

Diagnóstico Laboratorial da Síndrome de Cushing

revisão

RESUMO

A suspeita clínica de síndrome de Cushing leva obrigatoriamente a uma avaliação laboratorial, baseada nas dosagens de cortisol e de ACTH. Entretanto as dosagens basais destes hormônios não são suficientes para confirmar o diagnóstico, sendo necessários testes dinâmicos que estimulem ou inibam o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA). A adequada interpretação das dosagens requer o conhecimento dos princípios básicos da regulação do eixo HHA, o meio e a forma (ligada ou livre) onde o hormônio será quantificado, além das características dos ensaios empregados. Numa primeira fase do diagnóstico laboratorial, é feita a documentação do hiper cortisolismo endógeno, através de dosagens salivares, urinárias ou séricas de cortisol, em amostras coletadas em horários apropriados e/ou após uso de dexametasona em doses baixas (1 mg). Numa segunda fase procede-se ao diagnóstico etiológico da síndrome de Cushing empregando-se basicamente dosagens de ACTH e de cortisol após uso de doses maiores de dexametasona. Muitas vezes a complexidade da patologia exige o uso de testes funcionais mais sofisticados, como o emprego de CRH, chegando até à necessidade de cateterismo do seio petroso inferior com coleta de amostras para a dosagem de ACTH. Apresentamos também o esquema utilizado na Divisão de Endocrinologia e Metabologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto para a confirmação da existência de síndrome de Cushing e determinação de sua etiologia. (**Arq Bras Endocrinol Metab 2002;46/1; 97-105**)

Descritores: Síndrome de Cushing; Doença de Cushing; Cortisol sérico; Cortisol livre urinário; Cortisol salivar; ACTH

ABSTRACT

The clinical suspicion of Cushing's syndrome leads to an obligatory laboratory evaluation, based on measurements of cortisol and ACTH. However, basal determination of these hormones is not sufficient to confirm the diagnosis, so that dynamic tests based on stimulation or inhibition of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis (HPA) are necessary. An adequate interpretation of the laboratory results needs the understanding of the basic principles that regulate the HPA axis, the media and the form (bound or free) where the measurement will be performed, as well as the characteristics of the assays employed. The initial diagnostic phase, a documentation of the presence of endogenous hypercortisolism is done with the use of salivary, urinary or serum cortisol measurements, using samples collected with appropriate timing and/or after the use of low doses (1 mg) of dexamethasone. In a second phase we proceed to the etiologic diagnosis of Cushing's syndrome, using ACTH and cortisol measurements after higher doses of dexamethasone. The complexity of the syndrome frequently prompts the use of sophisticated functional tests, with the use of CRH and even samples collected during inferior petrosus sinus catheterization for the measurement of ACTH. We present the diagnostic scheme employed at the Division of Endocrinology and Metabolism of the Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto for the confirmation

**Margaret Castro
Ayrton C. Moreira**

*Divisão de Endocrinologia,
Departamento de Clínica Médica,
Faculdade de Medicina de Ribeirão
Preto – USP, Ribeirão Preto, SP*

*Recebido em 12/01/02
Aceito em 24/01/02*

of Cushing's syndrome and determination of its etiology. (*Arq Bras Endocrinol Metab* 2002;46/1; 97-105)

Keywords: Cushing's syndrome; Cushing's disease; Serum cortisol; Free urinary cortisol; Salivary cortisol; ACTH

ASUSPEITA CLÍNICA DE HIPERCORTISOLISMO deverá ser avaliada com base na epidemiologia da síndrome de Cushing e sempre confirmada pela avaliação laboratorial, cujos principais parâmetros serão a dosagem do principal glicocorticóide da camada fasciculada, o cortisol e a do principal hormônio regulador da função do córtex adrenal, o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). Entretanto, apenas as dosagens basais destes hormônios não são suficientes para confirmar o diagnóstico clínico da síndrome de Cushing, necessitando de testes dinâmicos que estimulem ou inibam o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA). Para a adequada interpretação destas dosagens, quer em condições basais ou em resposta aos estímulos no eixo HHA, alguns fatores devem ser considerados. Dentre estes destacam-se os princípios básicos da regulação da fisiologia do eixo HHA, as características físico-químicas dos hormônios, a presença de formas livres ou ligadas às proteínas transportadoras dos hormônios, além das peculiaridades dos líquidos biológicos onde estes hormônios serão quantificados (sangue, saliva ou urina) e as características dos ensaios e das técnicas de dosagens hormonais utilizadas. Para o controle de qualidade dos diferentes métodos utilizados nas dosagens hormonais, visando a precisão diagnóstica, deve-se incluir a permanente correlação clínico-laboratorial. Para tanto, o clínico deverá dar preferência aos laboratórios de referência no país, com tradição em dosagens dos hormônios que avaliam a atividade adrenocortical.

