogênea no que se refere ao manejo trans e pós-operatório, não havendo consenso quanto ao uso de corticóide no transoperatório e nas primeiras horas após a cirurgia. A maioria dos autores preconiza o uso rotineiro de glicocorticóide (hidrocortisona) e com posterior retirada (3-5 dias) para avaliação endocrinológica (Fahlbush et al., 1986; Treiner et al., 1993; Chee et al., 2001; Yap et al., 2002; Rees et al., 2002; Shimon et al., 2002; Inder and Hunt, 2002). Outros, recomendam administrar corticóide apenas quando for documentada insuficiência adrenal clínica ou laboratorial (Simmons et al., 2001; Nasrallah et al., 2002). Neste caso, poderia-se determinar mais precocemente a cura e os pacientes não curados não receberiam glicocorticóide desnecessariamente. Recentemente tem se demonstrado que nas primeiras horas após a CTE há uma tendência de elevação dos níveis de cortisol, com posterior queda nos pacientes que ficam curados da DC. Isso ocorreria em decorrência do estresse cirúrgico ser suficiente para causar liberação aguda de ACTH da hipófise normal, com conseqüente aumento do cortisol. Passado esse momento de intenso estresse, a hipófise normal, que está suprimida pela secreção excessiva de ACTH pelo adenoma, voltaria a ficar suprimida e o ACTH e cortisol tenderiam a cair para níveis muito baixos, nos pacientes curados. Baseados em alguns resultados recentes (Simmons et al., 2001; Nasrallah et al., 2002), a tendência atual é da não administração de corticóide no trans e pós-operatório imediato da DC.

## **Crítérios de Cura**

Considerando a ausência de consenso no estabelecimento de critérios de cura para a DC, são também controversos os conceitos de recorrência ou recidiva. Considerando que em alguns casos ocorre resolução do hipercortisolismo com retorno a curto e/ou médio prazo da síndrome de Cushing, muitas vezes o paciente é considerado curado de maneira precoce e equivocada. Para tentar minimizar estas situações, mais recentemente tem-se considerado como cura verdadeira da DC com remissão definitiva do hipercortisolismo, somente os pacientes em que se observa insuficiência adrenal no pós-operatório, seguida de retomada do ritmo circadiano de secreção do cortisol, a retomada de sua resposta à hipoglicemia insulínica e o retorno da supressão com 1 mg de dexametasona “overnight”. Por outro lado, se ocorrer recorrência do hipercortisolismo

nos primeiros 6 meses após a CTE, o paciente efetivamente não ficou curado, mas apenas apresentou um período de remissão do hipercortisolismo com melhora clínica transitória (Mampalam et al., 1988; Bochicchio et al., 1995; Lamberts et al., 1995; Hermus, 1997). Nestes casos, provavelmente a ressecção do adenoma não foi completa, mas suficiente para resolver transitoriamente o hipercortisolismo. As poucas células tumorais remanescentes seriam responsáveis pelo reaparecimento do adenoma e do hipercortisolismo. Assim, a verdadeira cura está associada à ressecção completa do adenoma, não podendo ocorrer recidiva do hipercortisolismo nos próximos 6-12 meses após a CTE. A verdadeira recidiva, então, só pode ocorrer após 1 ano da cirurgia, no paciente que apresentou um período de insuficiência adrenal e dependência ao glicocorticóide, seguido por recuperação do ritmo circadiano da secreção do cortisol, resposta à hipoglicemia insulínica e supressão normal com 1 mg de dexametasona “overnight”.

Considerando que na prática estes conceitos de cura, remissão e recidiva/recorrência da DC são diferentes em dada casuística, torna-se mais difícil ainda a comparação dos resultados e análise da cura verdadeira. Ao classificar um paciente com remissão do hipercortisolismo como curado, muda-se o índice de cura e de recidiva da doença. Este aspecto é apenas mais um dentre vários que contribui para a heterogeneidade dos resultados dos diferentes estudos. O momento em que ocorre a avaliação pós-operatória, o uso de corticóide no pós-operatório imediato e os valores de cortisol preditivos de cura são muito variáveis, tornando o tema ainda mais controverso.

Outro aspecto discutido na literatura são os fatores preditivos de cura a longo prazo. Ao analisar os fatores que predizem a cura da DC com a CTE, apenas a identificação do adenoma durante a cirurgia apresentou importância significativa na série de Chee et al. (2001). Pacientes com tumor identificado apresentaram maior índice de cura quando comparados com o grupo de pacientes cujo tumor não foi identificado no transoperatório. Outros estudos constataram que a confirmação histopatológica do adenoma representou um fator preditivo importante de bom resultado da CTE (Arnott et al., 1990; Guilhaume et al., 1988; Post et al., 1990; Bochicchio et al., 1995; Sonino et al., 1996). Em pacientes operados sem documentação histopatológica do adenoma, o índice de cura é significativamente menor em algumas séries (Mampalam et al., 1988; Comtois et al., 1993). Porém Sheehan et al. (2000), não encontraram diferença



significativa no índice de cura (66%) de seus pacientes sem confirmação histológica de tumor após a CTE. Outro fator que parece influenciar a chance de cura é o tamanho do tumor. Tumores maiores, especialmente com extensão extraselar, estão associados a menores índices de cura com a CTE (Mampalam et al., 1988).

Porém, até o momento, ainda não foram definidos os verdadeiros parâmetros que predizem a recidiva ou remissão da DC. Há evidências de que pacientes com níveis mais altos de cortisol, maior resposta do ACTH ao CRH ou período menor de insuficiência adrenal no pós-operatório, apresentam um número bem maior de recidiva, porém há uma sobreposição significativa entre os valores observados nos pacientes que apresentaram a DC recidivada e naqueles sem recidiva (Pieters et al., 1989; Vignati et al., 1994; Bochicchio et al., 1995; Lamberts et al. 1995; Invitti et al., 1999). Há casos de recorrência da DC mesmo em pacientes com níveis indetectáveis de cortisol no pós-operatório (Bochicchio et al., 1995; Yap et al., 2002). Alguns estudos recentes apontam o teste do DDAVP como útil na avaliação precoce do risco de recidiva da DC (Colombo et al., 2000). Pieters et al. (1989) em sua casuística de 27 pacientes com DC submetidos à CTE obtiveram um índice de cura de 60% (16/27 pacientes). Demonstraram ainda que a resposta paradoxal do cortisol ao TRH e/ou LHRH estaria associada a uma menor chance de cura, e que os pacientes inicialmente curados apresentariam uma maior chance de recidiva se o cortisol sérico fosse superior à 3,6 µg/dl.

Além da dificuldade em se estabelecer os parâmetros associados à remissão ou recidiva da DC, os próprios critérios de cura adotados nos diferentes estudos são controversos e heterogêneos. São escassos os estudos prospectivos a longo prazo que contribuem para responder estas questões.

### **Cortisol Sérico**

De todos os critérios utilizados para definir a cura da DC, sem dúvida o cortisol sérico é o principal parâmetro e o mais estudado. Porém, o momento em que ele deve ser coletado, a metodologia de dosagem empregada e o uso de corticóide (hidrocortisona) no pós-operatório são variáveis que justificam a heterogeneidade dos resultados e dificultam a comparação entre as várias séries da literatura.

Teoricamente, a ressecção completa do tumor produtor de ACTH causaria a redução dos níveis de cortisol para valores indetectáveis, pois os corticotrofos normais estariam suprimidos pelo hipercortisolismo crônico e não produziram ACTH para estimular a secreção adrenal de cortisol (McCance et al., 1996). Baseados nestes princípios, vários autores consideram como critério de cura a ocorrência de níveis indetectáveis de cortisol no pós-operatório (Trainer et al., 1993; McCance et al., 1993; Rees et al., 2002; Yap et al 2002) Outros consideraram como curados pacientes com níveis subnormais de cortisol, mas não necessariamente indetectáveis: menores que 6 µg/dl (Avgerinos et al.,1987), menores que 7,25 µg/dl (Pieters et al., 1989) e cortisol à meia-noite menor que 10 µg/dl (Burke et al., 1990). Outros exemplos, que fortalecem a heterogeneidade do critério de cura em relação ao cortisol sérico, podem ser observados na Tabela I. Pieters et al. (1989), por outro lado, concluíram que pacientes com cortisol superior a 3,6 µg/dl no pós-operatório tinham risco maior de recorrência da DC.

### **Cortisol Urinário**

A medida do cortisol livre em urina de 24h não é um parâmetro muito utilizado uma vez que em muitos centros a suspensão do corticóide ocorre por poucas horas, não permitindo coleta de urina de 24h sem esta interferência. Burke et al. (1990) utilizaram com critério de cura níveis de cortisolúria inferiores à 100 µg em 24h e Avgerinos et al. (1987) consideraram três cortisolúrias baixas (inferiores à 20 µg em 24h) como indicativos de cura. No caso da cortisolúria, ainda fica mais difícil um parâmetro homogêneo pois as diferentes metodologias de medidas causam uma variação maior nos resultados considerados normais. Outros exemplos de critérios de cura podem ser observados na Tabela I.

### **ACTH**

A medida do ACTH basal, mais recentemente, também tem sido utilizada como parâmetro de cura. Fahlbusch e Buchfelder (1986) mediram o ACTH no 5-6º dia, 2-3 meses e 6 meses após a cirurgia. O ACTH indetectável (inferior a 10 pg/ml) estava associado a cura a longo prazo (3,2 anos) pois todos os pacientes apresentaram remissão da doença nesse período de acompanhamento. Naqueles em que o ACTH ficou

superior a 50 pg/ml, não ocorreu remissão do hipercortisolismo em sua grande maioria, e apenas 1 de 15 pacientes ficou curado.

Pimentel-Filho et al. (2001) avaliaram os níveis de ACTH no pós – operatório imediato de pacientes com tumores hipofisários produtores de ACTH (14 pacientes com DC e 2 com síndrome de Nelson). Dos pacientes com DC apenas 6 ficaram curados. Todos os pacientes receberam hidrocortisona durante a cirurgia. Em todos os pacientes com DC (nos curados e não curados) observou-se um aumento significativo do ACTH desde 10 minutos após a cirurgia. Esta elevação permaneceu durante as primeiras 5 horas. Neste período inicial, não foi possível separar os curados dos não curados. Este aumento do ACTH inicialmente, pode ser explicado pela não supressão completa dos corticotrofos normais, que liberam ACTH durante o estresse cirúrgico.

### **Supressão com Dexametasona**

Um dos aspectos que pode ser avaliado é a retomada da supressão normal com dexametasona. Assim, o teste com 1 mg de dexametasona “overnight” poderia ser utilizado para critério de cura. Porém, deve-se ficar atento aos falsos resultados, já que pode ocorrer supressão em alguns pacientes que foram “parcialmente curados” (pacientes com remissão do hipercortisolismo mas sem remoção completa do tumor produtor de ACTH, efetivamente não curados), bem como não supressão em alguns casos curados (falso positivo por obesidade, por exemplo) (McCance et al., 1996). Alguns poucos casos de supressão com dexametasona em pacientes curados foram relatados (Jeffcoat et al., 1985; McCance et al. 1996). McDonald et al. (1978) relataram dois casos de pacientes curados que não suprimiram inicialmente (2-6 semanas pós-operatória) mas que posteriormente mostraram supressão normal e evolução compatível com cura.

### **Principais Séries da Literatura**

Ao longo dos últimos 25 anos, várias séries foram descritas analisando a CTE de hipófise para tratamento da DC. Como já comentado, os resultados e critérios de cura são bastante heterogêneos. A Tabela I apresenta um resumo das principais séries relatadas com algumas informações importantes. Observamos que são poucas as

casuísticas com seguimento a longo prazo de um número significativo de pacientes. Neste trabalho serão abordadas com mais detalhes as últimas séries da literatura, além de outras não tão recentes mas com algumas características marcantes e reconhecidas pela comunidade científica.

Em 1988, Mampalam et al. publicaram os resultados de uma grande série com 216 pacientes com DC. A cura foi obtida em 76% dos casos, o seguimento médio foi 3,1 anos e os critérios de cura adotados foram resolução dos aspectos clínicos da DC, normalização do cortisol, ACTH e supressão com dexametasona em doses baixas. Além disso, para serem considerados curados os pacientes não poderiam apresentar recorrência do hipercortisolismo no primeiro ano após a cirurgia. Nesta casuística, fica destacado o acompanhamento a longo prazo para definição de cura, necessitando pelo menos 1 ano sem evidência de hipercortisolismo para considerar o indivíduo curado.

Em 1993, Trainer et al. foram os primeiros a considerar como critério de cura o cortisol indetectável no pós-operatório (cortisol sérico inferior a  $1,8\mu\text{g/dl}$ ). Neste trabalho foram avaliados 48 pacientes com um seguimento médio de 40 meses sendo considerados curados 42%. Em 81% dos pacientes foi observada melhora clínica significativa da síndrome de Cushing. Nestes 42% com cortisol indetectável, não houve nenhuma recorrência no período de seguimento estudado. É importante salientar que os pacientes receberam hidrocortisona antes da cirurgia e a cada 6 horas nas primeiras 24 horas, sendo o cortisol dosado 12 horas após a última dose do glicocorticóide. O uso de hidrocortisona neste período e em doses elevadas pode ter interferido significativamente nos resultados observados.

Em 1995 foram publicados os resultados do “Estudo Europeu da DC” (Bochicchio et al.), quando foram agrupados 668 pacientes de 25 instituições. O índice de cura foi 76,3% e a recorrência 12,7%. Como o estudo envolveu vários centros, não foram comparados os resultados individuais, não ficando explicitados os critérios bioquímicos de cura nem o momento de avaliação pós-operatória. Não foi realizada a análise dos níveis de cortisol no pós-operatório devido a grande variabilidade na metodologia de dosagem hormonal dos diferentes centros participantes no estudo. Assim, os critérios de cura foram baseados em parâmetros clínicos, com remissão dos sinais e sintomas do hipercortisolismo e ausência de tratamento para controlar o hipercortisolismo nos

primeiros 6 meses após a cirurgia. Neste sentido, é difícil discutir cura e recorrência, porém, uma informação valiosa e bastante útil é o fato de que o risco de recidiva da DC foi muito baixo no grupo de pacientes com hipoadrenalismo no pós-operatório e que necessitaram de reposição glicocorticóide por longo período. Assim, o hipocortisolismo após à cirurgia seria o fator mais importante para indicar cura a longo prazo.

Sonino et al. (1996) avaliaram os resultados a longo prazo do tratamento da DC. Especificamente em relação à CTE, foram avaliados 115 pacientes, cujo acompanhamento médio foi de 6 anos. Os critérios de cura adotados foram de cortisolúria de 24h inferior a 90 µg e normalização da supressão do cortisol com baixas doses de dexametasona. A avaliação hormonal foi realizada 5-15 dias após a cirurgia, após suspensão por 24h do corticóide. A cura obtida foi de 77% dos casos e a recorrência de 26%.

Em 1999, Invitti et al. publicaram os resultados do Estudo Italiano Multicêntrico sobre o diagnóstico e tratamento da síndrome de Cushing. Em relação a DC, foram avaliados 236 pacientes (seguimento de 6 a 120 meses), obtendo-se cura em 69% e recidiva em 17% dos casos. Como critério de cura, adotaram a ocorrência de insuficiência adrenal clínica associada a níveis baixos ou normais do cortisol e ACTH. Um dado importante foi que o risco de recorrência da DC estava correlacionado com ACTH basal e pico do cortisol após teste do CRH no pós-operatório.

Estrada et al (2001) avaliaram 58 pacientes que apresentaram correção do hipercortisolismo após a CTE. Os pacientes foram divididos em 3 grupos: I, pacientes com hipocortisolismo transitório com posterior recuperação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal; II, pacientes com hipocortisolismo transitório porém com anormalidades posteriores no ritmo circadiano de secreção do cortisol ou na resposta ao estresse; III, pacientes sem insuficiência adrenal no pós-operatório. Os pacientes receberam corticóide no dia da cirurgia até a avaliação hormonal que ocorria 8 a 12 dias após a cirurgia, consistindo de cortisol sérico e cortisolúria de 24 horas, sendo os critérios de cura, cortisol e cortisolúria normais. Posteriormente a fase de insuficiência adrenal ou naqueles sem insuficiência adrenal, o ritmo circadiano de secreção do cortisol, supressão com 1 mg de dexametasona e resposta do cortisol à hipoglicemia insulínica foram realizados. A comparação entre os 3 grupos mostrou que os níveis pós-cirúrgicos de cortisol foram

semelhantes nos grupos I e II, porém no grupo III o cortisol foi mais elevado, apresentando diferença estatisticamente significativa em relação aos dos outros dois grupos. A recorrência do hipercortisolismo foi muito menor no grupo I (3,4%) em relação ao grupo II (50%) e ao grupo III (64,7%), embora não tenha sido detectada diferença significativa entre os grupos II e III. Este estudo evidencia mais uma vez a importância da insuficiência adrenal e a dependência ao glicocorticóide como critérios de cura da DC, e acrescenta a normalização completa da função adrenocortical como fator importante para o estabelecimento da cura a longo prazo. Os autores sugerem como principal critério de cura a normalização do eixo HHA (retomada do ritmo circadiano, da supressão com 1 mg de dexametasona e da resposta à hipoglicemia insulínica ) após um período de insuficiência adrenal, sendo nesse grupo de pacientes muito baixo o risco de recorrência do hipercortisolismo. Os pacientes do grupo I, cuja recidiva foi extremamente baixa, não apresentam necessariamente níveis indetectáveis de cortisol, não confirmando o conceito da necessidade de cortisol indetectável para estabelecer cura a longo prazo, conforme sugerido por outros autores.

Simmons et al. (2001) estudaram a resposta do cortisol à CTE para DC. Este estudo foi o primeiro a documentar a evolução no pós-operatório imediato sem o uso de corticóide. Foram avaliados 27 pacientes e o índice de cura foi 81% (22 pacientes), sendo que em um caso a queda do cortisol foi mais tardia e o paciente inicialmente fora considerado não curado. Nenhum dos pacientes inicialmente considerados curados apresentou recorrência do hipercortisolismo no período de acompanhamento. A grande limitação do estudo é o seguimento curto de apenas 8 meses. Poderíamos questionar se algum paciente do grupo de curados não iria passar para o grupo dos não curados com aumento do tempo de seguimento. Considerou-se cura níveis de cortisol inferiores a 10 µg/dl, assim como sinais clínicos de insuficiência adrenal, sendo administrado glicocorticóide precocemente para estes pacientes considerados curados. Uma informação importante deste estudo diz respeito ao uso de corticóide, ficando evidente a vantagem de não administrá-lo rotineiramente e sim apenas após a documentação clínica e/ou laboratorial do hipoadrenalismo. A maioria dos pacientes, inclusive, mostrou um aumento do cortisol sérico no pós-operatório inicial, refletindo possivelmente o estresse da cirurgia e anestesia. Nenhum paciente curado apresentou quadro clínico de insuficiência adrenal significativo nas primeiras 24 horas pós-operatórias, sugerindo que os pacientes podem ficar sem reposição glicocorticóide

com segurança nestas primeiras 24 horas. Além disso, o grupo dos pacientes curados manteve níveis de cortisol detectáveis, contrariando as séries anteriores que consideraram com critério de cura níveis indetectáveis de cortisol. Esta diferença pode ser explicada em parte pelo uso de corticóide durante a cirurgia e nos primeiros dias de pós-operatório nas outras séries. Devemos lembrar, porém, que o estudo de Simmons et al. tem um tempo curto de acompanhamento e alguns pacientes curados poderiam ter sido classificados equivocadamente. Em conclusão, estes autores sugerem que para o estabelecimento da cura o melhor critério seria um cortisol sérico pós-operatório menor que o cortisol sérico à meia-noite pré-operatório e inferior a 10µg/dl.

Chee et al (2001) descreveram uma série de 61 pacientes com DC submetidos à CTE pelo mesmo cirurgião, com acompanhamento médio de 88 meses. A cura inicial foi de 78,7% e a recidiva ocorreu em 7 pacientes. Remissão da DC foi considerada a partir da retomada do ritmo circadiano de secreção do cortisol e da supressão com baixas doses de dexametasona, e resolução das características da síndrome de Cushing. A avaliação do cortisol sérico e urinário ocorreu 2 e 6 semanas após a cirurgia, e os pacientes utilizaram corticóide até 48 horas antes desta avaliação. Neste trabalho não foram discutidos os valores absolutos do cortisol devido aos diferentes ensaios utilizados, mas novamente no grupo de curados haviam níveis detectáveis de cortisol no pós operatório.

Recentemente Yap et al. (2002) publicaram os resultados da cirurgia de 97 pacientes com DC seguidos em média por 92 meses. O índice de cura foi de 68,5%, recorrência de 11,5% e o critério de cura foi cortisol indetectável (inferior a 1,8 µg/dl). Novamente, os pacientes recebiam glicocorticóide antes da avaliação hormonal que foi realizada no terceiro ou quarto dia pós-operatório. A informação principal desta série é que mesmo nos pacientes com cortisol indetectável, a recorrência a longo prazo pode ocorrer. Ou seja, níveis indetectáveis de cortisol não garantem a cura definitiva. Novamente nos deparamos com o uso de glicocorticóide no pós-operatório imediato, que poderia ser um fator de confusão ao inibir a secreção do ACTH inclusive de um resíduo tumoral mínimo.

Mais recentemente Shimon et al (2002) publicaram os resultados de 82 pacientes com DC submetidos à CTE com seguimento médio de 4,2 anos. A cura foi

obtida em 78% dos pacientes após a primeira cirurgia e 62% após a segunda. A recidiva foi de 5%. Os critérios de cura adotados foram a normalização da cortisolúria de 24h e supressão com 1 mg de dexametasona “overnight”. Novamente os pacientes receberam corticóide no pós-operatório imediato e a avaliação foi realizada 4-6 semanas após a cirurgia.

Finalmente, Rees et al. (2002) em sua casuística de 54 pacientes acompanhados em média por 6 anos, observaram cura em 77% e recorrência em apenas dois casos. Novamente o critério de cura foi cortisol indetectável na primeira semana pós-operatória, após 24 horas de suspensão da hidrocortisona. Igualmente houve recidiva mesmo com cortisol indetectável.

Após esta exposição acerca dos resultados da CTE na DC e a discussão sobre seus critérios de cura, remissão e recidiva/recorrência do hipercortisolismo, podemos comentar:

1) A heterogeneidade dos resultados e dos critérios de cura adotados na literatura ainda não permitem consenso.

2) Embora haja uma tendência em considerar como critério de cura níveis indetectáveis de cortisol, as séries mais recentes mostram recidivas a longo prazo mesmo nos pacientes que preencheram este critério; e cura a longo prazo em pacientes com níveis detectáveis de cortisol no pós-operatório, também já está bastante documentada.

3) O uso de corticóide no transoperatório e no pós-operatório imediato pode ser um fator de confusão na análise dos níveis de cortisol no pós-operatório da DC. Pouco se sabe sobre a dinâmica da secreção do cortisol no pós-operatório imediato, porém parece seguro não administrar glicocorticóide neste período uma vez que evitaríamos seu uso desnecessário nos pacientes não curados, além de podermos monitorizar mais adequadamente os níveis de cortisol destes pacientes.



**Tabela I: Compilação de Resultados da Cirurgia Transesfenoidal para Doença de Cushing ( 1978 – 2002 )**

Referência	n	Critério de Cura	Remissão (%)	Recorrência (%)	Seguimento (meses)
Salassa et al. 1978	18	LDD, teste metirapona	89	0	18
Kuwayama et al. 1981	25	Ins Adr	88	5	25
Hardy 1982	75	N C, C Urin, 17OHCS	84	3	21
Boggan et al. 1983	100	N C, ACTH, C Urin	78	5	---
Thomas e Richards 1983	16	C Urin <78µmol/l/24h	81	0	96
Semple et al. 1984	19	C < 15	89	6	40
Burch 1985	13	C < 5,0	64	11	NR
Fahlbusch et al. 1986	101	C, ACTH, subnormais	74	7	38
Tagliaferri et al. 1986	23	N C, ACTH, C Urin	83	11	39
Chandler et al. 1987	34	N C	74	NR	NR
Nakane et al. 1987	100	NR	86	9	38
Guilhaume et al. 1988	60	C Urin <90,24h C < 10	70	14	24
Mampalam et al. 1988	216	N C, ACTH, LDD	76	5	46
Pieters et al. 1989	27	C < 7,25	59	25	48
Arnott et al. 1990	28	C Urin < 170	86	13	22
Burke et al. 1990	65	C Urin <100e/ou 24h C < 10	83	4	56
Poste Habas 1990	40	NR	78	3	NR
Tindall et al. 1990	56	N C ou C Urin	85	2	57
Ludecke 1991	103	C , ACTH subnormais	90	NR	---
Robert e Hardy 1991	78	NR	77	8	77
Tahir e Sheeler 1992	45	NR	76	21	69
Lindholm 1992	45	N C Urin ou ACTH curto	76	3	34
Trainer et al 1993	48	C < 1,8	42	0	40
McCance et al. 1993	41	C < 1,8	49	0	60
Ram et al. 1994	222	C < 5,0	87	NR	34
Bochicchio et al. 1995	668	@	76	13	46
Knappe e Ludecke 1996	310	NR	85	11	---
Sonino 1996	115	C Urin <90, N LDD	77	26	72
Devoe et al. 1997	42	C Urin<20µg/m <sup>2</sup> /24h,C<8,0	83	27	84
Blevins et al. 1998	96	C < 5,0, C Urin<15	85	16	56
Invitti et al. 1999	236	N C,ACTH,C Urin e Ins Adr	69	17	(6-120)
Swearingen et al. 1999	161	C < 5,0 C Urin < 20	85	7	103
Semple e Laws 2000	105	C subnormal	75	NR	NR
Imaki et al. 2001	49	N C,ACTH,C Urin,1mg dexta	61	13	88
Chee et al. 2001	61	N C, LDD < 3,6	79	15	88
Rees et al. 2002	54	C < 1,8	77	5	24
Yap et al. 2002	97	C < 1,8	68	11	92
Shimon et al. 2002	82	N C Urin e 1mg dexta	78	5	50

N: normalização; C: cortisol sérico (µg/dl); C Urin: cortisolúria (µg/24h);

LDD: teste dexametasona baixas doses; 24h C: cortisol à meia-noite

@: remissão dos sinais e sintomas do hipercortisolismo e não necessitar de qualquer tratamento para controlar o hipercortisolismo nos primeiros 6 meses após a cirurgia.