Aspectos críticos nas dosagens de esteróides

Os esteróides adrenais são geralmente determinados por radioimunoensaios específicos; são moléculas de pequeno peso molecular (250-350 Da) com estruturas químicas muito semelhantes, não são espécie-específicas, são resistentes ao calor e, portanto, estáveis à temperatura ambiente. As concentrações plasmáticas, da ordem de nanomoles ou micromoles por litro, não exigem ensaios muito sensíveis. Por outro lado, a semelhança estrutural dos esteróides exigem anticorpos altamente específicos ou a necessidade de extração e de cromatografia prévias. As determinações dos esteróides adrenais podem ser realizadas em diferentes líquidos biológicos como sangue, saliva ou urina. As dosagens urinárias dos 17-cetoesteróides (17-KS), dos

17-hidroxiesteróides (17-OHCS) e dos 17-cetogênicos (17-KGS) foram tradicionalmente empregadas na avaliação da função adrenocortical (1,2). Estes métodos têm a vantagem de avaliar a secreção integrada da produção dos esteróides nas 24 horas, correspondentes ao período da coleta da urina. Por outro lado, tem a desvantagem de exigir uma rigorosa coleta urinária. Embora sejam métodos quimicamente estáveis, não são esteróide-específicos e sofrem interferências de drogas, glicose e de diversos corantes e contrastes. Estes métodos foram úteis durante cinco décadas, estando hoje em desuso. Eles foram substituídos pela determinação do cortisol livre urinário (urinary free cortisol, UFC), inicialmente realizado por técnicas de competição de ligação com proteínas (3) e, mais recentemente, por imunoensaios ou cromatografia líquida de alta pressão (HPLC). Para as determinações plasmáticas e salivares do cortisol, dos andrógenos e mineralocorticóides estão atualmente disponíveis imunoensaios altamente específicos, sensíveis, rápidos e de fácil execução.

O cortisol circula no sangue ligado a proteínas transportadoras, a transcortina - a principal proteína transportadora de corticóides (CBG) -, e a albumina. Apenas uma pequena fração (5-10%) encontra-se na forma livre, isto é na fração biologicamente ativa do hormônio. Situações que elevam as globulinas transportadoras dos esteróides, tais como gravidez e uso de estrógenos, apresentam maior aumento dos valores do esteróide total do que do esteróide livre. Similarmente, em condições de baixos níveis de CBG, como ocorre na síndrome nefrótica, insuficiência hepática e hipotireoidismo, as concentrações de cortisol livre são mantidas normais apesar da redução dos níveis do cortisol plasmático. A maioria dos métodos de imunoensaios, utilizados na determinação do cortisol no plasma, detectam o cortisol total (ligado e livre) ao passo que a dosagem do cortisol na urina e na saliva quantificam o cortisol livre. Os níveis de cortisol urinário e salivar aumentam rapidamente quando as concentrações séricas do cortisol total atingem 25µg/dl excedendo a capacidade de ligação da CBG. O UFC tem sido considerado o mais sensível indicador de hipercortisolismo, entretanto apresenta o inconveniente da coleta de urina de 24h e a necessidade da avaliação simultânea da taxa de filtração glomerular do paciente (4). A dosagem do cortisol na saliva independe das flutuações da transcortina e do fluxo de saliva. Adicionalmente, as amostras de saliva são obtidas com técnicas não-invasivas e não-estressantes, podendo ser realizadas por pessoas não treinadas em ambulatório ou na própria residência do paciente (5-7). Estas amostras

podem ser coletadas várias vezes ao dia, permitindo a avaliação dinâmica da secreção de cortisol livre no diagnóstico da síndrome de Cushing, inclusive em crianças (8-10).

Aspectos críticos na dosagem de ACTH

Os hormônios reguladores da função adrenocortical apresentam concentrações plasmáticas da ordem de picomoles por mililitro e são proteínas de pesos moleculares maiores (ACTH 4,5 kDa) que os dos esteróides. O radioensaio do ACTH (11) exige maior volume de plasma, além de extração e concentração prévias das amostras. Por estas razões vem sendo substituído por ensaios imunométricos, imunofluorométricos e imunoquimioluminométricos (12,13). Contudo, estes ensaios também apresentam problemas metodológicos, como o observado na síndrome da secreção ectópica de ACTH onde, apesar dos valores elevados de ACTH, podem ocorrer resultados falso-negativos. As dosagens de ACTH por estes novos ensaios, que utilizam anticorpos monoclonais e reconhecem apenas o ACTH intacto (ACTH 1-39), falham na detecção de moléculas anômalas de ACTH, que podem ser encontradas em alguns pacientes com secreção ectópica de ACTH. O ACTH é sensível ao calor e instável no plasma, levando à dificuldades técnicas para sua detecção, ainda hoje observadas em todos os imunossaios. Estas dificuldades seriam, em parte, secundárias à adsorção do ACTH ao vidro e à suscetibilidade à inativação por enzimas proteolíticas, à temperatura ambiente. Estes inconvenientes podem ser contornados utilizando-se seringas e tubos plásticos, manutenção dos tubos em gelo, com imediata centrifugação em centrífugas refrigeradas, além da necessidade de adição de inibidores de enzimas proteolíticas.

Racional dos testes utilizados no diagnóstico laboratorial da Síndrome de Cushing

O conhecimento das características da regulação da função do HPA são fundamentais para a análise e interpretação corretas dos exames laboratoriais para confirmação do diagnóstico clínico e para o diagnóstico diferencial da síndrome de Cushing. Dentre estas destacam-se a presença dos ritmos circadiano e ultradiano da secreção basal, a retroalimentação negativa sobre a secreção de ACTH efetuada pelos glicocorticóides, a influência do estresse físico e emocional sobre a secreção de ACTH, além da influência de exercício físico, horário de alimentação, depressão endógena, alcoolismo, além de outras alterações psicológicas, e finalmente, o efeito ou interferência de medicamentos, tais como barbitúricos, rifampicina e estrógenos.

Em decorrência da presença de ritmo circadiano e, conseqüentemente, da grande variabilidade dos valores normais ao longo do dia, as coletas de sangue basal de cortisol e de ACTH devem ser realizadas entre 0800 e 0900h, pois ao final do dia e à noite as concentrações plasmáticas destes hormônios estão reduzidas, nos indivíduos normais. Por outro lado, no diagnóstico diferencial da síndrome de Cushing, obtêm-se sensibilidade e especificidade mais elevadas com as determinações do cortisol às 2300 ou 2400h comparadas às obtidas às 0900 ou 1700h, pois a maioria dos indivíduos com esta doença perdem o ritmo circadiano do cortisol, enquanto outros pacientes mantêm o ritmo, porém com valores de cortisol elevados. Medidas isoladas de cortisol e ACTH, devido à meia-vida curta deste último (ACTH: 4 a 8 min; cortisol: 80 min) e devido à presença do ritmo ultradiano (pulsátil) de ambos, inclusive na síndrome de Cushing, não são de valor diagnóstico para o hipercortisolismo. Portanto, para a avaliação dos níveis basais de ACTH e cortisol são requeridas, no mínimo, 2 amostras de sangue com intervalo de 15 minutos. Os valores normais de ACTH (10-50 pg/ml) às 0900h variam discretamente entre os diferentes métodos. É importante salientar que determinações do fator liberador de corticotrofina (CRH) no sangue periférico não refletem as concentrações no sistema porta-hipofisário, não tendo aplicação diagnóstica. Uma exceção a esta regra são os raríssimos tumores ectópicos produtores de CRH. Entretanto, a administração de CRH sintético com dosagens de ACTH e cortisol apresenta grande utilidade no diagnóstico diferencial da síndrome de Cushing.

Em relação às dosagens dos níveis basais de andrógenos adrenais devem-se considerar alguns aspectos que podem indicar uma possível etiologia para a síndrome de Cushing. Valores de andrógenos elevados geralmente sugerem a presença de um tumor adrenal produtor, concomitantemente, de glicocorticóides e andrógenos tanto na criança como em adultos. Por outro lado, em adultos, a presença de níveis de sulfato de dehidroepiandrosterona (DHEAS) abaixo do intervalo normal para a idade pode ser um indicativo da presença de um adenoma adrenal produtor unicamente de cortisol (14).

A presença de retroalimentação negativa exercida pelos glicocorticóides na secreção de ACTH é utilizada em provas dinâmicas que avaliam o eixo HPA. O teste da metirapona, droga bloqueadora da enzima 11 β -hidroxilase que reduz a produção de cortisol, foi muito utilizado no passado (15), não sendo atualmente utilizado como teste de escolha no diagnóstico diferencial da síndrome de Cushing. O princípio da retroali-

mentação negativa que ocorre no eixo HHA é, também, a base fisiopatológica dos testes de supressão com diferentes doses de dexametasona (4,16,17). Esta droga é um potente glicocorticóide sintético, não sendo detectada na maioria dos imunoenaios do cortisol. A dexametasona, mesmo em baixas doses (1 mg em adultos e 20 µg/kg peso em crianças), inibe a secreção de ACTH (18) e, conseqüentemente, do cortisol plasmático e salivar em indivíduos normais e pacientes com pseudo-Cushing, o mesmo não ocorre na síndrome de Cushing independentemente da etiologia. Portanto, os testes com baixas dose de dexametasona têm sido utilizados para confirmar a presença de hipercortisolismo endógeno. A base para os testes com altas doses de dexametasona (8 e 24 mg/dia, em adultos ou 80 e 240 µg/kg/dia, em crianças) reside no fato de que a doença de Cushing secundária a um adenoma hipofisário secretor de ACTH não é completamente, mas apenas parcialmente, resistente à retroalimentação negativa exercida pelos glicocorticóides (16). Este fato não ocorre na síndrome de Cushing secundária à secreção ectópica de ACTH, cuja regulação é autônoma, e nos tumores adrenais, onde as concentrações de ACTH já estão supressas.