NR: não relatado;

Ins Adr: insuficiência adrenal

### **3. OBJETIVOS**

#### **OBJETIVO GERAL**

Avaliar o cortisol sérico no pós-operatório da cirurgia transesfenoidal de hipófise para o tratamento da doença de Cushing.

#### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Após cirurgia transesfenoidal:

1. Determinar o papel do cortisol sérico na definição de cura da doença de Cushing.
2. Comparar os níveis de cortisol sérico entre os pacientes curados e não curados.
3. Estudar a resposta imediata do cortisol, tentando estabelecer parâmetros associados à queda do cortisol no grupo dos pacientes curados.

#### 4.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO DA LITERATURA

1. Arnott R.D., Pestell R.G., McKelvie P.A., Henderson J.K., McNeill P.M., Alford F.P. A critical evaluation of transsphenoidal surgery in the treatment of Cushing's disease: prediction of outcome. *Acta Endocrinol* (123):423-430, 1990.
  2. Aron C.A, Findling J.W., Tyrrell J.B. Hypothalamus & Pituitary. In: Greenspan F.S., Strewler G.J.(Eds): *Basic & Clinical Endocrinology*. 5<sup>th</sup> Ed. Appleton & Lange, Connecticut, 1997. p95-156.
  3. Atkinson A.B. The treatment of Cushing's disease. *Clin Endocrinol* (34):507-513, 1991.
  4. Avgerinos P.C. Chrousos G. P., Nieman L.K., Oldfield E. H., Loriaux D.L., Cutler G.B. The corticotrophin-releasing hormone test in the postoperative evaluation of patients with Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* (65):906-913, 1987.
  5. Barrou Z., Guiban D., Maroufi A., et al. Overnight dexamethasone suppression test: comparison of plasma and salivary cortisol measurement for the screening of Cushing's syndrome. *Eur J Endocrinol* (134): 93-96, 1996.
  6. Beyer H.S., Matta S.G., Sharp B.M. Regulation of the messenger ribonucleic acid for corticotropin-releasing factor in the paraventricular nucleus and other brain sites of the rat. *Endocrinology* (123):2117-2123, 1988.
  7. Blevins L.S., Christy J.H., Khajavi M., Tindall G.T. Outcomes of therapy for Cushing's disease due to adrenocorticotropin-secreting pituitary macroadenomas. *J Clin Endocrinol Metab* (83):63-67, 1998.
  8. Bochicchio D., Losa M., Buchfelder M. Factors influencing the immediate and late outcome of Cushing's disease treated by transsphenoidal surgery: A retrospective study by the European Cushing's Disease Survey Group. *J Clin Endocrinol Metab* (80):3114-3120, 1995.
  9. Boggan J.E., Tyrrel J.B., Wilson C.B. Transsphenoidal microsurgical management of Cushing's disease. *J Neurosurg* (59):195-200, 1983.
  10. Boscaro M., Barzon L., Sonino N. The diagnosis of Cushing's syndrome: Atypical presentations and laboratory shortcomings. *Arch Intern Med* (160):3045-3053, 2000.
  11. Burch W.M. Cushing's disease: a review. *Arch Intern Med* (145):1106-1111, 1985.
-

12. Burcke C.W., Adams C.B.T., Estri M.M., Morris C., Bevan J.S. Transsphenoidal surgery for Cushing's disease: does what is removed determine the endocrine outcome? *Clin Endocrinol* (33): 525-537, 1990.
  13. Chandler W.F., Schteingart D.E., Lloyd R.V., McKeever PE, Ibarra-Perez G. Surgical treatment of Cushing's disease. *J Neurosurg* (66): 204-212, 1987.
  14. Chee G. H., Mathias D. B., James R. A. and Kendall-Taylor P. Transsphenoidal pituitary surgery in Cushing's disease: can we predict outcome? *Clin Endocrinol* (54):617-626, 2001.
  15. Colombo P., Dall'Asta C.H., Barbetta L., Re T., Passini E., Faglia G., Ambrosi B. Usefulness of the desmopressin test in the postoperative evaluation of patients with Cushing's disease. *Eur J Endocrinol* (143):227-234, 2000.
  16. Comtois R., Bdauregard H., Hardy J., Robert F., Somma M. High prolactin levels in patients with Cushing's disease without pathological evidence of pituitary tumor. *Clin Endocrinol* (38):601-607, 1993.
  17. Copinisch G., L'Hermite M., Leclercq R., et al. Effects of glucocorticoids on pituitary hormonal responses to hypoglycemia: inhibition of prolactin release. *J Clin Endocrinol Metab* (40):442-449, 1975.
  18. Davis L.G., Arentzen R., Reid J.M., et al. Glucocorticoid sensitivity of vasopressin mRNA levels in the paraventricular nucleus of rat. *Proc Natl Acad Sci U S A* (83):1145-1149, 1986.
  19. Devoe K.J, Miller W.L.,Conte F.A., et al. Long-term outcome in children and adolescents after transsphenoidal surgery for Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab* (82):3196-3202, 1997.
  20. Eberwine J.H., Jonassen J.A., Evinger M.J., et al. Complex transcriptional regulation by glucocorticoids and corticotropin-releasing hormone of proopiomelanocortin gene expression in rat pituitary cultures. *DNA Cell Biol* (6):483-492, 1987.
  21. Estep H.L., Island D.P., Ney R.L., et al. Pituitary-adrenal dynamics during surgical stress. *J Clin Endocrinol Metab* (23):419-425, 1963.
  22. Estrada J., Garcia-Uria J., Lamas C., Alfaro J., Lucas T., Diez S., Salto L., Barcelo B. The complete normalization of the adrenocortical function as the criterion of cure after transsphenoidal surgery for Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab* (86):5695-5699, 2001.
-

23. Extabe J., Vazquez J.A. Morbidity and mortality in Cushing's disease: an epidemiological approach. *Clin Endocrinol* (40):479-484,1994.
24. Fahlbusch R., Buchfelder M., Muller O.A. Transsphenoidal surgery for Cushing's disease. *J Royal Soc Med* (79):262-269, 1986.
25. Findling J.W., Aron D.C., Tyrrel J.B. Glucocorticoids & Adrenal Androgens. In: Greenspan F.S., Strewler G.J.(Eds): *Basic & Clinical Endocrinology*. 5<sup>th</sup> Ed. Appleton & Lange, Connecticut, 1997. p317-358.
26. Findling J.W., Raff H. Newer diagnostic techniques and problems in Cushing's disease. *Endocrinol Metab North Am* (28):191-210:1999.
27. Goth M.I., Makara G.M., Gerendai I. Hypothalamic-Pituitary Physiology and Regulation. In: Thapar K., Kovacs K., Scheithauer B.W., Lloyd R.V. (Eds): *Diagnosis and Management of Pituitary Tumors*. Human Press Inc, New Jersey, 2001. p41-55.
28. Guilhaume B., Bertagna X., Thomsen M., et al. Transsphenoidal pituitary surgery for the treatment of Cushing's disease: results in 64 patients and long-term follow-up studies. *J Clin Endocrinol Metab* (66):1056-1064, 1988.
29. Hardy J. Transphenoidal microsurgery of the normal and pathological pituitary. *Clin Neurosurg* 16:185-217, 1969.
30. Hardy J. Cushing's disease: 50 years later. *Can J Neurol Sci.* (9):375-380, 1982.
31. Hermus A. R. Early assessment of outcome of pituitary surgery for Cushing's disease. *Clin Endocrinol* (47):151-152, 1997.
32. Imaki T., Tsushima T., Hizuka N., Odagiri E., Murata Y., Suda T., Takano K. Postoperative plasma cortisol levels predict long-term outcome in patients with Cushing's disease and determine which patients should be treated with pituitary irradiation after surgery. *Endocr J* (48):53-62, 2001.
33. Inder W.J., Hunt P.J. Glucocorticoid Replacement in Pituitary Surgery: Guidelines for Perioperative Assessment and Management. *J Clin Endocrinol Metab* 87:2745-2750, 2002.
34. Invitti C., Giraldi F.P., Martin M., et al. Diagnosis and management of Cushing's syndrome: results of an Italian Multicentre Study. *J Clin Endocrinol Metab* (84):440-448, 1999.
35. Jeffcoate W.J., Dauncey S., Selby C. Restoration of dexamethasone suppression by incomplete adenectomy in Cushing's disease. *Clin Endocrinol* (23):193-199, 1985.

36. Knappe U.J., Ludecke D.K. Persistent and recurrent hypercortisolism after transsphenoidal surgery for Cushing's disease. *Acta Neurochirurgica* (65-suppl):31-34, 1996.
  37. Kuwayama A., Kageyama N., Nakane T., Watanabe M., Kanie N. Anterior pituitary function after transsphenoidal selective adenomectomy in patients with Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab* (53):165-173, 1981.
  38. Lamberts S. W. J., van der Lely A. J. and Herder W. W. Transsphenoidal selective adenomectomy is the treatment of choice in patients with Cushing's disease. Considerations Concerning Preoperative Medical Treatment and the Long-Term Follow-Up. *J Clin Endocrinol Metab* (80):3111-3113, 1995.
  39. Lindholm J. Endocrine function in patients with Cushing's disease before and after treatment. *Clin Endocrinol* (36):151-159, 1992.
  40. Lo J.C., Tyrrel J.B. Wilson C.W. Corticotroph Adenomas. In: Thapar K., Kovacs K., Scheithauer B.W., Lloyd R.V. (Eds): *Diagnosis and Management of Pituitary Tumors*. Human Press Inc, New Jersey, 2001. p317-332.
  41. Ludecke D.K. Transnasal microsurgery of Cushing's disease. Overview including personal experiences with 256 patients. *Pathol Res Pract* (187):608-612, 1991.
  42. Luger A., Deuster P.A., Kyle S.B., et al. Acute hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress of treadmill exercise: physiologic adaptations to physical training. *N Engl J Med*, (316):1309-1315, 1987.
  43. Lundblad J.R., Roberts J.L. Regulation of proopiomelanocortin gene expression in pituitary. *Endocr Rev* (9):135-158, 1988.
  44. Mamelak A.N., Dowd C.F., Tyrrel J. B., McDonald J.F., Wilson C.B. Venous angiography is need to interpret inferior petrosal sinus and cavernous sinus sampling data for lateralizing adrenocorticotropin secreting adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* (81):475-481, 1996.
  45. Mampalam T. J., Tyrrell J. B., Wilson C. B. Transsphenoidal Microsurgery in Cushing's Disease. *Ann Intern Med* (109): 487-493, 1988.
  46. McCance D. R., Gordon D.S., Fanin T.T., Hadden D.R., Kennedy L., Sheridan B., Atkinson A. B. Assessment of endocrine function after transsphenoidal surgery for Cushing's disease. *Clin Endocrinol* (38): 79-86, 1993.
  47. McCance D. R., Besser M., Atkinson A. B. Assessment of cure after transsphenoidal surgery for Cushing's disease. *Clin Endocrinol* (44): 1-6, 1996.
-

48. McDonald S.D., Van HOFe S.E., Dorfman S.G., Jordan R.M., La Morgese J.R., Young R.L. Delayed cure of Cushing's disease after transsphenoidal surgery of pituitary microadenomas. *J Neurosurgery* (49): 593-596, 1978.
  49. Melby J.C. Therapy of Cushing's disease: consensus for pituitary microsurgery. *Ann Internal Med* (109):445-446, 1988.
  50. Nakane T., Kuwayama A., Watanabe M, et al. Long-term results of transsphenoidal adenomectomy in patients with Cushing's disease. *Neurosurgery* (21): 218-222, 1987.
  51. Nasrallah M.P., Serhal K.I., Selman. W.R., et al. Discordance in the perioperative levels of plasma ACTH and serum cortisol in patients with ACTH-secreting pituitary adenomas or Cushing's disease: prediction of long-term benefit. *The Endocrine Society's 84<sup>th</sup> Annual Meeting, (Abstract), 2002.*
  52. Newell-Proce J., Trainer P., Besser M. Grossman A. The diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome and pseudo-Cushing's state. *Endocr Rew* (19):647-672, 1998.
  53. Oki Y., Peatman T.W., Qu Z.C., et al. Effects of intracellular Ca depletion and glucocorticoid on stimulated adrenocorticotropin release by rat anterior pituitary cells in a microperfusion system. *Endocrinology* (128):1589-1596,1991.
  54. Orth D.N. Corticotropin-releasing hormone in humans. *Endocr Rev* (13): 164-191, 1992.
  55. Orth D.N. Cushing's syndrome. *N Engl J Med* (332): 791-803, 1995.
  56. Orth D.N., Kovacs W.J. The Adrenal Cortex. In: Wilson J.D., Foster D.W., Kronenberg H.M., Larsen P.R. (Eds): *Williams Textbook of Endocrinology. 9<sup>th</sup> Ed.* W.B. Saunders Company, Philadelphia. p517-664,1998.
  57. Pieters F. F. F. M., Hermus A. R. M. M., Meijer E., Smals A. G. H., Kloppenborg P. W. C. Predictive factors for initial cure and relapse rate after pituitary surgery for Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab* (69):1122-1126, 1989.
  58. Pimentel-Filho F.R., Cukiert A., Miyashita F., Huayllas M.K., Knoepfelmacher M., Salgado L.R., Liberman B. Adrenocorticotropin levels do not change during early recovery of transphenoidal surgery for ACTH-secreting pituitary tumors. *J Endocrinol Invest* (24):83-87, 2001.
  59. Post K.D., Habas J.E. Comparison of long-term results between prolactin-secreting adenomas and ACTH-secreting adenomas. *Can J Neurol Sci* (17):74-77, 1990.
-

60. Raff H., Norton A.J., Flemma R.J., et al. Inhibition of the adrenocorticotropin response to surgery in humans: interaction between dexamethasone and fentanyl. *J Clin Endocrinol Metab* (65):295-298, 1987.
  61. Ram Z., Nieman L. K., Cutler G. B., Chrousos G. P., Doppman J. L., Oldfield E. H. Early repeat surgery for persistent Cushing's disease. *J Neurosurg* (80): 37-45, 1994.
  62. Rees D. A., Hanna F.W.F., Davies J.S., Mills R.G., Vafidis J., Scanlon M.F. Long-term follow-up results of transsphenoidal surgery for Cushing's disease in a single centre using strict criteria for remission. *Clin Endocrinol* (56):541-551, 2002.
  63. Robert F., Hardy J. Cushing's disease: a correlation of radiological, surgical and pathological findings with therapeutic results. *Pathol Res Pract* (187):617-621, 1991.
  64. Salassa R.M., Laws Jr E.R., Carpenter P.C., Northcutt R.C. Transsphenoidal removal of pituitary microadenoma in Cushing's disease. *Mayo Clin Proc* (53): 24-28, 1978.
  65. Semple C.G., Thomson J.A., Teasdale G.M. Transsphenoidal microsurgery for Cushing's disease. *Clin Endocrinol* (21):621-629, 1984.
  66. Semple P. L., Lee Vance M., Findling J., Laws Jr. E. R. Transsphenoidal surgery for Cushing's disease: Outcome in patients with a normal magnetic resonance imaging scan. *Neurosurgery* (46):553-559, 2000.
  67. Sheehan J. M., Lopes B., Sheehan J. P., Ellegala K., Webb K. M., Laws Jr. E. R. Results of transsphenoidal surgery for Cushing's disease in patients with no histologically confirmed tumor. *Neurosurgery* (47): 33-39,2000.
  68. Shimon I., Ram Z Cohen Z.R., Hadani M. Transsphenoidal surgery for Cushing's disease: endocrinological follow-up monitoring of 82 patients. *Neurosurgery* (51):57-61, 2002.
  69. Simmons N. E., Alden T. D., Thorner M. O., Laws Jr. E. R. Serum cortisol response to transsphenoidal surgery for Cushing disease. *J Neurosurg* (95): 1-8, 2001.
  70. Sonino N., Zielesny M., Fava G.A., Fallo F., Boscaro M. Risk factors and long-term outcome in pituitary dependent Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab* (81):2647-2652, 1996.
  71. Swearingen B, Biller B. M. K., Barker F. G., Katznelson L., Grinspoon S., Klibanski A., Zervas N. T. Long-Term Mortality after Transsphenoidal Surgery for Cushing's Disease. *Ann Intern Med* (130): 821-824,1999.
-



72. Tahir A.H., Sheeler L.R. Recurrent Cushing's disease after transsphenoidal surgery. *Arch Intern Med* (152):977-981, 1992.
  73. Tagliaferri A. Berselli M., Loli P. Transsphenoidal microsurgery for Cushing's disease. *Acta Endocrinol* (113): 5-11, 1986.
  74. Thomas J.P., Richards S.H. Long-term results of radical hypophysectomy for Cushing's disease. *Clin Endocrinol* (19):629-636, 1983
  75. Tindall G.T., Herring C.J., Clark R.V., Adams D.A., Wattas N.B. Cushing's disease: results of transsphenoidal microsurgery with emphasis on surgical failures. *J Neurosurg* (72):363-369, 1990.
  76. Trainer P. J., Lawrie H. S., Verhelst J., Howlett T. A., Lowe D.G., Grossman A.B., Sabage M. O., Afshar F., Besser M. Transsphenoidal resection in Cushing's disease: undetectable serum cortisol as the definition of successful treatment. *Clin Endocrinol* (38): 73-78, 1993.
  77. Udelsman R., Norton J.A., Jelenich S.E., et al. Responses of the hypothalamic-pituitary-adrenal and renin-angiotensin axis and sympathetic system during controlled surgical and anesthetic stress. *J Clin Endocrinol Metab* (64):986-994, 1987.
  78. Veldhuis J.D., Iranmanesh A., Johnson M.L., et al. Amplitude, but not frequency, modulation of adrenocorticotropin secretory burst gives rise to the nyctohemeral rhythm of corticotropic axis in men. *J Clin Endocrinol Metab* (71):452-463, 1990.
  79. Vignati F., Berselli M.E., Loli P. Early postoperative evaluation in patients with Cushing's disease usefulness of ovine corticotropin-releasing hormone test in the prediction of recurrence of disease. *Eur J Endocrinol* (13): 235-241, 1994.
  80. Wilson C.B, Dempsey L.C. Transsphenoidal microsurgery removal of 250 pituitary adenomas. *J Neurosurg* (48):13-22, 1978.
  81. Wilson C.B. A decade of pituitary microsurgery. *J Neurosurg* (61):814-833,1984.
  82. Wilson C.B., Mindermann T., Tyrrel J.B. Extrasellar, intravascular sinus adrenocorticotropin-releasing adenoma causing Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab* (80):1774-1777, 1995.
  83. Yap L.B., Turner H.E., Adams C.B.T., Wass J.A.H. Undetectable postoperative cortisol does not always predict long-term remission in Cushing's disease: a single centre audit. *Clin Endocrinol* (56): 25-31, 2002.
-

## 5.ARTIGO EM PORTUGUÊS

### **Cortisol Sérico Após Cirurgia Transesfenoidal na Doença de Cushing : Contribuições Para o Estabelecimento de Critérios de Cura**

**Rollin GAFS, Ferreira NP, Junges M, Gross JL, Czepielewski MA.**

**Serviço de Endocrinologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre;  
Hospital São José, Irmandade da Santa Casa de Misericórdia, Porto Alegre;  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia,  
Faculdade de Medicina, UFRGS, Brasil.**

Endereço para correspondência:

Prof Dr. Mauro A Czepielewski, Serviço de Endocrinologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Av. Ramiro Barcelos, 2350/Prédio 4, 4º andar; CEP 90035 –003, Porto Alegre, Brasil. Fone/Fax: 55 51 33168127

E-mail: [maurocze@terra.com.br](mailto:maurocze@terra.com.br)

**Unitermos:** Doença de Cushing, Cirurgia transesfenoidal, Cortisol pós-operatório, Hiper cortisolismo, Critérios de cura.

## Abstract

Transsphenoidal pituitary surgery remains the treatment of choice for Cushing's disease. Despite the widespread acceptance of the procedure, there is general lack of agreement regarding a definition of cure. We studied prospectively the postoperative serum cortisol dynamics in 41 patients with Cushing's disease (a total of 45 surgeries; female to male rate 30:11; mean age was 38,1 years). The mean postoperative follow-up period was 4,8 years. Remission was defined as clinical and laboratorial signs of adrenal insufficiency, period of glucocorticoid dependence, serum cortisol suppression on oral 1mg dexamethasone overnight suppression test. Serum cortisol was measured preoperative and 6h, 12h, 24h (28 surgeries) and 10-12 postoperative day (45 surgeries). No statistical difference in mean preoperative and 6h postoperative cortisol levels between surgically induced remission ( $22,1 \pm 7,73 \mu\text{g/dl}$  and  $25,2 \pm 19 \mu\text{g/dl}$ ) and surgical failure patients ( $23,6 \pm 6,95 \mu\text{g/dl}$  and  $37,5 \pm 18,1$ ) was detected ( $p=0,50$  and  $p=0,17$ ). At 12 and 24 postoperative hour the difference was significant ( $p=0,009$  and  $p<0,0001$ ). In the remission group, mean cortisol levels was  $12,44 \pm 13,3 \mu\text{g/dl}$  and  $4,72 \pm 6,72 \mu\text{g/dl}$  and in the failure group, was  $26,3 \pm 7,06 \mu\text{g/dl}$  and  $23,5 \pm 6,86 \mu\text{g/dl}$  ( $p=0,009$ ;  $p<0,0001$ ). At 10-12 day postoperative the difference was also significant ( $p<0,0001$ ): cortisol levels were  $2,52 \pm 3,32 \mu\text{g/dl}$  in the remission group and  $24,9 \pm 13,3 \mu\text{g/dl}$  in the failure group. Twenty cured patients were stratified in two groups according the severity of hypercortisolism: mild Cushing's disease (Group I) and usual Cushing's disease (Group II). In Group I, mean cortisol levels preoperative and 6, 12 and 24h postoperative were  $20,1 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 5,3$ ),  $31,2 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 16,1$ ),  $19,9 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 15,2$ ) and  $6,8 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 8,6$ ). In Group II, were  $23,9 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 8,8$ ),  $17,8 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 18,9$ ),  $6,1 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 6,1$ ) and  $3,2 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 3,9$ ). Difference was statistically significant only at 12h postoperative ( $p=0,035$ ) and at 6h was borderline ( $p=0,06$ ). In group I, at 10-12 day postoperative, the mean serum cortisol in group I was  $4,8 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 5,2$ ) and in group II was  $2,1 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 1,9$ ) without statistical difference. Considering cortisol nadir during the first 10-12 postoperative day as remission criteria, a level of  $7,5 \mu\text{g/dl}$  means 100% sensitivity and specificity. In conclusion, undetectable serum cortisol is not always necessary to define cure in the immediate postoperative period of transsphenoidal surgery for Cushing's disease. During the first 10-12 postoperative day, cortisol nadir classified correctly the remission (cortisol of  $7,0 \mu\text{g/dl}$  or less) and the failure group (cortisol of  $8,0 \mu\text{g/dl}$  or more). But only long-term follow-up could confirm definitive cure in patients with Cushing's disease.

## Resumo

A cirurgia transesfenoidal (CTE) ainda é indiscutivelmente o tratamento de escolha para a doença de Cushing (DC). Por outro lado, em relação aos critérios de cura, não há unanimidade sobre os melhores parâmetros para definir a cura. Neste trabalho, estudamos prospectivamente 41 pacientes com doença de Cushing (em um total de 45 cirurgias; 11 homens e 30 mulheres com média de idade de 38,1 anos) durante um período médio de acompanhamento de 4,8 anos. Os critérios de cura adotados foram: insuficiência adrenal clínica e laboratorial, período de dependência ao glicocorticóide, supressão do cortisol sérico após 1mg de dexametasona “overnight”. Cortisol foi medido antes da CTE e 6h, 12h, 24h (em 28 cirurgias) e 10-12 dias após (45 cirurgias). Não houve diferença estatística ( $p=0,50$  e  $p=0,17$ ) na média do cortisol pré-operatório e 6h após a cirurgia entre o grupo de pacientes curados ( $22,1 \pm 7,73$   $\mu\text{g/dl}$  e  $25,2 \pm 19$   $\mu\text{g/dl}$ ) e não curados ( $23,6 \pm 6,95$   $\mu\text{g/dl}$  e  $37,5 \pm 18,1$   $\mu\text{g/dl}$ ). Após 12h e 24h da cirurgia, a diferença tornou-se significativa ( $p=0,009$  e  $p<0,0001$ ), sendo os níveis de cortisol de  $12,44 \pm 13,3$   $\mu\text{g/dl}$  e  $4,72 \pm 6,72$   $\mu\text{g/dl}$  nos pacientes curados, e  $26,3 \pm 7,06$   $\mu\text{g/dl}$  e  $23,5 \pm 6,86$   $\mu\text{g/dl}$  nos não curados. Na avaliação do 10-12º pós-operatório, a média do cortisol foi significativamente menor no grupo dos curados ( $2,52 \pm 3,32$   $\mu\text{g/dl}$  vs  $24,9 \pm 13,3$   $\mu\text{g/dl}$ ;  $p<0,0001$ ). Vinte pacientes curados da DC foram subdivididos em dois grupos de acordo com a severidade do hipercortisolismo: DC leve (Grupo I) e DC usual (Grupo II). No Grupo I, as médias do cortisol pré-operatória e 6h, 12h e 24h após a CTE foram  $20,1 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 5,3$ ),  $31,2 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 16,1$ ),  $19,9 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 15,2$ ) e  $6,8 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 8,6$ ). No Grupo II, foram  $23,9 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 8,8$ ),  $17,8 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 18,9$ ),  $6,1 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 6,1$ ) e  $3,2 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 3,9$ ). Obteve-se diferença estatisticamente significativa apenas na 12ª h pós-operatória ( $p=0,035$ ), sendo a diferença na 6ª h quase significativa ( $p=0,06$ ). Na avaliação do 10-12º dia, no Grupo I a média do cortisol foi  $4,8$   $\mu\text{g/dl}$  ( $\pm 5,2$ ) e no Grupo II, foi  $2,1 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 1,9$ ), não havendo diferença estatística. Considerando um nadir do cortisol de  $7,5$   $\mu\text{g/dl}$  para definição de cura da DC, obtemos sensibilidade e especificidade de 100%. Concluindo, níveis de cortisol indetectáveis não são obrigatórios para o estabelecimento da cura do pós-operatório imediato da CTE para a DC. Durante os primeiros 10-12 dias, o nadir do cortisol diferencia corretamente os curados (cortisol igual ou inferior a  $7,0$   $\mu\text{g/dl}$ ) dos não curados (cortisol igual ou superior a  $8,0$   $\mu\text{g/dl}$ ). Porém, apenas o acompanhamento a longo prazo pode confirmar a cura definitiva nos pacientes com DC.

## **Introdução**

A cirurgia transesfenoidal (CTE) é o tratamento de escolha para pacientes com Doença de Cushing (DC), obtendo-se o controle da doença em 60 a 90% dos casos, conforme a experiência de diversas casuísticas (Tabela 1). A análise detalhada destas diversas séries demonstra porém que não há homogeneidade na definição dos critérios clínicos e hormonais que possam considerar os pacientes como curados. Além disso, os protocolos de manejo pré, trans e pós-operatório são bastante variáveis, com vários autores sugerindo o uso rotineiro de reposição glicocorticóide (Fahlbush et al., 1986; Treiner et al., 1993; Chee et al., 2001; Yap et al., 2002; Rees et al., 2002; Shimon et al., 2002; Inder and Hunt, 2002) e outros recomendando esta reposição somente em pacientes que exibirem sinais clínicos e hormonais de insuficiência adrenal (Simmons et al., 2001; Nasrallah et al., 2002). Em decorrência destas controvérsias e de poucos estudos prospectivos, são escassas as informações relativas ao comportamento do cortisol no período de pós-operatório imediato e tardio destes pacientes.

Neste trabalho estudamos prospectivamente o comportamento do cortisol sérico de um grupo de pacientes com DC avaliados no período de pós-operatório imediato (até 24 horas após a cirurgia) e entre o 10 e 12º dia após o procedimento. As informações assim obtidas pretendem contribuir para o estabelecimento de critérios hormonais de cura e recidiva da DC.

## **Pacientes e Métodos**

Quarenta e oito pacientes com DC foram submetidos à CTE de hipófise pela primeira vez. Uma paciente já tinha sido operada em outro Centro. Em dois casos, a CTE foi repetida em um intervalo menor que duas semanas pois os pacientes mantiveram níveis altos de cortisol sérico e urinário após a primeira cirurgia. Em outros dois casos, a segunda cirurgia ocorreu após recorrência da DC, cerca de 4,5 e 5,5 anos após a primeira CTE. No total, foram realizadas 53 cirurgias. Oito pacientes (7 curados e 1 não curado) foram avaliados no pré-operatório e acompanhados após a cirurgia por seus médicos assistentes em outros locais e os seus resultados hormonais não foram incluídos na análise dos dados. Assim, 41 pacientes submetidos a um total de 45 cirurgias foram analisados. A relação homem:mulher foi de 11:30, a média de idade foi 38,1 anos

(variação:12-62 anos), sendo 6 pacientes com 18 anos ou menos. O período de seguimento variou de 4 a 170 meses, com média de 4,8 anos.

**Tabela 1: Compilação de Resultados da Cirurgia Transesfenoidal para Doença de Cushing ( 1978 – 2002 )**

Referência	n	Critério de Cura	Remissão (%)	Recorrência (%)	Seguimento (meses)
Salassa et al. 1978	18	LDD, teste metirapona	89	0	18
Kuwayama et al. 1981	25	Ins Adr	88	5	25
Hardy 1982	75	N C, C Urin, 17OHCS	84	3	21
Boggan et al. 1983	100	N C, ACTH, C Urin	78	5	---
Thomas e Richards 1983	16	C Urin <78µmol//24h	81	0	96
Semple et al. 1984	19	C < 15	89	6	40
Burch 1985	13	C < 5,0	64	11	NR
Fahlbusch et al. 1986	101	C, ACTH, subnormais	74	7	38
Tagliaferri et al. 1986	23	N C, ACTH, C Urin	83	11	39
Chandler et al. 1987	34	N C	74	NR	NR
Nakane et al. 1987	100	NR	86	9	38
Guilhaume et al. 1988	60	C Urin <90,24h C < 10	70	14	24
Mampalam et al. 1988	216	N C, ACTH, LDD	76	5	46
Pieters et al. 1989	27	C < 7,25	59	25	48
Arnott et al. 1990	28	C Urin < 170	86	13	22
Burke et al. 1990	65	C Urin <100e/ou 24h C < 10	83	4	56
Poste Habas 1990	40	NR	78	3	NR
Tindall et al. 1990	56	N C ou C Urin	85	2	57
Ludecke 1991	103	C, ACTH subnormais	90	NR	---
Robert e Hardy 1991	78	NR	77	8	77
Tahir e Sheeler 1992	45	NR	76	21	69
Lindholm 1992	45	N C Urin ou ACTH curto	76	3	34
Trainer et al 1993	48	C < 1,8	42	0	40
McCance et al. 1993	41	C < 1,8	49	0	60
Ram et al. 1994	222	C < 5,0	87	NR	34
Bochicchio et al. 1995	668	@	76	13	46
Knappe e Ludecke 1996	310	NR	85	11	---
Sonino 1996	115	C Urin <90, N LDD	77	26	72
Devoe et al. 1997	42	C Urin<20µg/m <sup>2</sup> /24h,C<8,0	83	27	84
Blevins et al. 1998	96	C < 5,0, C Urin<15	85	16	56
Invitti et al. 1999	236	N C,ACTH,C Urin e Ins Adr	69	17	(6-120)
Swearingen et al. 1999	161	C < 5,0 C Urin < 20	85	7	103
Semple e Laws 2000	105	C subnormal	75	NR	NR
Imaki et al. 2001	49	N C,ACTH,C Urin,1mg dexta	61	13	88
Chee et al. 2001	61	N C, LDD < 3,6	79	15	88
Rees et al. 2002	54	C < 1,8	77	5	24
Yap et al. 2002	97	C < 1,8	68	11	92
Shimon et al. 2002	82	N C Urin e 1mg dexta	78	5	50

N: normalização; C: cortisol sérico (µg/dl); C Urin: cortisolúria (µg/24h);

LDD: teste dexametasona baixas doses; 24h C: cortisol à meia-noite

@: remissão dos sinais e sintomas do hipercortisolismo e não necessitar de qualquer tratamento para controlar o hipercortisolismo nos primeiros 6 meses após a cirurgia.

NR: não relatado;

Ins Adr: insuficiência adrenal

As principais manifestações clínicas de 49 pacientes com DC estão ilustradas na Tabela 2. A avaliação pré-operatória dos 43 pacientes analisados nesta casuística encontra-se na Tabela 3.

**Tabela 2: Características Clínicas de 49 Pacientes com Doença de Cushing**

Obesidade Centrípeta / Aumento de Peso	49 (100%)
Plethora	32 (65%)
Hipertensão Arterial Sistêmica	31 (63%)
Acne / Hirsutismo	24 (49%)
Hiperpigmentação	22 (45%)
Diabete Melito	18 (37%)
Fragilidade Capilar	18 (37%)
Miopatia	18 (37%)
Estrias Violáceas	13 (27%)
Distúrbio Psiquiátrico	05 (10%)
História de Nefrolitíase	04 (8%)

### **Critérios Diagnósticos: Síndrome e Doença de Cushing**

O diagnóstico da síndrome de Cushing foi estabelecido através do aumento do cortisol urinário livre, ausência do ritmo circadiano de secreção do cortisol (cortisol à meia-noite superior a 7,5 µg/dl), e/ou não supressão do cortisol sérico e urinário após o teste com baixas doses de dexametasona ( 2 mg/dia – 2 dias ) (Tabela 3). Em 24% dos casos (10/42), o diagnóstico foi estabelecido apesar de haver supressão com doses baixas de dexametasona, em decorrência de serem demonstradas outras alterações compatíveis com a DC ( ausência de supressão com 1 mg, cortisolúria elevada, ACTH basal elevado e/ou responsivo ao DDAVP 10 ug EV ).

O diagnóstico de DC foi determinado através da supressão do cortisol sérico e urinário após o teste com altas doses de dexametasona (queda maior ou igual a 50% dos valores basais do cortisol sérico/urinário após 8 mg/dia – 2 dias), ACTH

plasmático basal normal ou alto, aumento do ACTH após administração endovenosa do DDAVP, e/ou investigação de imagem hipofisária demonstrando achados compatíveis com adenoma (Tabelas 3 e 4 ). Além disso, o acompanhamento a longo prazo dos pacientes operados permitiram a confirmação do diagnóstico pré-operatório, em decorrência da reversão de seus diversos e severos problemas clínicos associados (obesidade centrípeta, estrias, hipertensão arterial, diabetes mérito, hipocalcemia, fraqueza muscular, entre outros)

Em relação à imagem hipofisária, de 44 tomografias computadorizadas (TC) de hipófise realizadas, 19 (43%) não mostraram adenoma hipofisário, enquanto que das 21 ressonâncias magnéticas (RM) realizadas, 7 (33%) foram consideradas normais. Como nem todos os pacientes com TC normais realizaram RM, dos 51 exames de imagem avaliados (49 pacientes somados a dois casos de recidiva), o índice geral de imagem negativa foi de 23,5% (12/51).

### **Cirurgia Transesfenoidal (CTE)**

A CTE foi realizada pelo mesmo cirurgião em todos os casos, empregando-se a abordagem sublabial, pelo menos 14 dias após a conclusão da investigação diagnóstica, que incluiu os testes de supressão com dexametasona. Assim, nenhum paciente realizou a CTE sob efeito de reposição glicocorticóide ou qualquer medicamento que alterasse a secreção de ACTH ou cortisol. Todos os pacientes receberam antibiótico-profilaxia (sulfametoxazol-trimetoprim) até retirada do tampão nasal e/ou lombostomia, quando necessária. Nas últimas 28 cirurgias não foi administrado glicocorticóide pelo menos nas primeiras 24 horas de pós-operatório, ou por um período maior, dependendo da evolução dos pacientes (ver avaliação pós-operatória). Em todos os casos foi evidenciado o adenoma durante a cirurgia, obtendo-se estudo histológico nas 45 cirurgias analisadas. O adenoma foi confirmado em 42 casos, em um caso o anatomopatológico foi de hiperplasia e em dois, tecido hipofisário normal (um deles em uma das pacientes com recidiva da DC, que não ficou curada na segunda cirurgia). Os outros dois pacientes sem adenoma no estudo histológico ficaram curados.



**Tabela 3 : Dados clínicos e hormonais pré-operatórios de 43 pacientes com Doença de Cushing**

Número	Sexo	IMC Kg/m <sup>2</sup>	Tempo (anos)	CoUr 24h	CoS (0h)	Pós 2 mg dexa CoS	CoUr24h	Pós 8 mg dexa CoS	CoUr24h	ACTH (pg/ml)	MA
01	Masc	24,8	1,0	2173	68	15,8	440	5,6	140	---	-
02	Fem	25,7	1,0	1007	23,8	20,5	1839	8,1	34,8	24,7	-
03	Fem	30,9	5,0	524	16,9	22,8	7,7	13,2	41	---	-
04	Fem	34,6	2,0	192	18,4	31,4	271	19,8	116	74	-
05	Masc	26,1	1,0	346	26,5	15,5	545	15,5	210	69,2	-
06	Masc	26,9	5,0	83	11,1	1,0	16,9	0,5	14,2	148	-
07	Masc	24,4	5,0	67	19,6	6,6	45,6	0,9	10	41,2	-
08	Fem	29,3	5,0	115	14,9	4,2	30,2	3,9	18	33	-
09	Fem	32,1	5,0	592	19,8	9,4	48	1,1	20	59,6	-
10	Fem	26,0	4,0	115	18,5	2	23,7	1,8	10,5	39,1	-
11	Masc	42,9	5,0	1151	9,4	8,2	550	3,0	91	47	-
12	Masc	31,2	10	157	27	20,7	36	2,4	---	41	-
13	Fem	21,7	5,0	119	18,2	4,4	30,7	2,8	7,5	66	+
14	Fem	28,4	10	211	21	11,7	14	4,5	10	44	+
15	Fem	39,3	5,0	120	42	20	16	6,7	5	22,6	-
16	Fem	35,2	6,0	60	27	2,6	19,8	1,0	15,5	29	-
17	Fem	39,9	6,0	263	21,2	31,5	195	20,5	10	35	-
18	Fem	30,8	5,0	379	27,1	5,8	54	3,6	10	41	-
19 *	Fem	27,3	1,0	147	18,2	6,6	12	1,7	8,0	45	-
20	Fem	33,1	3,0	502	24,8	---	---	12,8	48	60	-
21	Fem	33,3	1,0	144	24,5	4,9	10	10,8	10	52	-
22	Fem	35,1	3,0	123	21	5,9	26,9	1,4	24	---	-
23	Fem	39,6	0,5	576	15,6	27	280	18	100	---	-
24	Masc	26,9	3,0	436	17	6,6	167	2,1	51,9	---	-
25	Fem	30,2	3,0	484	22	19,1	458	2,0	27	---	-
26	Masc	21,8	0,8	385	26	10	330	2,0	60	---	-
27	Fem	30,8	3,0	1500	---	15,8	2100	31	1100	---	-
28	Fem	32,8	1,0	422	---	22,5	502	5,2	270	---	-
29	Fem	26,6	4,0	700	---	6,2	57	3,0	13,5	---	+
30	Fem	32,2	1,0	348	---	7,7	60	6,3	38,8	---	+
31	Fem	28,8	1,0	267	16,9	3,1	36	1,5	20,9	---	-
32	Fem	27,5	0,3	190	---	9,4	40,2	1,0	10	---	+
33	Fem	31	3,5	115	---	22,5	210	5,7	75	---	-
34	Masc	28,8	2,0	400	---	15,8	148	4,9	99	---	-
35	Fem	28,5	1,3	1021	---	95	984	8,2	150	---	-
36	Fem	43,8	7,0	40	21,8	28	238	31,5	253	---	-
37	Fem	27,2	2,0	764	22,1	12,4	28,6	2,2	52,9	58,2	+
38 *	Fem	56,8	2,0	84	20,5	27,3	92,7	24,8	117	50	-
39 #	Fem	34,0	3,0	864	45,3	17,2	623	31,4	84,9	63	+
40	Fem	25,2	8,0	180	24	10,2	32,7	12,6	39,9	62,9	+
41	Fem	30,8	7,0	209	22,7	40,4	104	16,4	24,4	86,2	-
42	Masc	31,6	0,5	371	26,7	9,0	408	2,8	80	---	-
43	Masc	29,2	3,0	358	36	29	100	8,0	125	---	-

IMC = índice de massa corporal

Tempo: tempo de hipercortisolismo até o diagnóstico

CoS= cortisol sérico às 8 hs em ug/dl;

CoS 0h = cortisol sérico à meia-noite em ug/dl

CoUr = cortisol livre urinário de 24 hs em ug/24hs

Pós 2 mg dexa: valores de cortisol sérico e urinário após 2 mg VO de dexametasona /2 dias

Pós 8 mg dexa: valores de cortisol sérico e urinário após 8 mg VO de dexametasona/2 dias

MA: macroadenoma

\* Recidiva

# Segunda cirurgia

**Tabela 4: Resumo dos Achados da Avaliação Laboratorial em 49 Pacientes com Doença de Cushing**

Cortisolúria elevada	46 / 49 (94%)
Cortisol meia-noite > 7,5 ug/dl	39 / 39 (100%)
Não supressão com 2 mg dexa	32 / 42 (76,2%)
Supressão com 8 mg dexa	38 / 43 (88,4%)
ACTH basal elevado	13 / 24 (54,2%)
Aumento do ACTH > 50% após DDAVP	20 / 21 (95,2%)

### **Avaliação Pós-operatória**

#### Protocolo I:

A avaliação pós-operatória dos 17 primeiros pacientes acompanhados, consistiu na dosagem do cortisol sérico e urinário entre 10<sup>o</sup> e 12<sup>o</sup> dia de pós-operatório. Estas coletas foram realizadas iniciando-se a coleta de urina às 8 horas da manhã e após 24 horas depois da última dose de dexametasona ( 0,5 mg/dia ). A coleta do cortisol sérico foi realizada às 8 horas após 48 horas da última dose de reposição de dexametasona . Estes pacientes recebiam hidrocortisona 100 mg EV no intraoperatório e 50 mg EV a cada 6 horas nas primeiras 24 a 48 horas, e dependendo da recuperação da via oral, a seguir 5 mg VO de prednisona (às 8 horas da manhã) até o 5<sup>o</sup> ou 6<sup>o</sup> dia de pós-operatório, quando a medicação era substituída por 0,5 mg de dexametasona ( 8 horas da manhã ) até a coleta das dosagens de cortisol sérico e urinário. Os pacientes com níveis de cortisol sérico e/ou urinários indetectáveis ou muito baixos, e/ou sinais e sintomas de insuficiência adrenal continuavam a reposição de glicocorticóide até a recuperação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Após o período de insuficiência adrenal e dependência ao glicocorticóide, nos casos considerados curados, os pacientes foram submetidos periodicamente ao teste com 1 mg de dexametasona “overnight”, pelo menos a cada 12 meses.

#### Protocolo II:

Após a observação do primeiro grupo de pacientes, o protocolo de avaliação pós-operatório sofreu modificações com o objetivo de avaliar mais precocemente os níveis séricos do cortisol e, eventualmente, até determinar mais rapidamente a probabilidade de cura. Assim, os últimos 26 pacientes avaliados (em um total de 28 cirurgias) não receberam reposição de glicocorticóide no pré, transoperatório e no pós-operatório imediato. O cortisol foi coletado antes da cirurgia, 6h, 12 e 24h após. Conforme o resultado, iniciava-se a reposição de glicocorticóide ou o paciente permanecia em observação, realizando-se coletas diárias de cortisol. Entre o 10<sup>o</sup> ao 12<sup>o</sup> dia de pós-operatório, novamente eram dosados os níveis séricos e urinários de cortisol. Quatro dias antes destas dosagens, a prednisona era trocada por dexametasona ( 0,5 mg ) e após 48 hs sem corticóide, coletava-se cortisol sérico às 8hs e em urina de 24hs, à semelhança do Protocolo I. Posteriormente a esta avaliação, seguiu-se o acompanhamento à semelhança do primeiro grupo de pacientes estudado.

No sentido de melhor estudar a dinâmica pós-operatória do cortisol, um grupo de pacientes curados nos quais estudamos o cortisol no pós-operatório imediato, foram classificados ainda como portadores de DC “Leve” ( Grupo I ) ou “Habitual” (Grupo II). Foram considerados como portadores de DC “Leve” os pacientes com cortisolúria de 24h de até 3 vezes o limite superior da normalidade (270 µg/24h; cortisolúria normal <90 µg/24h) e que apresentaram supressão do cortisol sérico ou urinário no teste com dexametasona 2 mg/dia- 2dias (<5,0 µg/dl ou <20 µg/24h). Assim, 9 pacientes foram classificados no grupo I (“Leve”) e 11 pacientes no grupo II (“Habitual”) sendo que uma criança foi excluída desta análise.

#### **Critérios de Cura**

A cura da DC foi estabelecida através do seguimento a longo prazo, sendo considerados curados os pacientes que apresentaram os seguintes critérios:

1. quadro clínico e laboratorial de insuficiência adrenal
2. período de dependência ao glicocorticóide
3. supressão normal do cortisol sérico após 1 mg de dexametasona “overnight” ( cortisol 8 hs < 3 ug/dl )
4. remissão clínica do estado de hipercortisolismo.

## **Dosagens Hormonais**

As dosagens de cortisol sérico e urinário foram realizados por Radioimunoensaio (Diagnostic Systems Laboratories Inc, Webster, Texas), com valores de referência de 5-25 µg/dl para cortisol sérico as 8h e inferior a 90 µg/24h para cortisolúria. Limite de detecção é de 0,3 µg/dl e coeficientes de variação intra- e inter-ensaio de 8,3% e 9,8%, respectivamente. Durante as primeiras 24h e primeiros 4 dias pós-operatório (quando medido), o cortisol sérico foi dosado por quimioluminescência (Automated Chemiluminescence System; Bayer Diagnostics, Tarrytown, NY). Limite de detecção é de 0,2µg/dl e coeficientes de variação intra- e inter-ensaio de 6,0% e 8,4%, respectivamente.

O ACTH foi dosado por quimioluminescência (Immulite; Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA), com valores de referência de 0-46 pg/ml. Limite de detecção é de 5,0 pg/ml e coeficientes de variação intra- e inter-ensaio de 5,6% e 7,75%, respectivamente.

## **Análise Estatística**

Foram realizados testes não paramétricos de Mann-Whitney para a comparação entre os dois grupos (curados e não curados; cushing “leve” e “habitual”), já que a variância entre os grupos foi diferente. O nível de significância adotado foi de 0,05.

## **Resultados**

Dos 48 pacientes submetidos pela primeira vez à CTE, 42 (87,5%) foram considerados curados. As duas pacientes reoperadas precocemente não ficaram curadas. Em relação às duas recidivas, uma paciente ficou curada e a outra não. Finalmente, a paciente que já tinha sido operada pela primeira vez em outro centro, apresentava adenoma com invasão do seio cavernoso direito e também não ficou curada. Assim, a análise final foi realizada a partir de 45 cirurgias, das quais 9 (20%) não foram curativas.