Um terceiro mecanismo que influencia a função adrenocortical opera em resposta às situações de estresse com liberação de CRH, o principal secretagogo de ACTH. Em indivíduos normais, a resposta ao estresse sobrepõe-se aos mecanismos de retroalimentação e do ritmo circadiano, resultando em elevações transitórias dos valores plasmáticos de ACTH e de cortisol. Este fenômeno não ocorre no hipercortisolismo, sendo a base para o teste de tolerância à insulina (ITT) no diagnóstico diferencial de síndrome de Cushing e das causas de pseudo-Cushing, principalmente a depressão endógena. Entretanto, este teste apresenta baixa acurácia, não sendo utilizado na rotina atual de confirmação de hipercortisolismo. Outro teste de estímulo do eixo HHA é o teste de CRH que baseia-se no fato de utilizar uma dose exógena de CRH sintético com o intuito de estimular a secreção de ACTH pelos corticotrofos da hipófise anterior. Os adenomas corticotróficos retêm a capacidade de liberar ACTH e cortisol pós-CRH (18), enquanto que os tumores ectópicos produtores de ACTH e os tumores adrenais produtores de cortisol não respondem ao CRH, pois apresentam uma supressão dos corticotrofos pelo hipercortisolismo (4,19). O teste de CRH pode ser realizado com CRH ovino (oCRH) ou humano (hCRH). O oCRH apresenta uma resposta mais intensa e persistente, sendo portanto, de maior utilidade no diagnóstico diferencial da síndrome de Cushing. A segunda utilidade do teste

do oCRH é a sua realização durante o cateterismo do seio petroso inferior (IPSS) no diagnóstico diferencial da síndrome de Cushing dependente de ACTH. Na doença de Cushing, onde há uma fonte hipofisária com produção excessiva de ACTH ocorre um gradiente central periférico na concentração de ACTH (20,21). Adicionalmente, este teste permite a localização do lado onde se encontra o microadenoma hipofisário, auxiliando o cirurgião no momento do procedimento e aumentando a chance do sucesso da cirurgia transesfenoidal (20-22), mesmo em crianças (23).

O teste de estímulo com DDAVP (10µg EV em bolo), secretagogo do ACTH, constitui uma alternativa ao teste de estímulo com CRH no diagnóstico diferencial da síndrome de Cushing (4,24,25). Uma resposta positiva ao DDAVP (incremento de 35% e 20% sobre os níveis basais de ACTH e cortisol, respectivamente) evidencia doença de Cushing, sendo a resposta ao DDAVP mais consistente que a da AVP (26). Cabe salientar que em torno de 26% dos pacientes com doença de Cushing não respondem a este teste. Portanto, o valor diagnóstico do teste do DDAVP é mais limitado que o do oCRH, sendo este último, quando disponível, a melhor escolha. A associação do teste com DDAVP e CRH faz com que todos os pacientes respondam ao teste, devido ao efeito sinérgico das drogas, porém esta alta sensibilidade ocorre com uma baixa especificidade (27), diminuindo a utilidade do teste do DDAVP no diagnóstico diferencial da síndrome de Cushing.

Diagnóstico laboratorial da Síndrome de Cushing

A primeira etapa no diagnóstico da síndrome de Cushing consiste em afastar o uso exógeno de glicocorticóides e documentar o hipercortisolismo endógeno. Na síndrome de Cushing iatrogênica, a causa mais frequente de hipercortisolismo, geralmente observamos pacientes com sinais e sintomas de hipercortisolismo, porém com valores indetectáveis de cortisol e ACTH. Afastado o uso exógeno de glicocorticóides, a síndrome de Cushing pode ser dividida em causas independentes (causas adrenais primárias) e causas dependentes de ACTH (Doença de Cushing e Síndrome do ACTH ectópico). O diagnóstico do hipercortisolismo e a definição etiológica da síndrome de Cushing dependem de exames laboratoriais complementares e exames de imagem. Cabe salientar que não há consenso de qual a melhor forma de confirmar o diagnóstico clínico e de definir as causas da síndrome de Cushing (28). Entretanto a maioria dos protocolos de investigação utilizam, no mínimo, dois testes funcionais que enfocam diferentes aspectos da fisiopatologia do eixo HHA.

Diagnóstico de hipercortisolismo

As estratégias diagnósticas para confirmar a síndrome de Cushing e afastar as principais causas de pseudo-Cushing devem, inicialmente, confirmar o excesso de produção de cortisol e, mesmo com as inconveniências previamente descritas, a determinação do cortisol urinário livre, em duas ou três medidas repetidas e consecutivas, tem sido considerada como método padrão ouro para este fim, sobretudo quando os valores de UFC excederem quatro vezes o limite superior do método (4,29). A avaliação da perda da variação diurna do cortisol do plasma (30) ou da saliva (31), com coletas às 2300h, podem auxiliar na confirmação do hipercortisolismo, assim como o teste com baixas doses (1mg/*overnight* ou 0,5mg de 6/6h por 2dias) de dexametasona (16).

Recentemente, demonstramos que os níveis de cortisol salivar coletados às 2300h e os de uma amostra de saliva coletada às 0900hs da manhã seguinte, após a ingestão de dexametasona (1mg no adulto e 20µg/kg peso em crianças às 2300h) são tão acurados (100% sensibilidade com 91,4% de especificidade) quanto os testes convencionais para a confirmação do hipercortisolismo endógeno (9), além de serem mais práticos, pois evitam a necessidade de internação dos pacientes. A tabela 1 apresenta os principais testes utilizados na confirmação laboratorial do hipercortisolismo, seus critérios de resposta e suas acurácias diagnósticas avaliadas pela sensibilidade e especificidade diagnóstica de cada teste.