Em relação aos níveis de cortisol no pós-operatório, os valores basais, 6h, 12h, 24h, e 10-12 dias após a CTE estão expressos nas Tabelas 5 e 6. Não há diferença estatisticamente significativa nos níveis basais e 6hs pós-operatória entre os grupos de pacientes curados ( $22,1 \pm 7,73 \mu\text{g/dl}$ ;  $25,2 \pm 19 \mu\text{g/dl}$ ) quando comparados com os não curados ( $23,6 \pm 6,95 \mu\text{g/dl}$ ;  $37,5 \pm 18,1 \mu\text{g/dl}$ ). A partir de 12hs após a CTE, a diferença tornou-se estatisticamente significativa entre os dois grupos. A média do cortisol no grupo dos pacientes curados na 12<sup>a</sup> e 24<sup>a</sup> hora pós-operatória foi de  $12,44 \pm 13,3 \mu\text{g/dl}$  e  $4,72 \pm 6,72 \mu\text{g/dl}$  e no grupo dos não curados foi de  $26,3 \pm 7,06 \mu\text{g/dl}$  e  $23,5 \pm 6,86 \mu\text{g/dl}$ , com  $p=0,009$  e  $p<0,0001$ , respectivamente (Figura 1). Avaliando-se os pacientes individualmente (Figura 2), observa-se uma grande heterogeneidade dos níveis de cortisol após a CTE, especialmente nos pacientes curados. Havendo uma tendência de concentração em valores baixos a partir de 24h pós-operatória.

No 10–12<sup>o</sup> dia após a CTE a diferença também foi estatisticamente significativa ( $p < 0,0001$ ). No 10–12<sup>o</sup> dia, a média do cortisol foi de  $2,52 \pm 3,32 \mu\text{g/dl}$  e  $24,9 \pm 13,3 \mu\text{g/dl}$  nos pacientes curados e não curados, respectivamente (Figura 1).

**Tabela 5: Avaliação Pós-Operatória em Pacientes com Doença de Cushing Submetidos ao Protocolo I de Acompanhamento**

Nº	Cortisol Pré-Op	Cortisol 10-12d	Cortisol Pós 1mg dexa	Dependência ( meses )	Seguimento ( meses )
22	25,6	0,84	0,49	04	86
23	36	0,78	1,1	30	88
24	23,7	0,25	0,89	06	81
24	17,7	1,9	uso de prednisona	-	112
26	43	4,2	1,0	04	112
27	15,5	1,4	2,3	14	120
28	36,5	0,3	uso de prednisona	-	12
29	21	3,2	1,7	04	Recidiva após 5,5 anos
30	33	1,11	2,2	06	90
31	22,7	1,5	1,48	05	84
32	31	3,2	uso de prednisona	-	170
33	25	1,0	uso de prednisona	-	148
34	21,9	0,9	uso de prednisona	-	06
35	43	1,6	0,83	07	122
36	23,1	1,2	1,0	07	Recidiva após 4,5 anos
42	21,8	14,9	não curado	-	86
43	34	24,5	não curado	-	120

Dependência= período em que os pacientes necessitaram de reposição glicocorticóide, em meses

**Tabela 6: Avaliação Pós-Operatória em Pacientes com Doença de Cushing Submetidos ao Protocolo II de Acompanhamento**

Nº	Cortisol PréOp	Cortisol 6h	Cortisol 12h	Cortisol 24h	Cortisol 10-12d	Cortisol pós 1mg dexa	Dependência ( meses )	Seguimento (meses)
01	20,3	25,2	13,9	8,4	2,39	1,8	05	12
02	14,2	5,2	1,4	1,1	0,76	1,0	06	55
03	42,1	3,7	1,7	0,8	0,56	uso de prednisona	-	48
04	22,5	10,3	2,3	2,8	0,5	1,0	04	48
05	35	67,8	---	13,4	6,5	1,0	18	45
06	11,6	2,2	0,5	0,2	0,32	1,38	07	43
07	20,1	32,9	12,8	2,6	0,82	---	07	40
08	18,5	14,8	12,7	4,5	5,3	1,77	04	50
09	20,1	33,3	16,9	3,7	1,2	1,0	15	40
10	20,8	48	44,7	8,7	5,2	2,2	12	37
11	12,2	4,2	2,3	1,0	0,3	1,2	10	35
12	14,1	27,9	11,9	0,9	4,5	uso de prednisona	-	34
13	32	39,4	27,9	2,3	2,4	uso de prednisona	-	33
14	17,2	45,6	21,2	7,0	10	1,96	02	27
15	20,1	28	4,6	1,5	0,5	1,7	15	30
16	18	49,8	25,2	6,4	17,5	1,27	01	25
17	29,2	7,3	1,2	0,4	1,6	uso de prednisona	-	04
18	25,1	9,7	3,6	1,9	1,6	uso de prednisona	-	24
19 *	24,5	14,8	2,7	1,0	0,5	uso de prednisona	-	18
20	28,5	1,8	0,7	0,5	3,6	uso de prednisona	-	17
21	17,8	38	40	30	1,59	uso de prednisona	-	12
37	30	75	75	25	33,4	não curada	-	52
38 *	16,3	32,4	24	26,1	22,8	não curada	-	28
39 #	31,2	44,1	38,8	33,1	52,6	não curada	-	27
40	30,7	31,6	23,1	11,5	13	não curada	-	15
40 #	15,0	19	15,6	18,5	9,0	não curada	-	---
41	21,7	29,5	28,3	23,6	20,5	não curada	-	10
41 #	20,5	30,9	29	27	33,1	não curada	-	---

Dependência= período em que os pacientes necessitaram de reposição glicocorticóide, em meses

\*Recidiva

# Segunda cirurgia

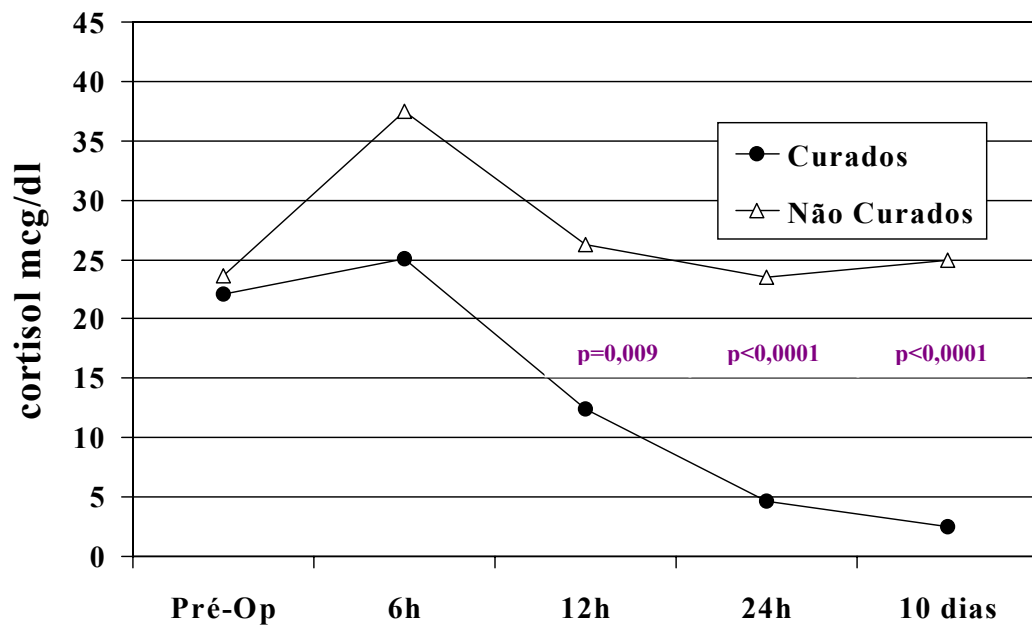


FIGURA 1: Média do Cortisol Sérico no Pré e Pós-Operatório da Cirurgia Transesfenoidal para Doença de Cushing

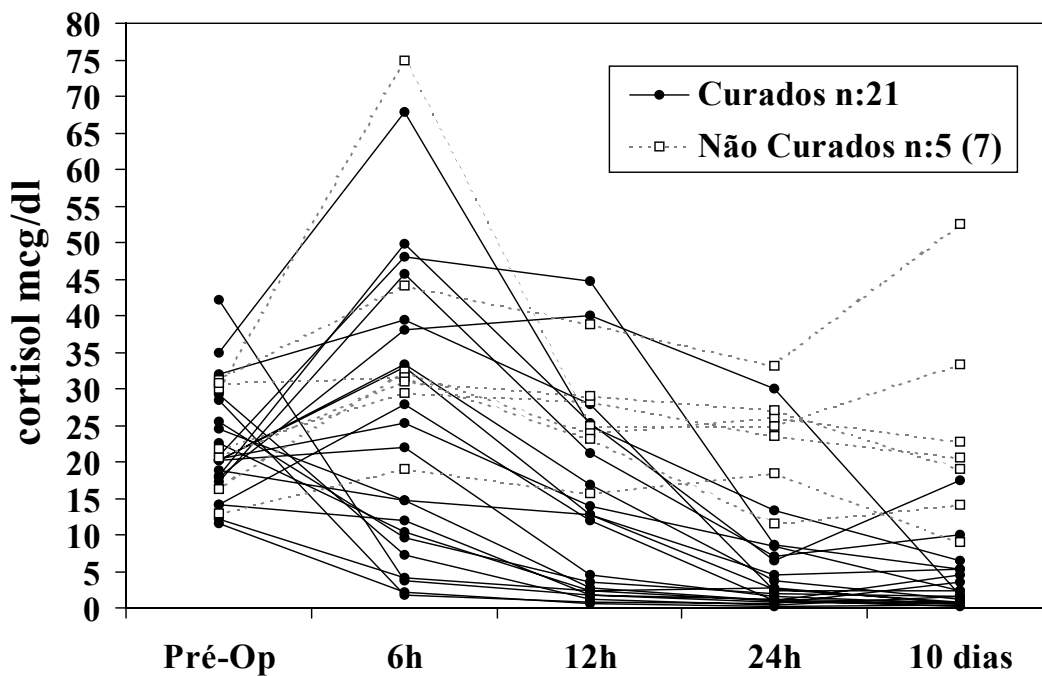
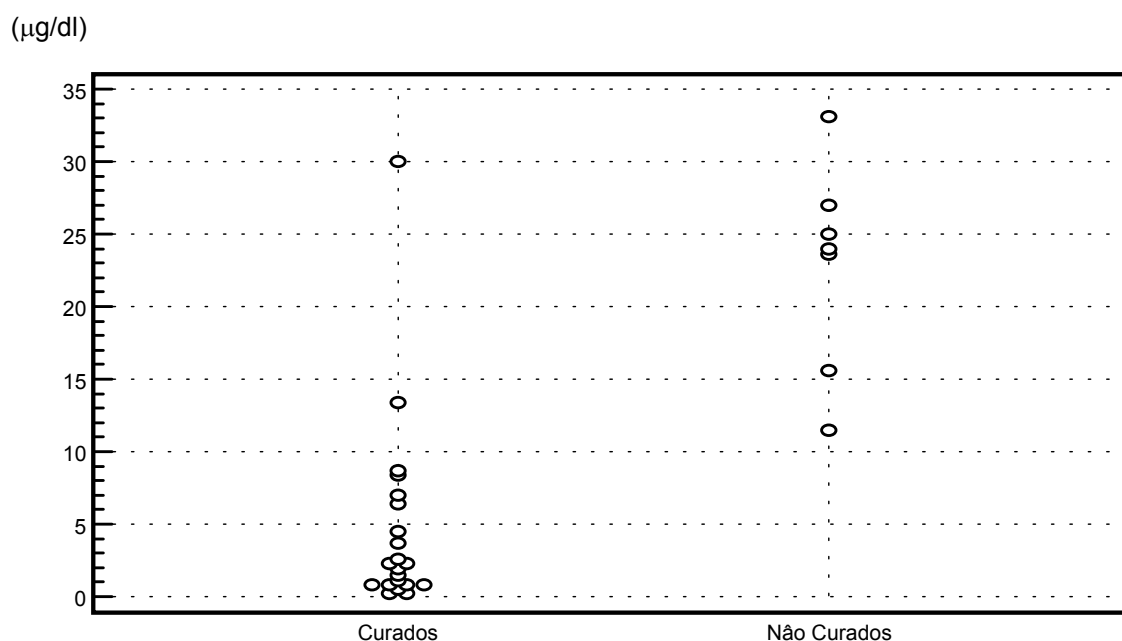


FIGURA 2: Cortisol Sérico no Pré e Pós-Operatório da Cirurgia Transesfenoidal da Doença de Cushing – Avaliação Individual

Considerando o nadir do cortisol durante os 10-12 primeiros dias após a cirurgia, a média do cortisol foi  $1,25 \pm 1,67 \mu\text{g/dl}$  e  $18,36 \pm 7,97 \mu\text{g/dl}$  nos pacientes curados e não curados respectivamente ( $p < 0,001$ ). Nas Figuras 3 e 4 observamos o nadir nas primeiras 24 horas e primeiros 10-12 dias após a CTE. Finalmente, a Tabela 7 mostra a sensibilidade e especificidade do nadir do cortisol para o estabelecimento da cura da DC. Neste contexto, a sensibilidade e a especificidade atingem 100% para um nadir de cortisol de  $7,5 \mu\text{g/dl}$  durante os 10-12 primeiros dias.

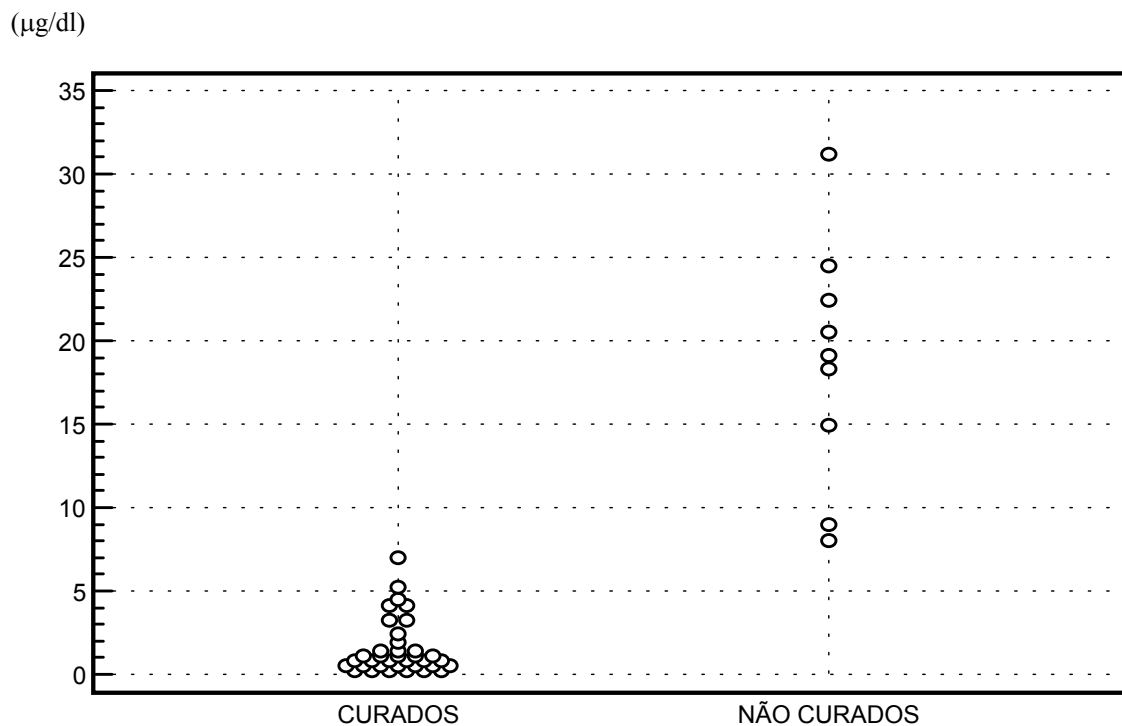
**Tabela 7: Sensibilidade e Especificidade (%) do Nadir do Cortisol ( $\mu\text{g/dl}$ ) como Critério de Cura da Doença de Cushing nas Primeiras 24 horas e em 10 a 12 dias de Pós-Operatório**

Nadir	Primeiras 24h		10 – 12 dias	
	Sensibilidade	Especificidade	Sensibilidade	Especificidade
3,0	62	100	81	100
5,0	71	100	90	100
7,5	81	100	100	100
10	90	100	100	71



**FIGURA 3: Nadir do Cortisol nos Pacientes Curados (n=21) e Não Curados (n=7) nas Primeiras 24h Após CTE**





**FIGURA 4: Nadir do Cortisol nos Pacientes Curados (n=36) e Não Curados (n=9) nos Primeiros 10-12 Dias Após CTE**

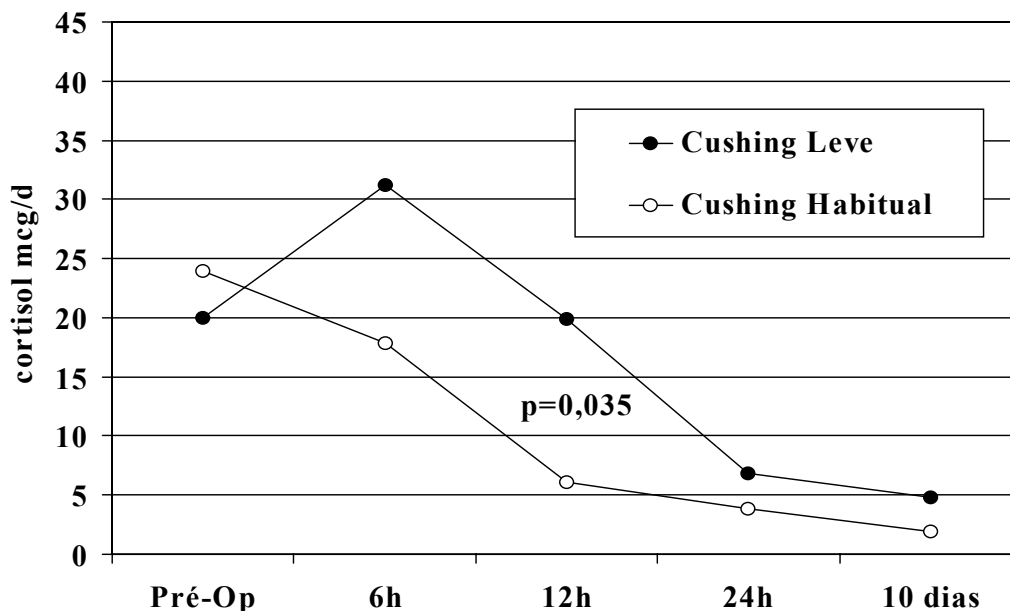
### Pacientes Curados

Os 35 pacientes curados foram seguidos em média 59 meses (4 a 170 meses), sendo que uma paciente foi curada “duas vezes” (na primeira cirurgia e na recidiva). Destes pacientes, 17 ficaram mais de 1 ano com quadro de dependência ao glicocorticóide. A média de dependência ao glicocorticóide foi de 23 meses (1 a 170 meses). Adicionalmente, 2 pacientes ainda dependentes de glicocorticóide, não completaram 1 ano de seguimento.

Todos os pacientes curados que recuperaram a secreção de cortisol, após período de dependência ao glicocorticóide, apresentaram supressão do cortisol com 1 mg de dexametasona “overnight” para níveis inferiores à 3 µg/dl. No paciente 7, não foi realizado o teste com 1 mg de dexametasona, mas a evolução clínica associada aos outros parâmetros hormonais confirmaram cura inequívoca sem evidência de recidiva até hoje (acompanhamento de 40 meses).

Dos 35 pacientes considerados curados, 21 foram avaliados no pós-operatório imediato quanto aos níveis séricos de cortisol. Considerando a heterogeneidade dos resultados, decidiu-se dividir estes pacientes em dois grandes grupos, com objetivo de detectar alguma eventual diferença. Assim, os pacientes considerados como portadores de DC “Leve” representam o grupo I, e os com DC “Habitual” o grupo II.

No grupo I, a média do cortisol sérico pré-operatória e 6h, 12h e 24h após a cirurgia foi de 20,1µg/dl (±5,3), 31,2µg/dl (±16,1), 19,9µg/dl (±15,2) e 6,8µg/dl (±8,6) respectivamente. No grupo II, os valores foram de 23,9µg/dl (±8,8), 17,8µg/dl (±18,9), 6,1µg/dl (±6,1) e 3,2µg/dl (±3,9) respectivamente. Comparando-se os dois grupos, houve diferença estatisticamente significativa apenas na 12ª h após a cirurgia, com valor de  $p=0,035$ . Na avaliação um pouco mais tardia (10-12 dias após a cirurgia), a média do cortisol no grupo I foi de 4,8µg/dl (±5,2) e no grupo II foi de 2,1µg/dl (±1,9), não havendo diferença estatisticamente significativa. Analisando-se o gráfico da evolução do cortisol nesses dois grupos (Figura 5), nota-se que nos pacientes com DC “Leve” há uma tendência inicial em ocorrer um aumento do cortisol sérico, enquanto que no outro grupo (“Habitual”), a tendência é de queda do cortisol já nas primeiras 6h pós-operatória. A partir de 24 horas da cirurgia há uma tendência para valores semelhantes.



**FIGURA 5: Média do Cortisol Sérico Pré e Pós-Cirurgia Transesfenoidal na Doença de Cushing em Pacientes Curados**

A cortisolúria de 24h foi significativamente menor no grupo I ( $123,91 \pm 42,68$   $\mu\text{g/dl}$ ) quando comparada com a do grupo II ( $662,4 \pm 592,17$   $\mu\text{g/dl}$ ), com valor de  $p < 0,0001$ . Não houve diferença em relação aos níveis de ACTH basais, cortisol à meia-noite e nadir do cortisol ( $53,19 \pm 37,8$  e  $50,12 \pm 15,51$   $\text{pg/ml}$ ;  $21,71 \pm 8,96$  e  $25,72 \pm 15$   $\mu\text{g/dl}$ ;  $1,83 \pm 2,33$  e  $0,85 \pm 0,79$   $\mu\text{g/dl}$ ;  $p = 0,55$ ;  $p = 0,37$ ;  $p = 0,29$ ).

## **Recidivas**

Dois pacientes, inicialmente curadas da DC na primeira cirurgia, apresentaram recidiva do hipercortisolismo 4,5 e 5,5 anos após. Essas duas pacientes apresentaram níveis bastante baixos de cortisol sérico (1,2 e 3,2  $\mu\text{g/dl}$ ) e urinário (<10 e 10,8  $\mu\text{g}$  em 24hs) no pós-operatório, dependência ao glicocorticoide (7 e 4 meses) e supressão com 1 mg de dexametasona "overnight" (1,0 e 1,7  $\mu\text{g/dl}$ ). As duas pacientes foram reoperadas sendo que, a primeira não ficou curada e foi encaminhada para radioterapia, e a segunda apresentou critérios de cura inequívocos. Esta ainda apresenta necessidade de tratamento com glicocorticoide após 18 meses da segunda cirurgia.

## **Discussão**

Nossos resultados, com índice de cura de 87,5% para a primeira CTE, confirmam que esta cirurgia deve ser considerada a primeira opção para o tratamento da DC. A nossa análise contribui para a discussão acerca dos critérios de cura, especialmente no que diz respeito ao cortisol sérico. Até o momento, este assunto é controverso, fazendo com que um número variável de critérios sejam adotados nas diferentes séries relatadas na literatura. A Tabela 1 permite esta constatação. Considerando os diferentes critérios de cura e os diferentes momentos em que os pacientes são avaliados no pós-operatório, é perfeitamente justificada a heterogeneidade dos resultados, tanto no que diz respeito ao índice de cura, como ao de recorrência da DC, este último variando de 0 a 25% dos casos (Pieters et al. 1989; Tindall et al. 1990; Thomas et al. 1983). Nesse sentido, observam-se critérios que variam desde cortisol sérico normal, subnormal ou indetectável, cortisolúria normal ou subnormal, níveis de ACTH normal ou subnormal, supressão do cortisol nos testes com dexametasona (1mg

“overnight” e 2 mg por dois dias), até parâmetros clínicos apenas (Tabela 1). Antes mesmo de buscar esforços para melhorar o índice de cura da DC e reduzir o número de recidivas, muito deve ser feito em relação à desuniformidade dos critérios de cura. Assim, parece claro que a falta de consenso dificulta inclusive a comparação dos índices de cura entre as diferentes séries da literatura. Adicionalmente, o momento da avaliação dos pacientes é heterogêneo, não permitindo igualmente uma comparação consistente.

A normalização dos níveis séricos e urinários do cortisol e a recuperação da supressibilidade normal pela dexametasona tem sido considerado critério de cura da DC por muitos autores (Fahlbusch et al. 1986; McCance et al. 1993; Semple et al. 2000; Guilhaume et al. 1988; Burcke et al. 1990). Segundo Estrada et al. (2001), porém, os critérios deve ser mais rigorosos, pois em 64% dos pacientes que apresentaram níveis normais de cortisol sérico e urinários após a cirurgia o hipercortisolismo reapareceu durante um seguimento médio de 39 meses. Esses pacientes com níveis normais de cortisol no pós-operatório, entretanto, mantiveram algumas anormalidades funcionais da DC, como ausência do ritmo circadiano e ausência de resposta ao estresse. A partir desta constatação, sugere-se que a presença de níveis normais de cortisol sérico e urinário no pós-operatório imediato deve-se à persistência de algumas células adenomatosas produtoras de ACTH que não foram retiradas com a CTE. Assim, com o tempo, a proliferação dessas células adenomatosas justificaria, o retorno do hipercortisolismo. Segundo esse pressuposto, esperaria-se que os pacientes curados com a CTE apresentassem, um quadro de hipocortisolismo no pós-operatório imediato, pois as células corticotróficas da hipófise normal estariam inibidas pelo hipercortisolismo crônico, e necessitariam de tempo para recuperar a função normal de produção do ACTH.

A medida do cortisol sérico no pós-operatório tem sido utilizada por vários centros na avaliação da cura dos pacientes (Tabela 1). Níveis indetectáveis nos primeiros 5-14 dias após a cirurgia tem sido um critério bastante utilizado (Trainer et al. 1993; McCance et al., 1993; Bochicchio et al., 1995; Hermus, 1997; Rees et al., 2002; Yap et al., 2002). A razão para este fato seria que nos pacientes com DC, os altos níveis de cortisol suprimem a secreção hipotalâmica do CRH (Orth, 1992) e a secreção do ACTH pelos corticotrofos normais. As células tumorais produtoras de ACTH apresentam função independente da regulação hipotalâmica, por isso os pacientes apresentam

caracteristicamente a ausência do ritmo circadiano de secreção do cortisol e ausência da resposta do cortisol ao estresse. Assim, quando a excisão do adenoma for completa, a secreção do ACTH deve reduzir dramaticamente. O resultado seria uma insuficiência adrenocortical que pode persistir por vários meses após a cirurgia (Orth, 1995). Nesse período de insuficiência adrenal secundária, a reposição de glicocorticóide seria necessária até a recuperação do eixo HHA.

Várias séries da literatura (Kuwayama et al. 1981; Trainer et al. 1993; McCance et al., 1993; Bochicchio et al., 1995; Hermus, 1997; Invitti et al. 1999; Rees et al., 2002; Yap et al., 2002) enfatizam a importância do hipocortisolismo após a CTE como critério de cura, e o tempo de dependência ao glicocorticóide como fator determinante da recorrência. O índice de recorrência da DC deve ser muito baixo quando a dependência ao glicocorticóide for superior a 1 ano (Trainer et al., 1993; Bochicchio et al., 1995). Porém, existem exemplos de pacientes que apresentam insuficiência adrenal no pós-operatório, com níveis indetectáveis de cortisol sérico e urinário, e que a longo prazo apresentaram recorrência do hipercortisolismo (Estrada et al 2001). Na nossa casuística, por exemplo, nos dois casos em que observamos recidiva da DC, os pacientes apresentaram insuficiência adrenal e necessitaram de reposição de glicocorticóide por 4 e 7 meses. Na série relatada por Estrada et al. (2001), no grupo de pacientes com hipocortisolismo transitório mas com anormalidades no ritmo circadiano do cortisol ou na resposta ao estresse, o hipercortisolismo reapareceu em 50% dos casos. Este dado corrobora a idéia de que um critério de cura mais rigoroso está associado a uma recorrência muito menor da DC, e que a demonstração da completa normalização do eixo HHA seria um indicador do estabelecimento da cura da DC. Outro dado importante nesse contexto, diz respeito ao grupo de pacientes que apresentaram hipocortisolismo no pós-operatório da CTE e que normalizaram o ritmo circadiano após o período de insuficiência adrenal. Nesse grupo, a recidiva foi extremamente baixa (3%) e os níveis de cortisol não estavam necessariamente indetectáveis. Assim, mais importante que a ocorrência de um cortisol indetectável no pós-operatório, seria a retomada do ritmo circadiano da secreção do cortisol após a fase de insuficiência adrenal. A ausência de ritmo circadiano seria o dado mais sensível para detectar a persistência de corticotropos tumorais. Diversos autores concluem, então, que não se pode identificar quais os pacientes que realmente ficaram curados da DC no pós-operatório imediato da CTE (Estrada et al. 2001). Em nossa série também foi constatada cura em pacientes com níveis detectáveis de cortisol

(nadir de 4,5 e 7,0  $\mu\text{g/dl}$  I), sendo que o acompanhamento a longo prazo (3 e 4 anos) confirmou a cura verdadeira. Nesses casos de cortisol sérico detectável, outros parâmetros como cortisolúria de 24h, níveis de ACTH, supressão com 1 mg de dexametasona “overnight” e acompanhamento clínico dos sinais e sintomas do hipercortisolismo acabam sendo fundamentais para a definição da cura. Outro caso atípico da nossa casuística, que merece comentário, diz respeito à paciente 16. Apresentou cortisol de 6,4  $\mu\text{g/dl}$  na 24h pós-operatória e 17,5  $\mu\text{g/dl}$  no 10-12<sup>o</sup> pós-operatório. Porém, o nadir do cortisol foi de 0,4  $\mu\text{g/dl}$  72h após a cirurgia e o acompanhamento clínico-laboratorial de 25 meses confirmou a cura. Este caso sugere uma recuperação rápida do eixo HHA em uma paciente com DC leve.

Teoricamente, quando um adenoma produtor de ACTH é completamente removido cirurgicamente, os níveis de ACTH e cortisol caem para níveis muito baixos, já que o tecido hipofisário normal está suprimido pelo hipercortisolismo crônico. Por outro lado, pacientes curados podem inicialmente apresentar níveis mais altos de cortisol e queda tardia (vários dias, algumas semanas) com insuficiência adrenal e níveis muito baixos de cortisol. Assim, níveis detectáveis de cortisol no pós-operatório imediato não estão necessariamente associados à permanência ou recorrência da DC. Em nossa casuística, por exemplo, dois casos são bastante ilustrativos. O paciente n<sup>o</sup> 5 (vide Tabela 6) mesmo apresentando níveis detectáveis de cortisol sérico, não tolerava retirada do glicocorticóide. Este paciente apresentou níveis de cortisol de 13,4  $\mu\text{g/dl}$  24h e 6,5  $\mu\text{g/dl}$  10-12 dias após a cirurgia. O nadir nos primeiros 10-12 dias ocorreu em 48h (4,1  $\mu\text{g/dl}$ ), porém no terceiro mês pós-operatório o cortisol atingiu níveis ainda mais baixos (2,2  $\mu\text{g/dl}$ ). Ele está em acompanhamento há 45 meses, usou glicocorticóide por 18 meses e apresenta cura inequívoca da DC. Outro caso é a paciente n<sup>o</sup> 10, que apresentou nadir do cortisol de 1,3  $\mu\text{g/dl}$  apenas no 30<sup>o</sup> dia após a cirurgia, com níveis detectáveis de cortisol nos primeiros 10-12 dias. Esta paciente também se encontra curada, após dependência ao glicocorticóide por um ano e acompanhamento de 37 meses. Assim, a constatação da permanência do hipercortisolismo requer bem mais que níveis detectáveis de cortisol, devendo-se buscar outros parâmetros hormonais como cortisolúria de 24h, ritmo circadiano de secreção do cortisol, ACTH basal e após estímulo e supressão com dexametasona, que uma vez alterados podem justificar alguma conduta terapêutica adicional como nova cirurgia ou radioterapia.

Conforme observado na literatura, os critérios de cura da DC são heterogêneos e o tempo de seguimento dos pacientes é bastante variável. Poucos são os relatos de casuísticas com longo acompanhamento associado a avaliação homogênea dos pacientes. Em nossa casuística, o tempo médio de seguimento foi de 4,8 anos, sendo que em 33 dos 35 pacientes curados, o seguimento foi superior a 1 ano. Procuramos enfatizar como critérios de cura o seguimento a longo prazo e, especialmente, a ocorrência de insuficiência adrenal, clínica e/ou laboratorial, causando dependência ao glicocorticóide. Posteriormente, os pacientes que superaram a fase de dependência ao glicocorticóide, foram submetidos periodicamente ao teste com 1mg de dexametasona “overnight” e em todos os casos de cura se observou supressão do cortisol para níveis inferiores a 3 µg/dl.

A partir da definição dos casos curados, pôde-se observar que no 10-12º dia após a CTE foram encontrados os níveis mais baixos de cortisol (2,52 µg/dl). Considerando esta média e dois desvios padrões, obtem-se um valor de cortisol de 9,2µg/dl. Considerando-se como critério de cura um cortisol menor que 9,2 µg/dl em algum momento durante os primeiros 10-12 dias após a CTE, constata-se que todos os pacientes curados são classificados corretamente, porém 2 pacientes não curados seriam considerados curados. Estes valores representam uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 78%. Por outro lado, considerando como curado um valor de cortisol inferior a 3,0 µg/dl, que comumente é considerado diagnóstico de insuficiência adrenal, 6 pacientes curados seriam classificados equivocadamente como não curados, porém nenhum paciente não curado seria considerado curado. Nesse contexto, teríamos uma sensibilidade de 83% e especificidade 100%.

Na atualidade, entretanto, são raras as séries que estudaram o comportamento do cortisol detalhadamente nas primeiras horas após a CTE. Certamente, a rotina equivocada da administração de glicocorticóide no transoperatorio e pós-operatório imediato não permitiu o conhecimento da dinâmica da secreção do cortisol imediatamente após a cirurgia. Com isso, a grande maioria das séries descritas na literatura fundamentou seus resultados, conclusões e critérios de cura na análise de pacientes que receberam corticóide antes da avaliação hormonal.

O primeiro grande estudo a considerar como critério de cura níveis indetectáveis de cortisol (inferior a 1,8 µg/dl) foi de Trainer et al. (1993). Cabe destacar que os pacientes receberam glicocorticóide antes da dosagem do cortisol. Porém, 3 pacientes com cortisol entre 1,8 e 10,9 µg/dl apresentaram remissão da doença, mas a recidiva ocorreu em 3,15 e 48 meses respectivamente. Nesta casuística, os níveis de cortisol foram avaliados precocemente, nas primeiras 48 horas pós-operatórias. A ausência de queda do cortisol no pós-operatório imediato poderia ser considerado um critério de falha cirúrgica, permitindo uma conduta mais precoce. Porém, o seguimento a longo prazo dos pacientes com DC é fundamental para diferenciar os casos duvidosos inicialmente quanto à cura.

Simmons et al. (2001) avaliaram o cortisol antes e após a CTE em 27 pacientes com DC para elucidar o padrão da redução do cortisol sérico nestes pacientes e estabelecer um critério precoce de cura da DC. Nesta casuística, foi possível diferenciar o padrão de queda do cortisol nos pacientes curados dos pacientes não-curados. Porém, ficou caracterizada uma flutuação do cortisol no pós-operatório imediato bastante heterogênea, semelhante ao que ocorreu com os nossos pacientes. Igualmente, em muitos casos (18/27) detectou-se um aumento inicial do cortisol em relação aos níveis pré-operatórios. Dos 22 pacientes considerados curados, 20 apresentaram queda significativa do cortisol nas primeiras 24h, mas mantiveram níveis detectáveis de cortisol de cortisol. O critério de cura estabelecido foi de cortisol pós-operatório inferior ao cortisol à meia-noite pré-operatório, e quando o cortisol pós-operatório atingiu valores inferiores a 10 µg/dl. Em geral, os níveis de cortisol já caíam nas primeiras 24 horas. Porém, em um caso, o paciente foi inicialmente considerado não curado e posteriormente houve remissão da DC. Assim, em uma pequena proporção dos pacientes, a remissão da DC pode ocorrer de uma forma mais tardia, após a CTE. Mesmo considerando um curto tempo de acompanhamento (8 meses apenas), as informações obtidas no pós-operatório imediato da CTE são muito relevantes, sendo o primeiro estudo importante cujos pacientes não receberam glicocorticóide rotineiramente no pós-operatório imediato. Nesta situação, os níveis de cortisol não ficaram indetectáveis em muitos pacientes curados.

Pimentel-Filho et al. (2002) avaliaram os níveis de ACTH e cortisol no pós-operatório imediato da CTE de 8 pacientes curados da doença de Cushing e de 7 pacientes com acromegalia. A avaliação do cortisol, na média do grupo curado da doença



de Cushing, mostrou um comportamento semelhante ao encontrado nos nossos pacientes curados (média total). Também ocorreu uma elevação inicial do cortisol após o final da cirurgia e durante as primeiras 4 horas (mantendo-se acima dos níveis pré-operatórios) e com queda posteriormente até níveis de 3,0 µg/dl ( ±1) na 24<sup>a</sup> hora após a cirurgia. Nos pacientes com acromegalia, os níveis de cortisol elevaram-se e permaneceram mais altos nas primeiras 24h pós-operatórias. Esses resultados sugerem que o hipercortisolismo crônico pode suprimir parcialmente a resposta do ACTH e cortisol ao estresse da cirurgia transesfenoidal nos pacientes com doença de Cushing.

Nasrallah et al. (2002) também avaliaram os níveis de ACTH e cortisol no pós-operatório imediato da CTE para DC sem a administração exógena de corticóide. Os pacientes com nadir do cortisol sérico inferior a 10 µg/dl nas primeiras 72h alcançaram a remissão da DC, enquanto que naqueles com nadir superior a 10 µg/dl, 8 pacientes (de um total de 11) não ficaram curados. Nos pacientes com nadir do cortisol inferior a 3,0 µg/dl, detectou-se um aumento do cortisol e ACTH nas primeiras 2-4h pós-operatórias. Porém alguns pacientes com cortisol muito baixos (1-2 µg/dl) não apresentaram queda proporcional do ACTH. Esses dados sugerem que os corticotrofos normais não estariam completamente suprimidos pelo hipercortisolismo, especialmente na ocorrência de estresse importante como o da cirurgia.

Em relação aos níveis de ACTH no pós-operatório imediato, as informações também são escassas, e parecem ainda menos compreendidas. Pimentel-Filho et al. (2001) avaliaram os níveis de ACTH no pós operatório imediato de 14 pacientes com doença de Cushing (6 curados e 8 não curados). Porém, foi administrada hidrocortisona no transoperatório. Mesmo assim, observou-se aumento do ACTH em todos os pacientes logo após a cirurgia, permanecendo elevado durante as primeiras 5h pós-operatória. Assim, provavelmente os corticotrofos peri – tumorais não ficaram completamente suprimidos pelo hipercortisolismo crônico, especialmente quando se trata de estresse intenso como a CTE, quando a manipulação mecânica deve induzir a liberação do ACTH nos pacientes com DC. Gomes et al. (1993) ao analisar o cortisol e ACTH no pós – operatório imediato da CTE de nove pacientes com doença de Cushing (5 curados e 4 não curados), encontrou diferença significativa entre os curados e não curados em relação ao cortisol sérico. Porém, os níveis de ACTH estavam semelhantes nos dois grupos. Graham et al. (1997) avaliaram os níveis do ACTH durante a CTE para

DC através do método imunoquimioluminométrico (ICMA) rápido. Dosou-se o ACTH na primeira hora imediata após ressecção do adenoma, a cada 10 minutos, e não foi possível diferenciar os pacientes curados dos não curados. Nesse estudo, o critério de cura adotado foi queda do cortisol para inferior à 2,0 µg/dl no segundo pós-operatório, após suspensão da hidrocortisona por 24 h.

Considerando a avaliação do cortisol imediatamente após a CTE para DC (durante as primeiras 24h), nos pacientes curados da nossa casuística observou-se uma heterogeneidade na sua queda. Como uma média, os pacientes curados tendem a apresentar um nadir do cortisol mais tardiamente, porém ao analisarmos a curva do cortisol (Figura 1) no pós-operatório imediato dos pacientes curados que não receberam corticóide, observa-se um comportamento bastante heterogêneo. Alguns pacientes apresentaram queda rápida do cortisol já nas primeiras 6h após à cirurgia, outros apresentaram uma elevação inicial e posterior queda mais tardia, e ainda outros mantiveram níveis de cortisol superiores à 5µg/dl durante as primeiras 24h pós-operatória. Em alguns casos, o cortisol só atingiu níveis compatíveis com insuficiência adrenal vários dias após a cirurgia. Ao analisarmos os pacientes com DC “Leve”, observamos que em sua grande maioria (cerca de 80%) o cortisol inicialmente eleva-se nas primeiras horas após a cirurgia e a queda tende a ser mais tardia (Tabela 6, Figura 5). Este fato pode sugerir uma menor supressão da hipófise normal fazendo com que o estresse da cirurgia seja suficiente para liberação do ACTH e conseqüentemente elevação do cortisol. Nos casos em que o hipercortisolismo não é leve, a supressão da hipófise normal seria maior, não permitindo a elevação significativa do ACTH mesmo durante a cirurgia, e o cortisol cairia mais precocemente. Os nossos resultados mostram que como grupo os pacientes que não apresentam DC “Leve” tendem a apresentar queda do cortisol sérico já na 6ª h pós-operatória. Neste grupo poderia se especular também que na CTE foi retirado o adenoma secretor de ACTH e lesados os corticotrofos normais, não permitindo-se assim qualquer liberação de ACTH. Este fato provocaria insuficiência hipofisária definitiva, o que não ocorreu, sugerindo que estas alterações cirúrgicas não tenham ocorrido. Por outro lado, quando os pacientes são analisados individualmente, há 3 pacientes com DC “Leve” que apresentam queda imediata do cortisol e 4 pacientes do outro grupo com aumento inicial do cortisol. Isto pode ocorrer devido a própria heterogeneidade da DC e também porque a própria cirurgia pode ser uma variável de difícil controle, já que uma cirurgia mais complicada com sangramento importante e instabilidade hemodinâmica, por

exemplo, pode representar um estresse mais intenso com resposta diferente em relação à secreção de ACTH e cortisol.

Observando-se o nadir do cortisol após a CTE, fica evidente a diferença entre o grupo dos curados em relação aos não curados ( $1,25 \pm 1,67$  vs  $18,36 \pm 7,97$   $\mu\text{g/dl}$ ;  $p < 0,001$ ). Porém, apenas em 4 (19%) dos 21 pacientes curados o nadir ocorreu nas primeiras 24 horas, sugerindo que a queda do cortisol não é imediata, e a médio prazo é que os níveis de cortisol realmente tornam-se próximos ao indetectável. Considerando o critério mais rigoroso de cura (cortisol sérico indetectável; inferior a  $1,8$   $\mu\text{g/dl}$ ) para o nadir do cortisol, tem-se uma sensibilidade de 80,9% e uma especificidade de 100%. Assim, observamos que alguns pacientes curados não apresentam níveis indetectáveis de cortisol, embora em apenas 1 caso o cortisol apresentou nadir superior à  $5$   $\mu\text{g/dl}$ . Em outras palavras, a cura da DC não necessita obrigatoriamente de níveis indetectáveis de cortisol, porém, a obtenção destes níveis permite a afirmação de ter ocorrido cura com um grande grau de certeza, pois nenhum paciente não curado atingiu nível sérico de cortisol inferior à  $8$   $\mu\text{g/dl}$ . A Tabela 7 ilustra a sensibilidade e especificidade de vários valores de cortisol sérico para determinar a cura da DC, de acordo com o nadir do cortisol nas primeiras 24h ou primeiros 10-12 dias. Considerando as primeiras 24h, nota-se que mesmo com nadir  $10,0$   $\mu\text{g/dl}$  a sensibilidade não atinge 100%, pois alguns pacientes curados apresentam queda mais tardia do cortisol. Ao considerar o nadir durante os primeiros 10-12 dias, por outro lado, um nível de cortisol de  $7,5$   $\mu\text{g/dl}$  permite a diferenciação de todos os pacientes corretamente (sensibilidade e especificidade de 100%).

Nossa casuística permite afirmar que o critério de cura de cortisol indetectável é muito rígido e pode não classificar corretamente todos os pacientes curados. A diferença, em relação às outras séries da literatura (Trainer et al. 1993; McCance et al., 1993; Rees et al., 2002; Yap et al., 2002), pode ser explicada em parte pelo uso de corticóide no trans e pós-operatório imediato. O uso de corticóide deve causar uma supressão adicional dos corticotrofos normais, fazendo com que o ACTH fique menor e o cortisol, conseqüentemente, em níveis mais baixos. Em nossa casuística, observou-se que nos pacientes curados o cortisol sérico em média é menor no 10-12º dia pós operatório, quando os pacientes já receberam corticóide, corroborando a afirmação anterior.

Este comportamento heterogêneo do cortisol dificulta o estabelecimento de um ponto de corte para a cura, especialmente no pós-operatório imediato. Pode-se dizer que a ocorrência de níveis indetectáveis de cortisol no pós-operatório imediato é um importante indicativo de cura, porém o inverso não é verdadeiro, ou seja, níveis detectáveis de cortisol no pós-operatório imediato não significam insucesso cirúrgico. Isto porque alguns pacientes só atingem níveis subnormais de cortisol mais tardiamente e nem todos os pacientes curados apresentaram nadir do cortisol inferior à 1,8 µg/dl. Por outro lado, a manutenção do cortisol acima de 10 µg/dl invariavelmente está associado à persistência da DC, o que foi confirmado por avaliação adicional (cortisolúria de 24h, níveis de ACTH basal e pós DDAVP e/ou não supressão com 1 mg de dexametasona). Igualmente, aqueles casos com cortisol limítrofe (7,0 e 4,5µg/dl, por exemplo), foram realmente considerados curados devido à remissão clínica do hipercortisolismo associada aos outros parâmetros laboratoriais supracitados. Assim, naqueles casos inicialmente duvidosos de cura, com cortisol sérico entre 5 e 10 µg/dl , o acompanhamento clínico e outros parâmetros laboratoriais devem ser utilizados para definição da cura.

## Conclusões

1) Não é necessária a demonstração de níveis indetectáveis de cortisol para considerarmos o paciente curado da doença de Cushing, especialmente no pós-operatório imediato antes do uso exógeno de corticóide. Níveis indetectáveis de cortisol, porém, são indicativos de cura.

2) Níveis de cortisol superiores a 10 µg/dl no pós-operatório imediato são indicativos de permanência do hipercortisolismo.

3) Durante os primeiros 10-12 dias após a cirurgia transesfenoidal, o nadir do cortisol diferencia adequadamente os pacientes curados (cortisol sérico de 7 µg/dl ou menos) dos não curados (cortisol sérico de 8,0 µg/dl ou mais).

4) Nos casos duvidosos, que compreendem níveis de cortisol no pós-operatório imediato entre 5 e 10 µg/dl, podem ser necessários outros parâmetros clínicos e hormonais para avaliar o resultado da cirurgia (cortisolúria de 24h, ACTH basal e pós estímulo com DDAVP, supressão com dexametasona)

5) A cura da doença de Cushing não pode ser estabelecida muito precocemente (primeiras 24-48h), uma vez que a queda do cortisol não é imediata em vários pacientes.

6) Pacientes com doença de Cushing leve que ficaram curados tendem a apresentar um aumento do cortisol nas primeiras horas após a cirurgia transesfenoidal, com queda mais tardia para níveis compatíveis com insuficiência adrenal.

7) Mesmo em pacientes com níveis indetectáveis de cortisol no pós-operatório, a recidiva da doença de Cushing pode ocorrer, demonstrando que somente o acompanhamento a longo prazo permite a confirmação da cura dos pacientes com doença de Cushing.