O diagnóstico diferencial da síndrome de Cushing dos casos de pseudo-Cushing pode trazer dificul-

dades, principalmente, na situação de hipercortisolismo clínico discreto quando os testes laboratoriais forem duvidosos. Nesta situação, o teste com baixas doses de dexametasona combinado com o do oCRH pode ser utilizado (32). Cabe salientar que se as dúvidas diagnósticas persistirem sugere-se a reavaliação do paciente após um a três meses.

Diagnóstico etiológico da Síndrome de Cushing

Frente a um quadro clínico sugestivo de síndrome de Cushing e após a confirmação laboratorial do hipercortisolismo endógeno, os níveis plasmáticos basais de ACTH devem ser determinados para diferenciar as causas ACTH-dependentes das ACTH-independentes. Níveis indetectáveis de ACTH plasmático (<10 pg/ml) confirmam a síndrome de Cushing decorrente de um tumor adrenal produtor de cortisol. Níveis de ACTH situados na faixa inferior da normalidade (entre 10 e 20 pg/ml) devem ser repetidos. Estes valores, além da confirmação de tumor adrenal, podem também sugerir outras causas adrenais de síndrome de Cushing, como hiperplasia macronodular ou micronodular das adrenais e, mais raramente adenoma hipofisário secretor de ACTH. Por outro lado, se a secreção de cortisol é dependente da secreção de ACTH, como na doença de Cushing ou na síndrome do ACTH ectópico ou na hiperplasia adrenal macronodular, as concentrações de ACTH estarão inapropriadamente elevadas. Cabe salientar que, enquanto nos adenomas corticotróficos os níveis de ACTH estão no limite superior da normalidade ou estão moderadamente elevados (27-

Tabela 1. Testes mais utilizados na investigação diagnóstica de hipercortisolismo

Teste	Crítérios	Sensibilidade	Especificidade
- UFC (3 amostras) (10-45 µg/24h)	3-4 x valor basal	95%	93-98%
- Cortisol Plasmático 23h	<1,8 µg/dl: exclui >7,5 µg/dl: possível	93-100%	88-100%
- Cortisol Salivar 23h	<232 ng/dl	93-100%	92-100%
- Cortisol Plasmático após 1 mg de dexametasona	<2 µg/dl	91-97%	87-94%
- Cortisol Salivar após 1 mg de dexametasona	<280 ng/dl	91%	94%
- Cortisol Salivar 23h + após 1 mg de Dexa		100%	94-100%
- Cortisol Plasmático após 2mg de Dexa/2 dias	<5 µg/dl	91-100%	90-100%
- UFC após 2 mg de Dexa/2 dias	< 10 µg/dl	97-100%	90-100%
- Cortisol Plasmático após 2 mg Dexa/1d + oCRH	< 1,4 µg/dl	100%	100%

210 pg/ml), na síndrome por secreção ectópica de ACTH estes níveis são, geralmente, mais elevados (>300 pg/ml). Entretanto, nas situações onde os tumor ectópico é oculto, por exemplo nos tumores carcinóides, ocorre sobreposição dos valores de ACTH com os encontrados na doença hipofisária.

Os testes com doses altas (8mg/d) e muito altas (16 ou 24 mg/dia) de dexametaxona, administradas durante 2 dias foram muito utilizados no diagnóstico diferencial das causas de síndrome de Cushing (8,9), quando ainda não havia ensaios sensíveis e confiáveis para a dosagem de ACTH, cortisol plasmático e salivar, bem como antes do CRH sintético se tornar disponível para teste em humanos. Portanto, atualmente, os testes com altas doses de dexametasona devem ser utilizados como uma das opções para o diagnóstico diferencial das causas de síndrome de Cushing quando o ACTH plasmático for detectável. Este teste tem como princípio o fato de que os adenomas hipofisários produtores de ACTH (doença de Cushing) continuam mantendo a retroalimentação negativa aos glicocorticóides, porém com a curva dose-resposta deslocada para direita, ou seja, podem suprimir a produção de ACTH somente frente a altas doses de dexametasona. Este fenômeno, entretanto, não ocorre em todos os pacientes com doença de Cushing, poden-

do ocorrer até 12% de falsos negativos. Por outro lado, enquanto a supressão de 50% dos valores de cortisol plasmático não ocorre nos tumores adrenais (ACTH-independentes), o nível de 50% de supressão dos valores de cortisol plasmático pode ocorrer em cerca de 20% de pacientes com produção ectópica de ACTH e em até um terço das hiperplasias macronodulares, também uma causa de síndrome de Cushing dependente de ACTH (33). Algumas controvérsias quanto a este teste são devidas aos diferentes critérios de supressão utilizados. Um nível de supressão de 90% é encontrado em mais de 70% dos pacientes com doença de Cushing quando se utiliza a dosagem de UFC e uma supressão de mais de 64% quando se utiliza a dosagem de 17-OHCS (4). Recentemente, demonstramos que na doença de Cushing há necessidade de uma supressão maior que 65% em relação ao basal quando se utiliza o cortisol salivar (34). Cabe salientar que quando se utilizam as formas livres do cortisol (UFC ou saliva) como indicadores do teste, o grau de supressão deve ser maior que quando se utiliza o cortisol plasmático (34,35). O teste com altas doses de dexametasona pode ser realizado em dose única noturna, apresentando a mesma sensibilidade e especificidade diagnóstica, porém sem o inconveniente de longas interações para o paciente (4,36,37).