## Referências Bibliográficas:

1. Arnott R.D., Pestell R.G., McKelvie P.A., Henderson J.K., McNeill P.M., Alford F.P. A critical evaluation of transsphenoidal surgery in the treatment of Cushing's disease: prediction of outcome. *Acta Endocrinol* (123):423-430, 1990.
  2. Blevins L.S., Christy J.H., Khajavi M., Tindall G.T. Outcomes of therapy for Cushing's disease due to adrenocorticotropin-secreting pituitary macroadenomas. *J Clin Endocrinol Metab* (83):63-67, 1998.
  3. Bochicchio D., Losa M., Buchfelder M. Factors Influencing the Immediate and Late Outcome of Cushing's Disease Treated by Transsphenoidal Surgery: A Retrospective Study by the European Cushing's Disease Survey Group. *J Clin Endocrinol Metab* (80):3114-3120, 1995.
  4. Boggan J.E., Tyrrel J.B., Wilson C.B. Transsphenoidal microsurgical management of Cushing's disease. *J Neurosurg* (59):195-200, 1983.
  5. Burch W.M. Cushing's disease: a review. *Arch Intern Med* (145):1106-1111, 1985.
  6. Burcke C.W., Adams C.B.T., Estri M.M., Morris C., Bevan J.S. Transsphenoidal surgery for Cushing's disease: does what is removed determine the endocrine outcome? *Clin Endocrinol* (33): 525-537, 1990.
  7. Chandler W.F., Schteingart D.E., Lloyd R.V., McKeever PE, Ibarra-Perez G. Surgical treatment of Cushing's disease. *J Neurosurg* (66): 204-212, 1987.
  8. Chee G. H., Mathias D. B., James R. A. and Kendall-Taylor P. Transsphenoidal pituitary surgery in Cushing's disease: can we predict outcome? *Clin Endocrinol* (54):617-626, 2001.
  9. Devoe K.J, Miller W.L.,Conte F.A., et al. Long-term outcome in children and adolescents after transsphenoidal surgery for Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab* (82):3196-3202, 1997.
  10. Estrada J., Garcia-Uria J., Lamas C., Alfaro J., Lucas T., Diez S., Salto L., Barcelo B. The complete normalization of the adrenocortical function as the criterion of cure after transsphenoidal surgery for Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab* (86):5695-5699, 2001.
  11. Fahlbusch R., Buchfelder M., Muller O.A. Transsphenoidal surgery for Cushing's disease. *J Royal Soc Med* (79):262-269, 1986.
-

12. Gomez J.M., Camps I., Villabona C., Leyes P., Montana E., Bonnin R, Soler J.[Basal cortisol and ACTH in the immediate postoperative period in ACTH-producing hypophyseal adenomas]. *Rev Clin Esp* (193):472-474,1993.
  13. Graham K. E., Samuels M. H., Raff H., Barnwell S. L., Cook D. M. Intraoperative adrenocorticotropin levels during transsphenoidal surgery for Cushing's disease do not predict cure. *J Clin Endocrinol Metab* (82):1776-1779, 1997.
  14. Guilhaume B., Bertagna X., Thomsen M., et al. Transsphenoidal pituitary surgery for the treatment of Cushing's disease:results in 64 patients and long-term follow-up studies. *J Clin Endocrinol Metab* (66):1056-1064, 1988.
  15. Hardy J. Cushing's disease: 50 years later. *Can J Neurol Sci.* (9):375-380, 1982.
  16. Hermus A. R. Early assessment of outcome of pituitary surgery for Cushing's disease. *Clin Endocrinol* (47):151-152, 1997.
  17. Imaki T., Tsushima T., Hizuka N., Odagiri E., Murata Y.,Suda T., Takano K. Postoperative plasma cortisol levels predict long-term outcome in patients with Cushing's disease and determine wich patients should be treated with pituitary irradiation after surgery. *Endocr J* (48):53-62, 2001.
  18. Inder W.J., Hunt P.J. Glucocorticoid Replacement in Pituitary Surgery: Guidelines for Perioperative Assessment and Management. *J Clin Endocrinol Metab* 87:2745-2750, 2002.
  19. Invitti C., Giraldi F.P., Martin M., et al. Diagnosis and management of Cushing's syndrome: results of an Italian Multicentre Study. *J Clin Endocrinol Metab* (84):440-448, 1999.
  20. Knappe U.J., Ludecke D.K. Persistent and recurrent hypercortisolism after transsphenoidal surgery for Cushing's disease. *Acta Neurochirurgica* (65-suppl):31-34, 1996.
  21. Kuwayama A., Kageyama N., Nakane T., Watanabe M.,Kanie N. Anterior pituitary function after transsphenoidal selective adenomectomy in patients with Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab* (53):165-173,1981.
  22. Lindholm J. Endocrine function in patients with Cushing's disease before and after treatment. *Clin Endocrinol* (36):151-159,1992.
  23. Ludecke D.K. Transnasal microsurgery of Cushing's disease. Overview including personal experiences with 256 patients. *Pathol Res Pract* (187):608-612,1991.
  24. Mampalam T. J., Tyrrell J. B., Wilson C. B. Transsphenoidal Microsurgery in Cushing's Disease. *Ann Intern Med* (109): 487-493,1988.
-

25. McCance D. R., Gordon D.S., Fanin T.T., Hadden D.R., Kennedy L., Sheridan B., Atkinson A. B. Assessment of endocrine function after transsphenoidal surgery for Cushing's disease. *Clin Endocrinol* (38): 79-86, 1993.
  26. Nakane T., Kuwayama A., Watanabe M, et al. Long-term results of transsphenoidal adenomectomy in patients with Cushing's disease. *Neurosurgery* (21):218-222, 1987.
  27. Nasrallah M.P., Serhal K.I., Selman. W.R., et al. Discordance in the perioperative levels of plasma ACTH and serum cortisol in patients with ACTH-secreting pituitary adenomas or Cushing's disease: prediction of long-term benefit. The Endocrine Society's 84<sup>th</sup> Annual Meeting, (Abstract), 2002.
  28. Pieters F. F. F. M., Hermus A. R. M. M., Meijer E., Smals A. G. H., Kloppenborg P. W. C. Predictive factors for initial cure and relapse rate after pituitary surgery for Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab* (69):1122-1126, 1989.
  29. Pimentel-Filho F.R., Cukiert A., Miyashita F., Huayllas M.K., Knoepfelmacher M., Salgado L.R., Liberman B. Adrenocorticotropin levels do not change during early recovery of transphenoidal surgery for ACTH-secreting pituitary tumors. *J Endocrinol Invest* (24):83-87, 2001.
  30. Pimentel-Filho F.R., Ferreira L.V., Berger K., et al. The ACTH and cortisol secretion are reduced during immediate postoperative in cured Cushing patients when compared to acromegalic patients with normal hypothalamic-pituitary-adrenal axis. The Endocrine Society's 84<sup>th</sup> Annual Meeting, (Abstract), 2002.
  31. Post K.D., Habas J.E. Comparison of long-term results between prolactin-secreting adenomas and ACTH-secreting adenomas. *Can J Neurol Sci* (17):74-77, 1990.
  32. Ram Z., Nieman L.K., Cutler G.B., Chrousos G.P., Doppman J.L., Oldfield E.H. Early repeat surgery for persistent Cushing's disease. *J Neurosurg* (80):37-45, 1994.
  33. Rees D. A., Hanna F.W.F., Davies J.S., Mills R.G., Vafidis J., Scanlon M.F. Long-term follow-up results of transsphenoidal surgery for Cushing's disease in a single centre using strict criteria for remission. *Clin Endocrinol* (56):541-551, 2002.
  34. Robert F., Hardy J. Cushing's disease: a correlation of radiological, surgical and pathological findings with therapeutic results. *Pathol Res Pract* (187):617-621, 1991.
-



35. Salassa R.M., Laws Jr E.R., Carpenter P.C., Northcutt R.C. Transsphenoidal removal of pituitary microadenoma in Cushing's disease. *Mayo Clin Proc* (53): 24-28, 1978.
  36. Semple C.G., Thomson J.A., Teasdale G.M. Transsphenoidal microsurgery for Cushing's disease. *Clin Endocrinol* (21):621-629, 1984.
  37. Semple P. L., Lee Vance M., Findling J., Laws Jr. E. R. Transsphenoidal surgery for Cushing's disease: Outcome in patients with a normal magnetic resonance imaging scan. *Neurosurgery* (46):553-559, 2000.
  38. Shimon I., Ram Z Cohen Z.R., Hadani M. Transsphenoidal surgery for Cushing's disease: endocrinological follow-up monitoring of 82 patients. *Neurosurgery* (51):57-61, 2002.
  39. Simmons N. E., Alden T. D., Thorner M. O., Laws Jr. E. R. Serum cortisol response to transsphenoidal surgery for Cushing disease. *J Neurosurg* (95): 1-8, 2001.
  40. Sonino N., Zielesny M., Fava G.A., Fallo F., Boscaro M. Risk factors and long-term outcome in pituitary dependent Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab* (81):2647-2652, 1996.
  41. Swearingen B, Biller B. M. K., Barker F. G., Katznelson L., Grinspoon S., Klibanski A., Zervas N. T. Long-Term Mortality after Transsphenoidal Surgery for Cushing's Disease. *Ann Intern Med* (130): 821-824,1999.
  42. Tahir A.H., Sheeler L.R. Recurrent Cushing's disease after transsphenoidal surgery. *Arch Intern Med* (152):977-981, 1992.
  43. Tagliaferri A. Berselli M., Loli P. Transsphenoidal microsurgery for Cushing's disease. *Acta Endocrinolol* (113): 5-11, 1986.
  44. Thomas J.P., Richards S.H. Long-term results of radical hypophysectomy for Cushing's disease. *Clin Endocrinol* (19):629-636, 1983
  45. Tindall G.T., Herring C.J., Clark R.V., Adams D.A., Wattas N.B. Cushing's disease:results of transsphenoidal microsurgery with emphasis on surgical failures. *J Neurosurg* (72):363-369, 1990.
  46. Trainer P. J., Lawrie H. S., Verhelst J., Howlett T. A., Lowe D.G., Grossman A.B., Sabage M. O., Afshar F., Besser M. Transsphenoidal resection in Cushing's disease: undetectable serum cortisol as the definition of successful treatment. *Clin Endocrinol* (38): 73-78, 1993.
-

47. Yap L.B., Turner H.E., Adams C.B.T., Wass J.A.H. Undetectable postoperative cortisol does not always predict long-term remission in Cushing's disease: a single centre audit. *Clin Endocrinol* (56): 25-31, 2002.

## 6.ARTIGO EM INGLÊS

### **Serum Cortisol Levels After Transsphenoidal Surgery in Cushing's Disease : Contributions for Definition of Cure**

**Rollin GAF, Ferreira NP, Junges M, Gross JL, Czepielewski MA.**

**Division of Endocrinology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre;  
Hospital São José, Irmandade da Santa Casa de Misericórdia, Porto Alegre;  
Post Graduate Program in Endocrinology, Faculdade de Medicina, UFRGS,  
Brazil.**

Correspondence to:

Prof Dr. Mauro A Czepielewski, Serviço de Endocrinologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Av. Ramiro Barcelos, 2350/Prédio 4, 4º andar; CEP 90035 –003, Porto Alegre, Brasil. Fone/Fax: 55 51 33168127

E-mail: [maurocze@terra.com.br](mailto:maurocze@terra.com.br)

**Keywords:** Cushing's Disease, Transsphenoidal Surgery, Postoperative Cortisol, Hypercortisolism, Cure Criteria.

## Abstract

Transsphenoidal pituitary surgery remains the treatment of choice for Cushing's disease. Despite the widespread acceptance of the procedure, there is general lack of agreement regarding a definition of cure. We studied prospectively the postoperative serum cortisol dynamics in 41 patients with Cushing's disease (a total of 45 surgeries; female to male rate 30:11; mean age was 38,1 years). The mean postoperative follow-up period was 4,8 years. Remission was defined as clinical and laboratorial signs of adrenal insufficiency, period of glucocorticoid dependence, serum cortisol suppression on oral 1mg dexamethasone overnight suppression test. Serum cortisol was measured preoperative and 6h, 12h, 24h (28 surgeries) and 10-12 postoperative day (45 surgeries). No statistical difference in mean preoperative and 6h postoperative cortisol levels between surgically induced remission ( $22,1 \pm 7,73 \mu\text{g/dl}$  and  $25,2 \pm 19 \mu\text{g/dl}$ ) and surgical failure patients ( $23,6 \pm 6,95 \mu\text{g/dl}$  and  $37,5 \pm 18,1$ ) was detected ( $p=0,50$  and  $p=0,17$ ). At 12 and 24 postoperative hour the difference was significant ( $p=0,009$  and  $p<0,0001$ ). In the remission group, mean cortisol levels was  $12,44 \pm 13,3 \mu\text{g/dl}$  and  $4,72 \pm 6,72 \mu\text{g/dl}$  and in the failure group, was  $26,3 \pm 7,06 \mu\text{g/dl}$  and  $23,5 \pm 6,86 \mu\text{g/dl}$  ( $p=0,009$ ;  $p<0,0001$ ). At 10-12 day postoperative the difference was also significant ( $p<0,0001$ ): cortisol levels were  $2,52 \pm 3,32 \mu\text{g/dl}$  in the remission group and  $24,9 \pm 13,3 \mu\text{g/dl}$  in the failure group. Twenty cured patients were stratified in two groups according the severity of hypercortisolism: mild Cushing's disease (Group I) and usual Cushing's disease (Group II). In Group I, mean cortisol levels preoperative and 6, 12 and 24h postoperative were  $20,1 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 5,3$ ),  $31,2 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 16,1$ ),  $19,9 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 15,2$ ) and  $6,8 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 8,6$ ). In Group II, were  $23,9 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 8,8$ ),  $17,8 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 18,9$ ),  $6,1 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 6,1$ ) and  $3,2 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 3,9$ ). Difference was statistically significant only at 12h postoperative ( $p=0,035$ ) and at 6h was borderline ( $p=0,06$ ). In group I, at 10-12 day postoperative, the mean serum cortisol in group I was  $4,8 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 5,2$ ) and in group II was  $2,1 \mu\text{g/dl}$  ( $\pm 1,9$ ) without statistical difference. Considering cortisol nadir during the first 10-12 postoperative day as remission criteria, a level of  $7,5 \mu\text{g/dl}$  means 100% sensitivity and specificity. In conclusion, undetectable serum cortisol is not always necessary to define cure in the immediate postoperative period of transsphenoidal surgery for Cushing's disease. During the first 10-12 postoperative day, cortisol nadir classified correctly the remission (cortisol of  $7,0 \mu\text{g/dl}$  or less) and the failure group (cortisol of  $8,0 \mu\text{g/dl}$  or more). But only long-term follow-up could confirm definitive cure in patients with Cushing's disease.

## **Introduction**

Transsphenoidal pituitary surgery (TSS) is the treatment of choice of Cushing's disease (CD), with a remission rate of 60-90% (Table 1). Different centers have distinct remission criteria, and definitions of surgical cure remain debatable. Currently, there is a variety of local practices for glucocorticoid replacement around the time of transsphenoidal surgery for Cushing's disease. Some authors advise the use of perioperative glucocorticoid therapy (Fahlbush et al., 1986; Trainer et al., 1993; Chee et al., 2001; Yap et al., 2002; Rees et al., 2002; Shimon et al., 2002; Inder and Hunt, 2002) and others recommend no glucocorticoid administration until clinical or laboratorial adrenal insufficiency have been documented (Simmons et al., 2001; Nasrallah et al., 2002). Because there are few prospective studies, and many debate about the remission criteria of Cushing's disease, data about immediate and late postoperative cortisol levels are scarce.

We have prospectively studied the postoperative serum cortisol dynamics in patients with Cushing's disease. Our data could contribute to the debate on hormonal criteria of Cushing's disease remission.

## **Patients and Methods**

Forty-eight patients with CD were evaluated by the time of the first TSS. One patient had already been operated in an other center. TSS was repeated in two patients because the first surgery was not curative. Other two patients underwent second surgery because CD relapses after 4.5 and 5.5 years. Eight patients (7 cured and 1 not cured) were excluded because diagnostic work-up and follow-up were at other centers. Thus, 41 patients underwent a total of 45 surgeries. The female to male rate was 30:11, comparable with others series. The mean age was 38,1 years (range 12-62); 6 patients were 18 years old or yanger. Follow-up periods ranged from 4 to 170 months (mean 4,8 years).

Clinical and hormonal data of 49 patients with DC are depicted on Tables 2 and 3.

**Table 1: Results of Transsphenoidal Surgery for Cushing's Disease ( 1978 – 2002 )**

Reference	n	Cure Criteria	Remission (%)	Recurrence (%)	Follow-up (months)
Salassa et al. 1978	18	LDD, metyrapone test	89	0	18
Kuwayama et al. 1981	25	Adr Ins	88	5	25
Hardy 1982	75	N F, UFC , 17OHCS	84	3	21
Boggan et al. 1983	100	N F, ACTH, UFC	78	5	--
Thomas and Richards 1983	16	UFC <78µmol/l/24h	81	0	96
Semple et al. 1984	19	F < 15	89	6	40
Burch 1985	13	F < 5,0	64	11	NS
Fahlbusch et al. 1986	101	F, ACTH, subnormal	74	7	38
Tagliaferri et al. 1986	23	N F, ACTH, UFC	83	11	39
Chandler et al. 1987	34	N F	74	NS	NS
Nakane et al. 1987	100	NS	86	9	38
Guilhaume et al. 1988	60	UFC<90, 24h F < 10	70	14	24
Mampalam et al. 1988	216	N F, ACTH, LDD	76	5	46
Pieters et al. 1989	27	F < 7,25	59	25	48
Arnott et al. 1990	28	UFC < 170	86	13	22
Burke et al. 1990	65	UFC <100 / 24h F < 10	83	4	56
Post 1990	40	NS	78	3	NS
Tindall et al. 1990	56	N F or UFC	85	2	57
Ludecke 1991	103	F , ACTH subnormal	90	NS	--
Robert and Hardy 1991	78	NS	77	8	77
Tahir and Sheeler 1992	45	NS	76	21	69
Lindholm 1992	45	N UF or synacthen test	76	3	34
Trainer et al 1993	48	F < 1,8	42	0	40
McCance et al. 1993	41	F < 1,8	49	0	60
Ram et al. 1994	222	F < 5,0	87	NS	34
Bochicchio et al. 1995	668	@	76	13	46
Knappe and Ludecke 1996	310	NS	85	11	--
Sonino 1996	115	UFC <90, N LDD	77	26	72
Devoe et al. 1997	42	UFC<20µg/m <sup>2</sup> /24h,F<8,0	83	27	84
Blevins et al. 1998	96	F < 5,0, C UFC<15	85	16	56
Invitti et al. 1999	236	N F,ACTH,UFC e Adr Ins	69	17	(6-120)
Swearingen et al. 1999	161	F < 5,0 UFC < 20	85	7	103
Semple and Laws 2000	105	F subnormal	75	NS	NS
Imaki et al. 2001	49	N F,ACTH,UFC,1mg dexa	61	13	88
Chee et al. 2001	61	N F, LDD < 3,6	79	15	88
Rees et al. 2002	54	F < 1,8	77	5	24
Yap et al. 2002	97	F < 1,8	68	11	92
Shimon et al. 2002	82	N F UFC e 1mg dexa	78	5	50

N: normal; F: serum cortisol (µg/dl); UFC: urinary free cortisol (µg/24h);

LDD: low dexamethasone suppression test; 24h F: midnight serum cortisol (µg/dl)

@: remission of signs and symptoms of hypercortisolism and no additional requirement for therapy to control hypercortisolism for at least 6 month

NS: not stated

Adr Ins: adrenal insufficiency

## Diagnostic Criteria: Cushing's Syndrome and Disease

The diagnosis of Cushing's syndrome was established by elevated urinary free cortisol (UFC), loss of diurnal circadian rhythm (midnight cortisol >7,5 µg/dl) and/or loss of suppression of UFC and serum cortisol on oral low-dose dexamethasone suppression test (2mg/day for 2 days). In 24% of patients (10/42) the diagnosis was made in spite of suppression with 2mg, based on other alterations: no suppression in the overnight 1 mg dexamethasone test, raised UFC, high or normal ACTH and responsive to DDAVP.

**Table 2: Clinical Data of 49 Patients With Cushing's Disease**

Centripetal Obesity / Weight Gain	49 (100%)
Facial Plethora	32 (65%)
Hypertension	31 (63%)
Acne / Hirsutism	24 (49%)
Hyperpigmentation	22 (45%)
Diabetes mellitus	18 (37%)
Easy Bruisability	18 (37%)
Proximal Myopathy	18 (37%)
Abdominal Striae	13 (27%)
Psychological Changes	05 (10%)
Renal Calculi	04 (8%)

The diagnosis of pituitary-dependent Cushing's syndrome was made by suppression of UFC and serum cortisol on oral high dose dexamethasone suppression test (UFC and/or serum cortisol suppressed by more than 50% of baseline after oral administration of 2 mg dexamethasone every 6h for 48h), higher or normal serum ACTH, raised ACTH after DDAVP administration (DDAVP test) and / or pituitary MRI or CT with an adenoma (Tables 3 and 4). The long-term follow-up of patients who underwent transsphenoidal surgery confirmed the preoperative diagnosis of CD. Of 44 pituitary CTs performed, 19 (43%) did not demonstrate adenoma; of 21 performed 7 (33%) were normal. Of a total of 51 pituitary imaging, 12 (23,5%) had a negative demonstration of an adenoma. Macroadenoma was detected in 9 patients (09/49; 18,4%).

**Table 3 : Preoperative Data of 43 Patients with Cushing's Disease**

Number	Sex	BMI Kg/m <sup>2</sup>	Time (Year)	UFC 24h	F (0h)	2 mg dexa		8 mg dexa		ACTH (pg/ml)	MA
						F	UFC	F	UFC		
01	Male	24,8	1,0	2173	68	15,8	440	5,6	140	---	-
02	Fem	25,7	1,0	1007	23,8	20,5	1839	8,1	34,8	24,7	-
03	Fem	30,9	5,0	524	16,9	22,8	7,7	13,2	41	---	-
04	Fem	34,6	2,0	192	18,4	31,4	271	19,8	116	74	-
05	Male	26,1	1,0	346	26,5	15,5	545	15,5	210	69,2	-
06	Male	26,9	5,0	83	11,1	1,0	16,9	0,5	14,2	148	-
07	Male	24,4	5,0	67	19,6	6,6	45,6	0,9	10	41,2	-
08	Fem	29,3	5,0	115	14,9	4,2	30,2	3,9	18	33	-
09	Fem	32,1	5,0	592	19,8	9,4	48	1,1	20	59,6	-
10	Fem	26,0	4,0	115	18,5	2	23,7	1,8	10,5	39,1	-
11	Male	42,9	5,0	1151	9,4	8,2	550	3,0	91	47	-
12	Male	31,2	10	157	27	20,7	36	2,4	---	41	-
13	Fem	21,7	5,0	119	18,2	4,4	30,7	2,8	7,5	66	+
14	Fem	28,4	10	211	21	11,7	14	4,5	10	44	+
15	Fem	39,3	5,0	120	42	20	16	6,7	5	22,6	-
16	Fem	35,2	6,0	60	27	2,6	19,8	1,0	15,5	29	-
17	Fem	39,9	6,0	263	21,2	31,5	195	20,5	10	35	-
18	Fem	30,8	5,0	379	27,1	5,8	54	3,6	10	41	-
19 *	Fem	27,3	1,0	147	18,2	6,6	12	1,7	8,0	45	-
20	Fem	33,1	3,0	502	24,8	---	---	12,8	48	60	-
21	Fem	33,3	1,0	144	24,5	4,9	10	10,8	10	52	-
22	Fem	35,1	3,0	123	21	5,9	26,9	1,4	24	---	-
23	Fem	39,6	0,5	576	15,6	27	280	18	100	---	-
24	Male	26,9	3,0	436	17	6,6	167	2,1	51,9	---	-
25	Fem	30,2	3,0	484	22	19,1	458	2,0	27	---	-
26	Male	21,8	0,8	385	26	10	330	2,0	60	---	-
27	Fem	30,8	3,0	1500	---	15,8	2100	31	1100	---	-
28	Fem	32,8	1,0	422	---	22,5	502	5,2	270	---	-
29	Fem	26,6	4,0	700	---	6,2	57	3,0	13,5	---	+
30	Fem	32,2	1,0	348	---	7,7	60	6,3	38,8	---	+
31	Fem	28,8	1,0	267	16,9	3,1	36	1,5	20,9	---	-
32	Fem	27,5	0,3	190	---	9,4	40,2	1,0	10	---	+
33	Fem	31	3,5	115	---	22,5	210	5,7	75	---	-
34	Male	28,8	2,0	400	---	15,8	148	4,9	99	---	-
35	Fem	28,5	1,3	1021	---	95	984	8,2	150	---	-
36	Fem	43,8	7,0	40	21,8	28	238	31,5	253	---	-
37	Fem	27,2	2,0	764	22,1	12,4	28,6	2,2	52,9	58,2	+
38 *	Fem	56,8	2,0	84	20,5	27,3	92,7	24,8	117	50	-
39 #	Fem	34,0	3,0	864	45,3	17,2	623	31,4	84,9	63	+
40	Fem	25,2	8,0	180	24	10,2	32,7	12,6	39,9	62,9	+
41	Fem	30,8	7,0	209	22,7	40,4	104	16,4	24,4	86,2	-
42	Male	31,6	0,5	371	26,7	9,0	408	2,8	80	---	-
43	Male	29,2	3,0	358	36	29	100	8,0	125	---	-

BMI = body mass index

Time: duration of hypercortisolism

F= serum cortisol 8:00 (µg/dl)

F 0h = midnight serum cortisol (µg/dl)

UFC = urinary free cortisol (µg/24hs)

2 mg dexa: serum and urinary free cortisol on 2 mg dexamethasone suppression test

8 mg dexa: serum and urinary free cortisol on 8 mg dexamethasone suppression test

MA: macroadenoma

\* Recurrence

# Second surgery



**Table 4: Summary of Hormonal Evaluation of 49 Cushing's Disease Patients**

Elevated UFC	46 / 49 (94%)
Midnight cortisol > 7,5 ug/dl	39 / 39 (100%)
No suppression on 2 mg dexa test	32 / 42 (76,2%)
Suppression on 8 mg dexa test	38 / 43 (88,4%)
Elevated basal ACTH	13 / 24 (54,2%)
ACTH > 50% increase after DDAVP	20 / 21 (95,2%)

### **Transsphenoidal Surgery ( TSS )**

All patients underwent TSS by the same surgeon, at least two weeks after the diagnostic work-up (including dexamethasone suppression tests). The sub labial route was used in all patients. All patients received prophylactic antibiotics (trimethoprim-sulfamethoxazole) for 3-4 days. In all patients, an adenoma was thought to be identified and tissue for histological analysis was obtained in all 45 surgeries. The adenoma was confirmed in 42; in one patient, the histological finding was hyperplasia, and in two patients, normal tissue. The patient with hyperplasia and one of two with normal tissue were cured after TSS. The other one, was a patient with CD relapse who was not cured after the second surgery.