Tabela 2: Testes funcionais mais utilizados no diagnóstico das etiologias do hipercortisolismo.

Teste	Crítérios	Sensibilidade	Especificidade
ACTH Plasmático (2 amostras) (VN: 10-50 pg/ml)	< 10 pg/ml : ACTH independente	100%	100%
	10 - 20 pg/ml: repetir dosagem > 20 pg/ml: ACTH dependente	91%	91%
Supressão com Dexa Standard: 8 mg/2 dias 24 mg/1 dia	UFC: supressão >69%	86-90%	70-100%
	17OHCS >64%	79-83%	72-100%
	Cortisol plasmático: supressão >50%	65-100%	60-100%
	Cortisol salivar: supressão >65%	90%	100%
<i>Overnight</i> : 8 mg	Cortisol plasmático: supressão >50%	57-92%	57-100%
	Cortisol salivar: supressão >65%	90%	100%
Estímulo com oCRH (1 µg/kg EV)	Pico ACTH >35%	86-93%	95-100%
	Pico cortisol plasmático >20%	91-95%	88-91%
Estímulo com dDAVP	Pico ACTH >35%	77%	73%
	Pico cortisol plasmático >20%	84%	83%
IPSS + teste oCRH	Gradiente estimulado com CRH		
	central:periférico >3 latero-lateral hipofisário >1,4	96-100% 90-100%	100%

Finalmente, o teste de oCRH (1µg/kg peso corporal) tem sido extensivamente utilizado no diagnóstico diferencial da síndrome de Cushing, tanto como teste periférico como durante o cateterismo de seio petroso inferior (21,22). Em relação à síndrome de Cushing, os adenomas corticotróficos liberam ACTH e cortisol pós-CRH, com um incremento, em relação ao basal, de 35% e 20% do ACTH e do cortisol, respectivamente (38). Os tumores ectópicos produtores de ACTH e os tumores adrenais produtores de cortisol não respondem ao oCRH, pois apresentam uma supressão dos corticotrofos (4,19). Entretanto, a discriminação completa entre secreção de ACTH pelo adenoma hipofisário e a secreção ectópica de ACTH nem sempre é completamente obtida usando este teste. Embora a maioria dos pacientes com doença de Cushing responda a este teste e, às vezes, com uma resposta exagerada comparada aos indivíduos normais, cerca de 8% destes podem não responder, assim como existem em torno de 20% de pacientes com síndrome de secreção ectópica de ACTH que, também, podem apresentar resposta ao oCRH. O cateterismo bilateral do seio petroso inferior é hoje aceito como peça no protocolo de investigação das causas de síndrome de Cushing dependentes de ACTH, tanto em adultos (21) com em crianças (23), mas seu uso está somente disponível em um pequeno número serviços no Brasil. A associação do cateterismo de seio petroso inferior ao teste do oCRH aumenta a sensibilidade diagnóstica pois, na presença de gradiente central periférico (>3), após 2 ou 5 minutos da injeção de oCRH, o diagnóstico é compatível com doença de Cushing. A presença de um gradiente látero-lateral direito ou esquerdo (>1,4) pode auxiliar na localização do microadenoma hipofisário, em até 75% dos casos. É importante salientar que, mesmo com os mais modernos métodos de imagem, microadenomas hipofisários podem não ser detectados em até 30% dos casos. A incidência de complicações sérias, como acidentes cerebrovasculares, é em torno de 0,2% em mãos experientes, mesmo quando se usa anticoagulantes, enquanto complicações leves como hematomas, arritmias transitórias, perfuração de parede atrial direita podem ocorrer em até 20% dos casos. A tabela 2 apresenta os principais testes utilizados no diagnóstico diferencial da síndrome de Cushing, seus critérios de resposta e sua acurácia diagnóstica avaliadas pela sensibilidade e especificidade diagnóstica de cada teste.

Concluindo, o diagnóstico clínico da síndrome de Cushing necessita de comprovação laboratorial e

em situações onde os pacientes apresentam quadro clínico inicial, discreto ou cíclico de síndrome de Cushing associado ao fato de que todos os testes laboratoriais apresentam falso-negativos e falso-positivos, muitas vezes torna-se essencial a associação e, às vezes, a repetição dos testes, tanto para confirmar o hipercortisolismo endógeno quanto para o diagnóstico diferencial da síndrome de Cushing. A figura 1 representa o esquema com a abordagem laboratorial utilizada na Divisão de Endocrinologia e Metabologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP para confirmar a existência de síndrome de Cushing e determinar sua causa.

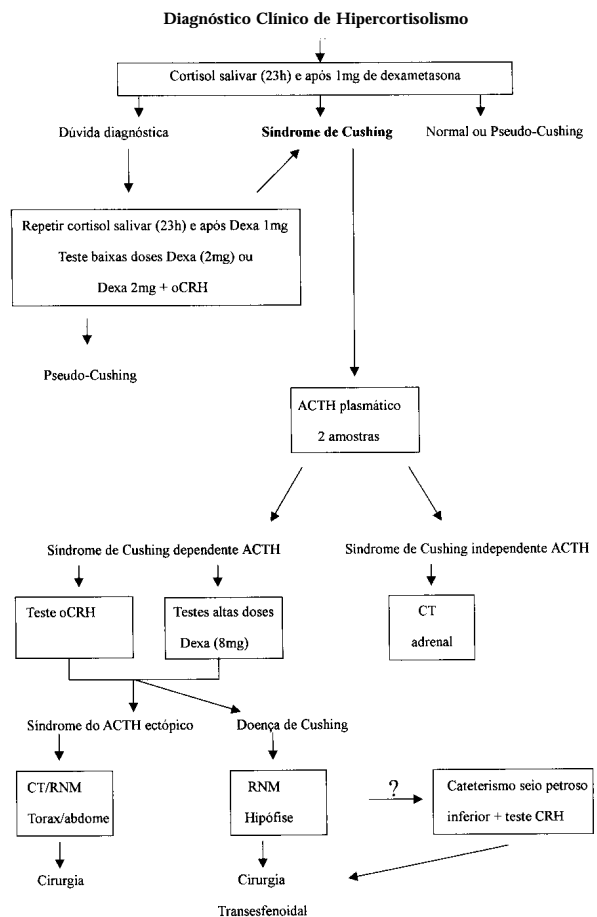


Figura 1. Esquema para avaliação laboratorial da síndrome de Cushing utilizado na Divisão de Endocrinologia e Metabologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP

REFERÊNCIAS

1. Zimmerman W. Eine Farbreaktion der Sexualhormone und ihre Anwendung zur quantitativen colorimetrischen Bestimmung. *Hope Seylers Z Physiol Chem* 1935;233:257-64.
2. Porter CC, Silber RH. A quantitative color reaction for cortisone and related 17,21-dihydroxy-20-ketosteroids. *J Biol Chem* 1958;185:201-7.
3. Murphy BEP. Clinical evaluation of urinary cortisol determinations by competitive protein-binding radioassay. *J Clin Endocrinol Metab* 1968;28:343-8.
4. Newell-Price J, Trainer P, Besser M, Grossman A. The diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome and pseudo-Cushing's states. *Endocrine Rev* 1998;19:647-72.
5. Walker RF, Riad-Fahmy D, Read GF. Adrenal status assessed by direct radioimmunoassay of cortisol in whole saliva or parotid saliva. *Clin Chem* 1978;24:1460-3.
6. Umeda T, Hiramatsu R, Iwaoka T, Shimada T, Miura F, Sato T. Use of saliva for monitoring unbound free cortisol levels in serum. *Clin Chim Acta* 1981;110:245-53.
7. Luthold WW, Marcondes JAM, Wajchenberg BL. Salivary cortisol for the evaluation of Cushing's syndrome. *Clin Chim Acta* 1985;151:33-9.
8. Raff H. Salivary cortisol: a useful measurement in the diagnosis of Cushing's syndrome and the evaluation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *The Endocrinologist* 2000;10:9-17.
9. Castro M, Elias PCL, Quidute AR, Halah FPB, Moreira AC. Outpatient screening for Cushing's syndrome: the sensitivity of the combination of circadian rhythm and overnight dexamethasone suppression salivary cortisol tests. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:878-82.
10. Martinelli CE, Sader SL, Oliveira EB, Daneluzzi JC, Moreira AC. Salivary cortisol for screening of Cushing's syndrome in children. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999;51:67-70.
11. Moreira AC, Barizon EA, Silva JR. Montagem e padronização do radioimunoensaio do ACTH plasmático. *Arq Bras Endocr Metab* 1987;2:19-22.
12. Raff H, Findling JW. A new immunoradiometric assay for corticotropin evaluated in normal subjects and patients with Cushing's syndrome. *Clin Chem* 1989;35:596-600.
13. Hodgkinson SC, Allolio B, Landon J. Development of a non-extracted "two site" immunoradiometric assay for corticotropin utilizing extreme amino- and carboxy-terminally directed antibodies. *Biochem J* 1984;218:703-11.
14. Moreira AC. Sulfato de deidroepiandrosterona plasmático no diagnóstico etiológico da síndrome de Cushing. Correlação com o ACTH plasmático. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 1987;31:53-6.
15. Liddle GW, Estep HL, Kendall JW Jr. Clinical application of a new test of pituitary reserve. *J Clin Endocrinol Metab* 1959;19:875-94.
16. Liddle GW. Tests of pituitary-adrenal suppressibility in the diagnosis of Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1960;20:1539-60.
17. Crapo L. Cushing's syndrome: a review of diagnostic tests. *Metabolism* 1979;28:955-77.
18. Loose DS, Do YS, Chen TL. Demonstration of glucocorticoid receptors in the adrenal cortex: evidence for a direct dexamethasone suppressive effect on the rat adrenal gland. *Endocrinology* 1980;107:137-46.
19. Orth DN, DeBold CR, DeCherney GS. Pituitary microadenomas causing Cushing's disease respond to corticotropin-releasing factors. *J Clin Endocrinol Metab* 1982;55:1117-9.
20. Manni A, Latshaw RF, Page R. Simultaneous bilateral venous sampling for adrenocorticotropin in pituitary-dependent Cushing's disease: evidence for lateralization of pituitary venous drainage. *J Clin Endocrinol Metab* 1983;57:1070-3.
21. Oldfield EH, Doppman JL, Nieman LK, Chrousos GP, Miller DL, Katz DA, et al. Petrosal sinus sampling with and without corticotropin-releasing hormone for the differential diagnosis of Cushing's syndrome. *N Engl J Med* 1991;325:897-905.
22. Oldfield EH, Chrousos GP, Schulte HM. Pre-operative lateralization of ACTH secreting pituitary microadenoma by simultaneous inferior petrosal sinus sampling. *N Engl J Med* 1985;312:100-3.
23. Lienhardt A, Grossman AB, Dacie JE, Evanson J, Huebner A, Afshar F, et al. Relative contributions of inferior petrosal sinus sampling and pituitary imaging in the investigation of children and adolescents with ACTH-dependent Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5711-4.
24. Tabarin A, San Galli F, Dezous S. The corticotropin-releasing factor test in the differential diagnosis of Cushing's syndrome: a comparison with the lysine-vasopressin test. *Acta Endocrinol* 1990;123:331-8.
25. Webb-Peploe MM, Spathis GS, Reed PI. Cushing's syndrome: use of lysine vasopressin to distinguish overproduction of corticotriphin by pituitary from others causes of adrenal cortical hyperfunction. *Lancet* 1967;1:195-7.
26. Malerbi DA, Mendonça BB, Liberman B. The desmopressin stimulation test in the diagnosis of Cushing's syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1993;38:463-72.
27. Dickstein G, DeBold CR, Gaitan D. Plasma corticotropin and cortisol responses to ovine corticotropin-releasing hormone (CRH), arginine vasopressin (AVP) and CRH plus metyrapone in patients with Cushing disease. *Clin Endocrinol* 1996;81:2934-41.
28. Orth DN. The adrenal. In: Wilson JD, editor. *Williams Textbook of Endocrinology*. 9th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1998:574-583.
29. Orth DN. Differential diagnosis of Cushing's syndrome. *N Engl J Med* 1995;325:957-9.
30. Newell-Price J, Trainer P, Perry L, Wass J, Grossman A, Besser M. A single sleeping midnight cortisol has 100% sensitivity for the diagnosis of Cushing's syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1995;43:545-50.
31. Raff H, Raff JL, Findling JW. Late-night salivary cortisol as a screening test for Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2681-6.
32. Yanovsky JA, Cutler GB, Chrousos GP, Niewman LK. Corticotropin-releasing hormone stimulation test following a low dose dexamethasone administration. A new test to distinguish Cushing's syndrome from pseudo-Cushing's states. *JAMA* 1993;269:2232-8.

-
33. Aron DC, Findling JW, Fitzgerald PA. Pituitary ACTH dependency of nodular adrenal hyperplasia in Cushing's syndrome: report of two cases and review of the literature. **Am J Med** 1981;71:302-6.
34. Castro M, Elias LLK, Elias PCL, Moreira AC. Greater suppression of salivary cortisol than plasma cortisol and ACTH after dexamethasone suppression test in Cushing's disease: a dose response study. **J Clin Endocrinol Metab** 2002 (in press).
35. Flack MR, Oldfield EH, Cutler Jr GB. Urine free cortisol in the high-dose dexamethasone suppression test for the differential diagnosis of the Cushing's syndrome. **Ann Intern Med** 1992;116:211-7.
36. Bruno OD, Rossi MA, Contreras LN. Nocturnal high-dose dexamethasone suppression test in the aetiological diagnosis of Cushing's syndrome. **Acta Endocrinol (Copenh)** 1985;109:158-62.
37. Tyrrell JB, Findling JW, Aron DC, Fitzgerald PA, Forsham PH. An overnight high-dose dexamethasone suppression test for rapid diagnosis of Cushing's syndrome. **Ann Intern Med** 1986;104:180-6.
38. Nieman LK, Oldfield EH, Wesley R, Chrousos GP, Loriaux DL, Cutler GB Jr. A simplified morning ovine corticotropin-releasing hormone stimulation test for the differential diagnosis of adrenocorticotropin-dependent Cushing's syndrome. **J Clin Endocrinol Metab** 1993;77:1308-12.

Endereço para correspondência:

Ayrton C. Moreira
Departamento de Clínica Médica
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP
14049-900 Ribeirão Preto, SP
Fone: (016) 602-3001
Fax: (016) 633-0086
email: acmoreir@fmrp.usp.br / castrom@fmrp.usp.br