### **Postoperative Assessment**

#### Protocol I:

The postoperative assessment of the first 17 surgeries was serum and urinary cortisol at 10-12 postoperative day. Serum cortisol was collected 48h after the last dose of dexamethasone 0,5mg/day. Hydrocortisone 100 mg iv. was administered intraoperative and 50 mg iv. qid 24-48h. Prednisone 5 mg/day was administered orally until 5-6 day postoperative and changed to dexamethasone 0,5 mg/day. Patients with low or undetectable serum and/or urinary cortisol levels were maintained on glucocorticoid therapy until recovery of adrenal-pituitary axis. Subsequently, the patients underwent oral 1 mg dexamethasone overnight suppression test at least once a year.

#### Protocol II:

After analysis of the first 17 surgeries, the postoperative assessment was changed. The last 26 patients (28 surgeries) did not receive glucocorticoid until adrenal insufficiency was detected (clinical or laboratorial). Serum cortisol was measured preoperatively and 6, 12 and 24h postoperatively. In patients whose serum cortisol levels were below 5,0 µg/dl as well as clinical signs of adrenal insufficiency were reported, exogenous steroids were administered. After the first 24h postoperative, serum cortisol was measured every day until glucocorticoid therapy was started. In the 10-12<sup>th</sup> day after surgery, serum and urinary cortisol were assessed as in protocol I.

A subgroup of patients with transsphenoidal surgery-induced remission was classified as "Mild" Cushing's Disease (Group I) or "Usual" Cushing's disease (Group II). "Mild" CD was considered with UFC levels below 270 µg/24h (3 times above normal levels; normal UFC < 90µg/24h), and with suppressed UFC or serum cortisol on oral low-dose dexamethasone suppression test. Nine patients were classified as Group I and eleven as Group II, one child was excluded from analysis.

#### **Cure / Remission Criteria**

Postoperative remission or cure of Cushing's disease was defined as:

1. Clinical and laboratorial signs of adrenal insufficiency.
2. Period of glucocorticoid dependence.
3. Serum cortisol suppression on oral 1mg dexamethasone overnight suppression test (cortisol <3,0 µg/dl at 8h a.m.).
4. Clinical remission of hypercortisolism.

#### **Laboratory Assay**

Cortisol was measured by Radioimmunoassay (Diagnostic Systems Laboratories Inc, Webster, Texas, with intra and interassay coefficients of variation of 8,3 % and 9,8% respectively. The lower limit of detection was 0,3 µg/dl. During the first 24-72 postoperative hour serum cortisol was measured by a competitive chemiluminescent

immunoassay (Automated Chemiluminescence System; Bayer Diagnostics, Tarrytown, NY). Intra and interassay coefficients of variation were 6,0 % and 8,4% respectively. The lower limit of detection was 0,2 µg/dl. ACTH was measured by chemiluminescent enzyme immunometric assay (Immulite; Diagnostic Products Corporation, Los Angeles , CA), with intra and interassay coefficients of variation of 5,6% and 7,75% respectively. The lower limit of detection was 5,0 pg/ml.

### **Statistical analysis**

The variables were analyzed by non-parametric Mann-Whitney test with p value <0,05.

### **Results**

Of the 48 patients who underwent TSS at first time, 42 (87,5%) were considered cured. The TSS surgery was repeated in the early postoperative period in two patients and was not curative in either. One of two patients with CD relapse was cured by a second surgery. A patient who underwent first TSS surgery in other center had a macroadenoma with cavernous sinus invasion and was not cured after second surgery. Of 45 surgeries studied, 9 (20%) were not curative.

Pre- and postoperative levels of serum cortisol are shown in Tables 5 and 6. Pre- and 6h postoperative mean cortisol levels were not different in patients with surgical remission ( $22,1 \pm 7,73$  µg/dl preoperative and  $25,2 \pm 19$  µg/dl 6h postoperative) compared with those with surgical failure ( $23,6 \pm 6,95$  µg/dl preoperative and  $37,5 \pm 18,1$  µg/dl 6h postoperative) ( $p=0,50$  and  $p=0,17$ ). Twelve hours postoperatively, the difference became significant. In the remission group, mean cortisol levels was  $12,44 \pm 13,3$  µg/dl and  $4,72 \pm 6,72$  µg/dl after 12 and 24h, respectively. In the failure group, values were  $26,3 \pm 7,06$  µg/dl and  $23,5 \pm 6,86$  µg/dl at 12 and 24h ( $p=0,009$  and  $p<0,0001$  vs. remission group).

Ten to 12 days postoperatively a statistical difference on serum cortisol levels was observed:  $2,52 \pm 3,32$  µg/dl in the remission group and  $24,9 \pm 13,3$  µg/dl in the failure group ( $p=0,0001$ ).

**Table 5: Postoperative Evaluation in Cushing's Disease – Protocol I**

Nº	Cortisol Pre-Op	Cortisol 10-12d	Cortisol 1mg dexa	Dependence ( month )	Follow-up ( month )
22	25,6	0,84	0,49	04	86
23	36	0,78	1,1	30	88
24	23,7	0,25	0,89	06	81
24	17,7	1,9	prednisone	-	112
26	43	4,2	1,0	04	112
27	15,5	1,4	2,3	14	120
28	36,5	0,3	prednisone	-	12
29	21	3,2	1,7	04	Recurrence 5,5 years
30	33	1,11	2,2	06	90
31	22,7	1,5	1,48	05	84
32	31	3,2	prednisone	-	170
33	25	1,0	prednisone	-	148
34	21,9	0,9	prednisone	-	06
35	43	1,6	0,83	07	122
36	23,1	1,2	1,0	07	Recurrence 4,5 years
42	21,8	14,9	not cured	-	86
43	34	24,5	not cured	-	120

Dependence= glucocorticoid period treatment

**Table 6: Postoperative Evaluation in Cushing's Disease – Protocol II**

Nº	Cortisol Pre-Op	Cortisol 6h	Cortisol 12h	Cortisol 24h	Cortisol 10-15d	Cortisol 1mg dexa	Dependence ( meses )	Follow-up (meses)
01	20,3	25,2	13,9	8,4	2,39	1,8	05	12
02	14,2	5,2	1,4	1,1	0,76	1,0	06	55
03	42,1	3,7	1,7	0,8	0,56	prednisone	-	48
04	22,5	10,3	2,3	2,8	0,5	1,0	04	48
05	35	67,8	---	13,4	6,5	1,0	18	45
06	11,6	2,2	0,5	0,2	0,32	1,38	07	43
07	20,1	32,9	12,8	2,6	0,82	---	07	40
08	18,5	14,8	12,7	4,5	5,3	1,77	04	50
09	20,1	33,3	16,9	3,7	1,2	1,0	15	40
10	20,8	48	44,7	8,7	5,2	2,2	12	37
11	12,2	4,2	2,3	1,0	0,3	1,2	10	35
12	14,1	27,9	11,9	0,9	4,5	prednisone	-	34
13	32	39,4	27,9	2,3	2,4	prednisone	-	33
14	17,2	45,6	21,2	7,0	10	1,96	02	27
15	20,1	28	4,6	1,5	0,5	1,7	15	30
16	18	49,8	25,2	6,4	17,5	1,27	01	25
17	29,2	7,3	1,2	0,4	1,6	prednisone	-	04
18	25,1	9,7	3,6	1,9	1,6	prednisone	-	24
19 *	24,5	14,8	2,7	1,0	0,5	prednisone	-	18
20	28,5	1,8	0,7	0,5	3,6	prednisone	-	17
21	17,8	38	40	30	1,59	prednisone	-	12
37	30	75	75	25	33,4	not cured	-	52
38 *	16,3	32,4	24	26,1	22,8	not cured	-	28
39 #	31,2	44,1	38,8	33,1	52,6	not cured	-	27
40	30,7	31,6	23,1	11,5	13	not cured	-	15
40 #	15,0	19	15,6	18,5	9,0	not cured	-	---
41	21,7	29,5	28,3	23,6	20,5	not cured	-	10
41 #	20,5	30,9	29	27	33,1	not cured	-	---

Dependence= glucocorticoid period treatment

\*Recurrence

#Second surgery

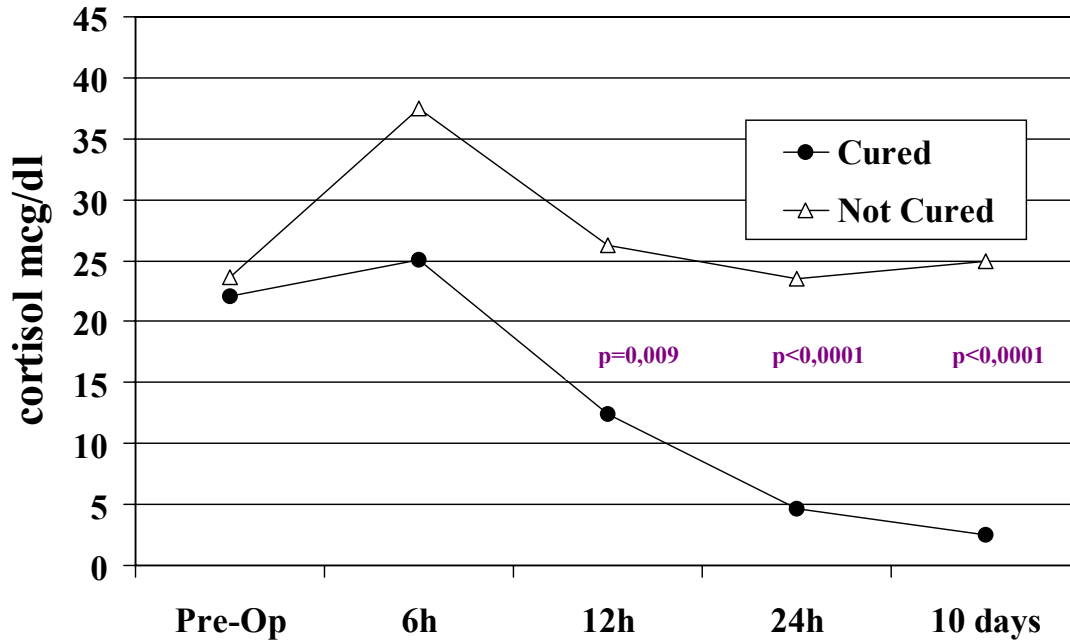


FIGURE 1: Pre- and Postoperative Mean Serum Cortisol in Patients with Cushing's Disease

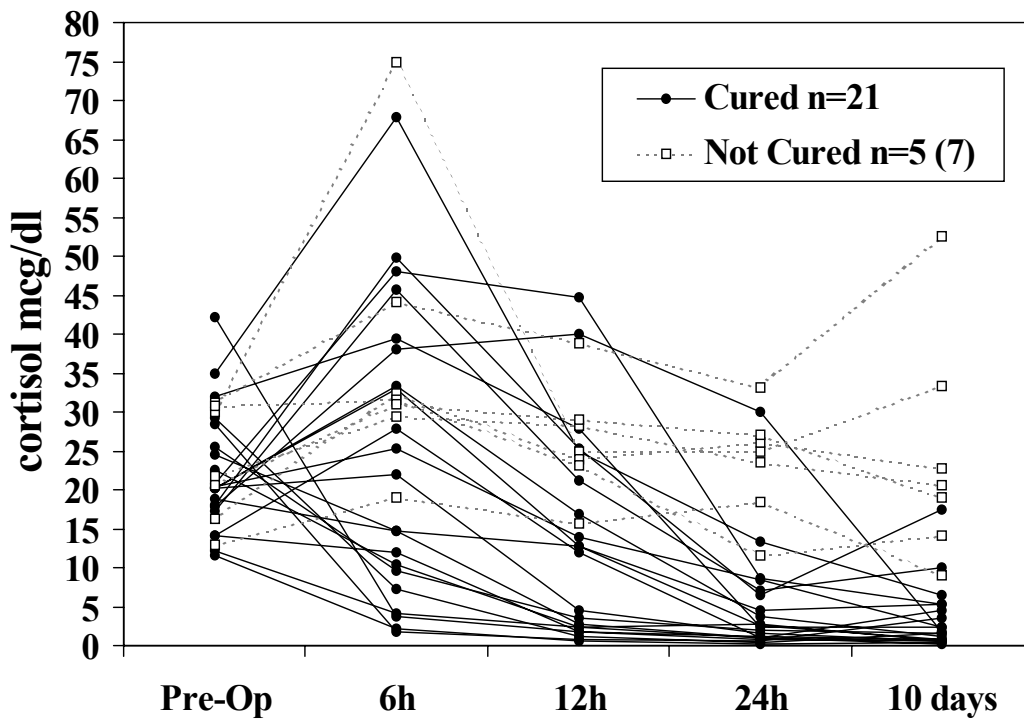


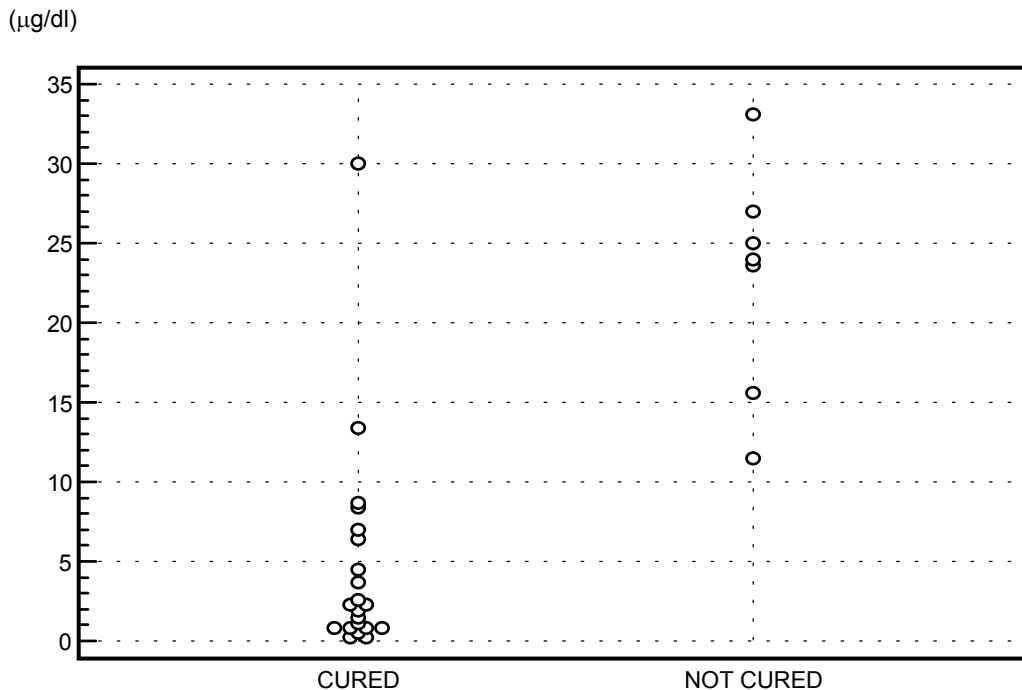
FIGURE 2: Pre- and Postoperative Mean Serum Cortisol in Patients with

## Cushing's Disease – Individual Evaluation

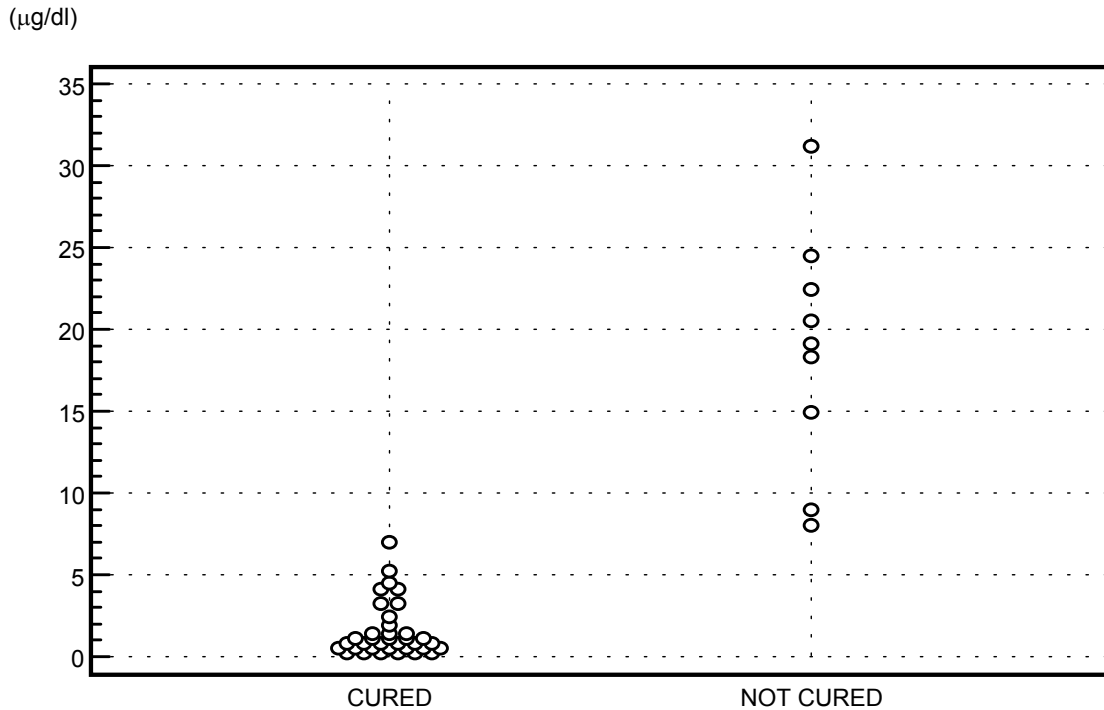
The 10-12 days post-TSS individual nadir serum cortisol level was  $1,25 \pm 1,67 \mu\text{g/dl}$  in cured and  $18,36 \pm 7,97 \mu\text{g/dl}$  in not cured patients ( $p < 0,0001$ ). In Figure 3 and 4 we can observe the nadir at first 24h and first 10-12days post-TSS. Table 7 shows sensitivity and specificity of nadir serum cortisol as remission criteria. Note a sensitivity and specificity of 100% for serum cortisol nadir of 7,5mg/dl during the first 10-12 day.

**Table 7: Sensitivity and Specificity (%) of serum cortisol nadir ( $\mu\text{g/dl}$ ) as a remission criteria during the first 24 hours and 10-12 postoperative day**

	First 24h		10 – 12 days	
Nadir	Sensitivity	Specificity	Sensitivity	Specificity
3,0	62	100	81	100
5,0	71	100	90	100
7,5	81	100	100	100
10	90	100	100	71



**FIGURE 3: Cortisol Nadir in Cured (n=21) and Not Cured (n=7) Patients, 24h After Surgery**



**FIGURE 4: Cortisol Nadir in Cured (n=36) and Not Cured (n=9) Patientes, 10-12 days After Surgery**

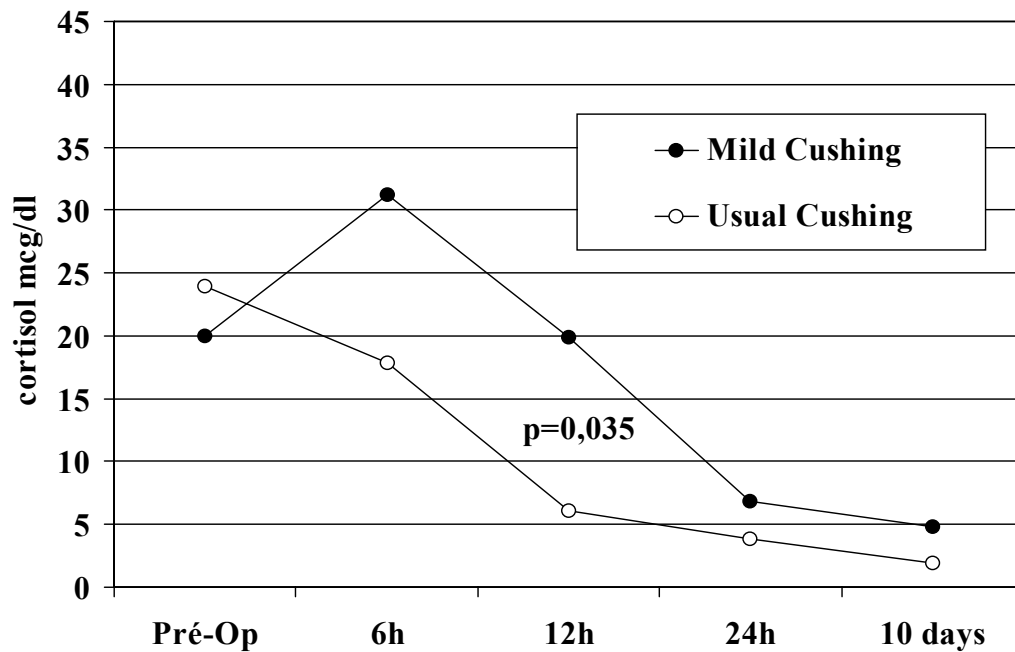
### Remission/Cured Group

The mean postoperative follow-up period of the 35 patients was 59 months (4-170). Seventeen patients were on glucocorticoid therapy for at least 12 months. The mean glucocorticoid dependence period was 23 months (1-170 months). Two patients with glucocorticoid dependence did not complete one-year follow-up.

After the glucocorticoid dependence period, all patients showed overnight suppression of serum cortisol after a dose of 1mg of dexamethasone (serum cortisol < 3,0 µg/dl). Patient number seven was not submitted to this test, but clinical evolution and other hormonal data confirmed remission without signs of relapse until now (follow-up: 40 months).

Twenty-one patients were evaluated in the immediate postoperative period. Patients were stratified in to two groups according to severity of hypercortisolism: "Mild"

CD (Group I) and “Usual” CD (Group II). In Group I, mean cortisol levels preoperative and 6, 12 and 24h postoperative were  $20,1\pm5,3\mu\text{g/dl}$ ,  $31,2\pm16,1 \mu\text{g/dl}$ ,  $19,9\pm15,2 \mu\text{g/dl}$  e  $6,8\pm8,6\mu\text{g/dl}$ . In Group II, they were  $23,9\pm8,8 \mu\text{g/dl}$ ,  $17,8\pm18,9 \mu\text{g/dl}$ ,  $6,1\pm6,1 \mu\text{g/dl}$  and  $3,2\pm3,9\mu\text{g/dl}$ . Only at 12h postoperative the difference between groups was significant ( $p=0,035$ ), at 6h it was borderline ( $p=0,06$ ). At 10-12 postoperative day, the mean serum cortisol in Group I was  $4,8\pm5,2 \mu\text{g/dl}$  and in Group II,  $2,1\pm1,9 \mu\text{g/dl}$  without statistical difference. We noted a trend for cortisol to decrease in the first 6h postoperative in Group II. In group I (“Mild” CD), cortisol levels increased during the first 6h postoperative, and decreased afterwards to levels similar to group II from the 24h postoperative onwards (Figure 5).



**FIGURE 5: Pre- and Postoperative Mean Serum Cortisol - Remission Group**

Urinary free cortisol was statistically lower in Group I ( $123,91\pm42,68 \mu\text{g}/24\text{h}$ ) than Group II ( $662,4\pm592,17 \mu\text{g}/24\text{h}$ ;  $p=0,014$ ). ACTH levels, midnight serum cortisol and nadir cortisol were not statistically different ( $53,19\pm37,8 \text{ pg/ml}$  vs  $50,12\pm15,51 \text{ pg/ml}$ ,



p=0,55; 21,71±8,96 µg/dl vs 25,72±15 µg/dl, p=0,37; 1,83±2,33 vs 0,85±0,79 µg/dl, p=0,29).

## **Recurrence**

Two patients who were cured after the first TSS surgery developed recurrence of hypercortisolism after 4.5 and 5.5 years. Postoperative serum (1,2 and 3,2 µg/dl) and urinary cortisol levels (<10 and 18,8 µg/24h) were low in both patients. The glucocorticoid dependence period was 7 and 4 months. Serum cortisol was suppressed on oral 1 mg overnight dexamethasone suppression test (1,0 and 1,7 µg/dl). The second transsphenoidal pituitary surgery was curative for one patient. This patient is still on glucocorticoid dependence (18 months of follow-up). The other one was submitted to pituitary radiotherapy.

## **Discussion**

Our results, with a cure rate of 87,5% for the first TSS surgery, confirm this approach as a first-line treatment for CD. Our results contribute to the discussion of the cure criteria, mainly considering serum cortisol. Despite the widespread acceptance of TSS surgery as the treatment of choice for CD, there is a general lack of agreement regarding a definition of cure. With distinct remission criteria and different times of hormonal evaluation, it is not difficult to understand the heterogeneity of results, with wide variation on remission (42-90%) and recurrence (0-36%) rates (Table 1). Thus, remission criteria could be normal, subnormal or undetectable serum cortisol, normal or subnormal urinary free cortisol, normal or subnormal ACTH levels, cortisol suppression on dexamethasone test (1mg overnight or 2 mg/two days) as well as only clinical parameters.

Normalization of serum and urinary cortisol and recovery of normal dexamethasone suppressibility have been considered as criteria for successful surgery (Fahlbusch et al. 1986; McCance et al. 1993; Semple et al. 2000; Guilhaume et al. 1988; Brucke et al. 1990). But results of Estrada et al. (2001) demonstrated that more strict criteria are needed. In that study, 64% of patients with normal postoperative serum and

urinary cortisol levels had recurrence of hypercortisolism after a mean follow-up period of 39 months. In this group of patients, some abnormalities of CD (absence of circadian rhythm and stress response) persisted. Probably, normal serum and urinary cortisol levels in the immediate postoperative period are related to persistence of tumoral cells after incomplete tumor resection, whose subsequent growth is responsible for the relapse of the hypercortisolism. Thus, remission of CD would be associated to a period of postoperative hypocortisolism, due to the suppression of normal corticotrophs by chronic hypercortisolism.

The postoperative measurement of serum cortisol has been used to assess cure after TSS surgery for CD. (Table 1). Undetectable 5-14 postoperative day serum cortisol has been proposed as a remission criteria by some authors (Trainer et al. 1993; McCance et al., 1993; Bochicchio et al., 1995; Hermus, 1997; Rees et al., 2002; Yap et al., 2002). In patients with CD, high levels of cortisol suppress both CRH secretion in the hypothalamus (Orth 1992) and ACTH secretion by normal corticotroph pituitary cells. Corticotroph adenoma function is independent from the hypothalamic regulation, so patients have the characteristic absence of cortisol circadian rhythm and cortisol response to stress. Furthermore, if the excision of the adenoma is complete, ACTH secretion will decline to very low levels. The results is immediate adrenocortical insufficiency, which may persist for many months after surgery and patients need glucocorticoid replacement therapy (Orth 1995, Estrada et al. 2001).

Postoperative hypocortisolism and a period of glucocorticoid dependence have been considered necessary for a favorable long-term prognosis in some series (Kuwayama et al. 1981; Trainer et al. 1993; McCance et al., 1993; Bochicchio et al., 1995; Hermus, 1997; Invitti et al. 1999; Rees et al., 2002; Yap et al., 2002). But the results of Estrada et al. (2001), as well as ours, do not confirm this concept. A group of patients studied by Estrada et al. (2001) achieved postsurgical adrenal insufficiency and some of them normalized the cortisol response to stress but none normalized the cortisol circadian rhythm. In this group, hypercortisolism recurred in 50%. We also detected recurrence in two patients with very low postoperative serum cortisol, adrenal insufficiency and glucocorticoid dependence for 4 and 7 month. Patients with postoperative adrenal insufficiency but with complete normalization of adrenal function afterwards (normal circadian rhythm and normal stress response) had an excellent long-term prognosis with

only one case (3%) of recurrent disease 9 yr after surgery (Estrada et al. 2001). Thus, postsurgical hypocortisolism does not always imply a good long-term prognosis, and the complete normalization of the adrenocortical function could be an important criteria of surgical cure in CD. On the other hand, like Estrada et al. (2001), we observed cure in patients with detectable postoperative serum cortisol (nadir 4,5 and 7,0  $\mu\text{g}/\text{dl}$ ). The long-term follow-up (3 and 4 years) confirmed the hypercortisolism remission without recurrence. In these patients, additional hormonal evaluation and clinical evolution established long-term remission. An other atypical patient (n° 16) should be commented. This patient had serum cortisol levels of 6,4  $\mu\text{g}/\text{dl}$  24h after TSS and 17,5  $\mu\text{g}/\text{dl}$  at the 10-12<sup>nd</sup> day. But cortisol nadir of 0,4  $\mu\text{g}/\text{dl}$  was detected at 72h after TSS. It probably means a very soon recovery of hypothalamic-pituitary-adrenal axis.

Theoretically, when an adenoma is removed surgically, serum cortisol and ACTH should fall to very low levels in the immediate postoperative period because normal pituitary tissue remains suppressed as a result of chronic hypercortisolism. However, remission patients could have an initial increase in cortisol levels with subsequently decrease (after days or weeks). Hence, detectable early postoperative serum cortisol levels were not necessarily followed by permanence or recurrence of CD. In our series, we report on two patients (number 5 and 10) with detectable early postoperative serum cortisol levels with late decrease to 2,2  $\mu\text{g}/\text{dl}$  (at 3 months postoperative) and 1,3  $\mu\text{g}/\text{dl}$  (at 30 days postoperative). They were considered cured after a follow-up of 45 and 37 months. During this follow-up period, the glucocorticoid dependence was 18 and 12 months, respectively. Other parameters, such as urinary free cortisol, ACTH levels, normal cortisol suppression by 1 mg overnight dexamethasone, and clinical features confirmed the long-term remission in these two patients. Thus, confirmation of permanence of hypercortisolism requires other parameters besides detectable cortisol levels.

Several surgical series of CD have been reported in the past two decades. But few of them have a long-term follow-up with systematic and homogeneous reevaluation of cortisol status. Our series has a mean follow-up period of 4,8 years, but 33 of 35 cured patients have one year or longer follow-up. We considered the long-term follow-up, adrenal insufficiency and glucocorticoid dependence as important parameters to define remission. Afterwards, the patients underwent an oral 1mg overnight suppression test, with serum cortisol levels below 3  $\mu\text{g}/\text{dl}$ .

To date, there have been too few series analyzing the immediate postoperative cortisol levels without administration of exogenous steroids. Certainly the routine use of exogenous glucocorticoids during TSS and in the immediate postoperative period does not allow an understanding of cortisol dynamics after TSS. Furthermore, different remission criteria were considered in series of patients after glucocorticoid administration.

The first large series to consider undetectable postoperative cortisol levels (<1,8 µg/dl) as remission of CD was reported by Trainer et al. (1993). All patients received exogenous steroids before hormonal evaluation. Patients with serum cortisol between 1,8 and 10,9 µg/dl had CD remission, but in all of them the hypercortisolism relapsed. The authors considered detectable postoperative cortisol as surgical failure. But long-term follow-up is very important to differentiate doubtful cases.

Simmons et al. (2001) evaluated serum cortisol levels in 27 patients with CD before and after transsphenoidal surgery to elucidate the patterns of cortisol decrease and optimal time and criteria for determining surgically induced remission. Following surgery, initial remission and failure groups demonstrated divergent patterns of cortisol levels. But it was detected wide variation in serum cortisol levels in the postoperative period. Like our results, the heterogeneity of cortisol response was reported and the initial postoperative cortisol levels increased above preoperative levels in many patients. Twenty of 22 cured patients displayed a notable decline in serum cortisol levels; however, in contrast with earlier reports, the patients maintained measurable levels. Surgically induced remission group was identified when postoperative values of cortisol were lower than preoperative midnight levels and when absolute values of cortisol were less than 10 µg/dl. In a small proportion of patients, a delayed remission could also be demonstrated. It was the first relevant study to analyze the postoperative cortisol dynamics in patients without exogenous steroid administration.

Pimentel-Filho et al. (2002) evaluated ACTH and cortisol levels at immediate postoperative period in 8 cured patients with CD and 7 with acromegaly with normal hypothalamic-pituitary-adrenal axis. The pattern of postoperative cortisol secretion in CD patients was similar to our cured patients. They also detected an increase in cortisol

levels during the first 4 hours, with subsequent decreasing to mean cortisol levels of  $3,0 \pm 1$   $\mu\text{g}/\text{dl}$  at the 24<sup>th</sup> postoperative hour. In acromegalic patients, cortisol levels increased after surgery and remained elevated during the first 24 postoperative hours. These data suggest that chronic hypercortisolism could partially suppress ACTH and cortisol secretion after transsphenoidal surgical stress.

Nasrallah et al (2002) also evaluated ACTH and cortisol levels in the immediate postoperative period of TSS for CD. Patients did not receive exogenous steroids. All patients with nadir cortisol lower than  $10 \mu\text{g}/\text{dl}$  had remissions, whereas only 3 of 11 patients with nadir above  $10 \mu\text{g}/\text{dl}$  achieved that outcome. In patients who achieved cortisol levels lower than  $3,0 \mu\text{g}/\text{dl}$ , ACTH and cortisol levels increased during the first 2-4 postoperative hour before starting to decline. Even though cortisol levels decreased to very low cortisol levels ( $1-2 \mu\text{g}/\text{dl}$ ), the respective ACTH values remained measurable in some patients. The presence of detectable or normal levels of ACTH despite low cortisol levels suggests that normal corticotrophs might not be totally suppressed.

There are very few data about ACTH levels in the immediate postoperative period. Pimentel et al. (2001) evaluated ACTH levels in 14 patients with CD (6 cured and 8 not cured). But hydrocortisone was administered at transoperative period. In all CD patients, ACTH levels increased significantly soon after surgery, and remained elevated for 5 hours. Probably, peri-tumoral normal corticotrophs are not completely suppressed by chronic hypercortisolemia, and when these patients are under intense stress (like TSS) there is some ACTH release. Gomes et al. (1993) studied ACTH and cortisol levels during the immediate postoperative period following TSS in 9 CD patients (5 cured and 4 not cured). Cortisol levels determined postoperatively were significantly lower in cured patients, but ACTH levels were not different between cured and not cured patients. Graham et al. (1997) evaluated ACTH levels by immunochemiluminometric assay (ICMA) every 10 minutes for 1 hour immediately after transsphenoidal pituitary surgery in CD patients. Intraoperative ACTH levels do not predict cure. This may relate to incomplete suppression and/or surgical manipulation of normal pituitary corticotrophs in patients with CD.

We detected (like Simmons et al., 2001), a wide variation of cortisol levels during the first 24 hours in the remission group during the first 24 postoperative hours. In

some patients, cortisol levels decreased immediately in the first 6h. In others, cortisol levels initially increased and subsequently decreased. And yet in others, cortisol levels were maintained above 5,0 µg/dl during the first postoperative 24hours. In a subgroup of patients, cortisol decreased to low levels only after several days. In patients with “Mild” CD, cortisol levels usually increased in the immediate postoperative period and subsequently decreased (Table 6, Figure 5). In these patients, the normal corticotrophs might not be totally suppressed by endogenous hypercortisolism and the intense stress from TSS could promote ACTH and cortisol release. In patients with more severe hypercortisolism (“Usual” CD), the normal corticotrophs might be suppressed, unable to raise ACTH and cortisol levels. Thus, in the later group, cortisol levels tend to decrease immediately after TSS, as soon as during the first 6h. But 3 patients with “Mild” CD and 4 patients with “Usual” CD had different patterns of cortisol secretion soon after TSS. It could be explained by CD heterogeneity and by different surgical stress in each case.

The serum cortisol nadir during the 10-12 postoperative day could differentiate remission group from failure group ( $1,25\pm 1,67$  vs  $18,36\pm 7,97$  µg/dl). But the nadir occurred in only 4 of 21 cured patients (19%) during the first 24 hours. These data suggest that cortisol levels do not decrease immediately after transsphenoidal surgery; it takes some several days to reach very low or undetectable levels. Considering such a strict criteria for remission (undetectable postoperative serum cortisol levels), in our series we have 80,9% sensitivity and 100% specificity. Thus, not all patients with surgically induced remission have undetectable postoperative serum cortisol. On the other hand, only one patient presented a nadir serum cortisol above 5,0 µg/dl. Cure is not always associated to undetectable serum cortisol levels; but, when these levels are reached, we can classify the patient as in the remission group, because any patient in the failure group had nadir cortisol levels below 8,0 µg/dl. Table 7 show sensitivity and specificity of serum nadir cortisol as criteria to define cure. Thus, during the first 10-12 days after TSS, a cortisol of 7,5 µg/dl differentiate remission from failure group (sensitivity and specificity of 100%).

The results of this study suggest that none single very strict criteria could correctly classify all cured patients. The routine glucocorticoid administration in perioperative period observed in other series (Trainer et al. 1999; McCance et al., 1993; Rees et al., 2002; Yap et al., 2002) could explain some differences from our study. This

practice could suppress the normal corticotrophs response to surgical stress, and ACTH and cortisol levels are not released. In our series, serum cortisol levels in the remission group tend to be lower at 10-12<sup>nd</sup> postoperative day, a time when patients have already received glucocorticoid therapy.

It is interesting to note that the heterogeneity of serum cortisol responses to TSS makes it difficult to establish cutoff cortisol levels to better discriminate cured patients from not cured in the immediate postoperative period. Undetectable serum cortisol levels are predictive of cure, but detectable cortisol is not always associated to surgical failure. Some patients will only have subnormal cortisol levels after several days, and not all cured patients will reach undetectable levels. On the other hand, nadir serum cortisol levels above 10 µg/dl was related to surgical failure, confirmed by additional hormonal evaluation (urinary free cortisol, basal and post-DDAVP ACTH levels, 1 mg dexamethasone suppression test). Thus, patients with serum cortisol between 5 and 10 µg/dl need other clinical and laboratory parameters to define remission.

In summary, undetectable serum cortisol is not always necessary to define cure in the immediate postoperative period of transsphenoidal surgery for Cushing's disease. But undetectable cortisol is a strong evidence of cure. Serum cortisol levels above 10 µg/dl are predictive of surgical failure. During the first 10-12 postoperative day, cortisol nadir classified correctly the remission (cortisol of 7,0 µg/dl or less) and the failure group (cortisol of 8,0 µg/dl or more). In patients whose postoperative cortisol levels are between 5 and 10 µg/dl, other clinical and laboratorial parameters should be used to define cure (urinary free cortisol, basal and post-DDAVP ACTH levels, dexamethasone suppression test). Serum cortisol could not decrease immediately after transsphenoidal surgery. Thus, in some patients, remission could not be established early (during first 24-48 hours). Patients with mild Cushing's disease who meet remission criteria tend to increase cortisol levels during first 6h postoperative with subsequent decrease to very low levels. But even in patients with undetectable postoperative serum cortisol, CD can relapse. Only long-term follow-up can confirm definitive cure in patients with Cushing's disease.

## References

1. Arnott R.D., Pestell R.G., McKelvie P.A., Henderson J.K., McNeill P.M., Alford F.P. A critical evaluation of transsphenoidal surgery in the treatment of Cushing's disease: prediction of outcome. *Acta Endocrinol* (123):423-430, 1990.
  2. Blevins L.S., Christy J.H., Khajavi M., Tindall G.T. Outcomes of therapy for Cushing's disease due to adrenocorticotropin-secreting pituitary macroadenomas. *J Clin Endocrinol Metab* (83):63-67, 1998.
  3. Bochicchio D., Losa M., Buchfelder M. Factors Influencing the Immediate and Late Outcome of Cushing's Disease Treated by Transsphenoidal Surgery: A Retrospective Study by the European Cushing's Disease Survey Group. *J Clin Endocrinol Metab* (80):3114-3120, 1995.
  4. Boggan J.E., Tyrrel J.B., Wilson C.B. Transsphenoidal microsurgical management of Cushing's disease. *J Neurosurg* (59):195-200, 1983.
  5. Burch W.M. Cushing's disease: a review. *Arch Intern Med* (145):1106-1111, 1985.
  6. Burcke C.W., Adams C.B.T., Estri M.M., Morris C., Bevan J.S. Transsphenoidal surgery for Cushing's disease: does what is removed determine the endocrine outcome? *Clin Endocrinol* (33): 525-537, 1990.
  7. Chandler W.F., Schteingart D.E., Lloyd R.V., McKeever PE, Ibarra-Perez G. Surgical treatment of Cushing's disease. *J Neurosurg* (66): 204-212, 1987.
  8. Chee G. H., Mathias D. B., James R. A. and Kendall-Taylor P. Transsphenoidal pituitary surgery in Cushing's disease: can we predict outcome? *Clin Endocrinol* (54):617-626, 2001.
  9. Devoe K.J, Miller W.L., Conte F.A., et al. Long-term outcome in children and adolescents after transsphenoidal surgery for Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab* (82):3196-3202, 1997.
  10. Estrada J., Garcia-Uria J., Lamas C., Alfaro J., Lucas T., Diez S., Salto L., Barcelo B. The complete normalization of the adrenocortical function as the criterion of cure after transsphenoidal surgery for Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab* (86):5695-5699, 2001.
  11. Fahlbusch R., Buchfelder M., Muller O.A. Transsphenoidal surgery for Cushing's disease. *J Royal Soc Med* (79):262-269, 1986.
-



12. Gomez J.M., Camps I., Villabona C., Leyes P., Montana E., Bonnin R, Soler J.[Basal cortisol and ACTH in the immediate postoperative period in ACTH-producing hypophyseal adenomas]. *Rev Clin Esp* (193):472-474,1993.
  13. Graham K. E., Samuels M. H., Raff H., Barnwell S. L., Cook D. M. Intraoperative adrenocorticotropin levels during transsphenoidal surgery for Cushing's disease do not predict cure. *J Clin Endocrinol Metab* (82):1776-1779, 1997.
  14. Guilhaume B., Bertagna X., Thomsen M., et al. Transsphenoidal pituitary surgery for the treatment of Cushing's disease: results in 64 patients and long-term follow-up studies. *J Clin Endocrinol Metab* (66):1056-1064, 1988.
  15. Hardy J. Cushing's disease: 50 years later. *Can J Neurol Sci.* (9):375-380, 1982.
  16. Hermus A. R. Early assessment of outcome of pituitary surgery for Cushing's disease. *Clin Endocrinol* (47):151-152, 1997.
  17. Imaki T., Tsushima T., Hizuka N., Odagiri E., Murata Y., Suda T., Takano K. Postoperative plasma cortisol levels predict long-term outcome in patients with Cushing's disease and determine which patients should be treated with pituitary irradiation after surgery. *Endocr J* (48):53-62, 2001.
  18. Inder W.J., Hunt P.J. Glucocorticoid Replacement in Pituitary Surgery: Guidelines for Perioperative Assessment and Management. *J Clin Endocrinol Metab* 87:2745-2750, 2002.
  19. Invitti C., Giraldi F.P., Martin M., et al. Diagnosis and management of Cushing's syndrome: results of an Italian Multicentre Study. *J Clin Endocrinol Metab* (84):440-448, 1999.
  20. Knappe U.J., Ludecke D.K. Persistent and recurrent hypercortisolism after transsphenoidal surgery for Cushing's disease. *Acta Neurochirurgica* (65-suppl):31-34, 1996.
  21. Kuwayama A., Kageyama N., Nakane T., Watanabe M., Kanie N. Anterior pituitary function after transsphenoidal selective adenomectomy in patients with Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab* (53):165-173,1981.
  22. Lindholm J. Endocrine function in patients with Cushing's disease before and after treatment. *Clin Endocrinol* (36):151-159,1992.
  23. Ludecke D.K. Transnasal microsurgery of Cushing's disease. Overview including personal experiences with 256 patients. *Pathol Res Pract* (187):608-612,1991.
-

24. Mampalam T. J., Tyrrell J. B., Wilson C. B. Transsphenoidal Microsurgery in Cushing's Disease. *Ann Intern Med* (109): 487-493, 1988.
25. McCance D. R., Gordon D.S., Fanin T.T., Hadden D.R., Kennedy L., Sheridan B., Atkinson A. B. Assessment of endocrine function after transsphenoidal surgery for Cushing's disease. *Clin Endocrinol* (38): 79-86, 1993.
26. Nakane T., Kuwayama A., Watanabe M, et al. Long-term results of transsphenoidal adenectomy in patients with Cushing's disease. *Neurosurgery* (21):218-222, 1987.
27. Nasrallah M.P., Serhal K.I., Selman. W.R., et al. Discordance in the perioperative levels of plasma ACTH and serum cortisol in patients with ACTH-secreting pituitary adenomas or Cushing's disease: prediction of long-term benefit. *The Endocrine Society's 84<sup>th</sup> Annual Meeting, (Abstract), 2002.*
28. Pieters F. F. F. M., Hermus A. R. M. M., Meijer E., Smals A. G. H., Kloppenborg P. W. C. Predictive factors for initial cure and relapse rate after pituitary surgery for Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab* (69):1122-1126, 1989.
29. Pimentel-Filho F.R., Cukiert A., Miyashita F., Huayllas M.K., Knoepfelmacher M., Salgado L.R., Liberman B. Adrenocorticotropin levels do not change during early recovery of transphenoidal surgery for ACTH-secreting pituitary tumors. *J Endocrinol Invest* (24):83-87, 2001.
30. Pimentel-Filho F.R., Ferreira L.V., Berger K., et al. The ACTH and cortisol secretion are reduced during immediate postoperative in cured Cushing patients when compared to acromegalic patients with normal hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *The Endocrine Society's 84<sup>th</sup> Annual Meeting, (Abstract), 2002.*
31. Post K.D., Habas J.E. Comparison of long-term results between prolactin-secreting adenomas and ACTH-secreting adenomas. *Can J Neurol Sci* (17):74-77, 1990.
32. Ram Z., Nieman L.K., Cutler G.B., Chrousos G.P., Doppman J.L., Oldfield E.H. Early repeat surgery for persistent Cushing's disease. *J Neurosurg* (80):37-45, 1994.
33. Rees D. A., Hanna F.W.F., Davies J.S., Mills R.G., Vafidis J., Scanlon M.F. Long-term follow-up results of transsphenoidal surgery for Cushing's disease in a single centre using strict criteria for remission. *Clin Endocrinol* (56):541-551, 2002.
34. Robert F., Hardy J. Cushing's disease: a correlation of radiological, surgical and pathological findings with therapeutic results. *Pathol Res Pract* (187):617-621, 1991.

35. Salassa R.M., Laws Jr E.R., Carpenter P.C., Northcutt R.C. Transsphenoidal removal of pituitary microadenoma in Cushing's disease. *Mayo Clin Proc* (53): 24-28, 1978.
  36. Semple C.G., Thomson J.A., Teasdale G.M. Transsphenoidal microsurgery for Cushing's disease. *Clin Endocrinol* (21):621-629, 1984.
  37. Semple P. L., Lee Vance M., Findling J., Laws Jr. E. R. Transsphenoidal surgery for Cushing's disease: Outcome in patients with a normal magnetic resonance imaging scan. *Neurosurgery* (46):553-559, 2000.
  38. Shimon I., Ram Z Cohen Z.R., Hadani M. Transsphenoidal surgery for Cushing's disease: endocrinological follow-up monitoring of 82 patients. *Neurosurgery* (51):57-61, 2002.
  39. Simmons N. E., Alden T. D., Thorner M. O., Laws Jr. E. R. Serum cortisol response to transsphenoidal surgery for Cushing disease. *J Neurosurg* (95): 1-8, 2001.
  40. Sonino N., Zielesny M., Fava G.A., Fallo F., Boscaro M. Risk factors and long-term outcome in pituitary dependent Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab* (81):2647-2652, 1996.
  41. Swearingen B, Biller B. M. K., Barker F. G., Katznelson L., Grinspoon S., Klibanski A., Zervas N. T. Long-Term Mortality after Transsphenoidal Surgery for Cushing's Disease. *Ann Intern Med* (130): 821-824,1999.
  42. Tahir A.H., Sheeler L.R. Recurrent Cushing's disease after transsphenoidal surgery. *Arch Intern Med* (152):977-981, 1992.
  43. Tagliaferri A. Berselli M., Loli P. Transsphenoidal microsurgery for Cushing's disease. *Acta Endocrinolol* (113): 5-11, 1986.
  44. Thomas J.P., Richards S.H. Long-term results of radical hypophysectomy for Cushing's disease. *Clin Endocrinol* (19):629-636, 1983
  45. Tindall G.T., Herring C.J., Clark R.V., Adams D.A., Wattas N.B. Cushing's disease:results of transsphenoidal microsurgery with emphasis on surgical failures. *J Neurosurg* (72):363-369, 1990.
  46. Trainer P. J., Lawrie H. S., Verhelst J., Howlett T. A., Lowe D.G., Grossman A.B., Sabage M. O., Afshar F., Besser M. Transsphenoidal resection in Cushing's disease: undetectable serum cortisol as the definition of successful treatment. *Clin Endocrinol* (38): 73-78, 1993.
-

47. Yap L.B., Turner H.E., Adams C.B.T., Wass J.A.H. Undetectable postoperative cortisol does not always predict long-term remission in Cushing's disease: a single centre audit. *Clin Endocrinol* (56): 25-31, 2002.