

Estados de Pseudo-Cushing

RESUMO

Síndromes de pseudo-Cushing são um grupo heterogêneo de doenças, incluindo alcoolismo, anorexia nervosa, obesidade visceral e depressão, que compartilham muitas das características clínicas e bioquímicas da síndrome de Cushing. Os mecanismos responsáveis para a gênese da síndrome de pseudo-Cushing são fracamente compreendidos. Tem sido sugerido que o hipercortisolismo da síndrome de pseudo-Cushing pode ser resultante do aumento da secreção do hormônio liberador de corticotrofina (CRH) hipotalâmico no contexto de um eixo hipotálamo-hipofisário-adrenal que, de outra maneira, está normalmente constituído. A sobreposição substancial entre as características clínicas e laboratoriais entre muitos pacientes com síndrome de Cushing e aqueles com síndrome de pseudo-Cushing pode tornar o diagnóstico diferencial difícil. Distinguir entre síndrome de pseudo-Cushing e síndrome de Cushing verdadeira é crítico para se prevenir o tratamento desnecessário e potencialmente prejudicial de tais pacientes. Esta breve revisão sumariza os principais eventos patofisiológicos das síndromes de pseudo-Cushing e fornece uma estratégia útil para o seu diagnóstico diferencial. (**Arq Bras Endocrinol Metab 2007;51/8:1303-1313**)

Descritores: Síndrome de Cushing; Pseudo-Cushing; Hipercortisolismo; ACTH

ABSTRACT

Pseudo-Cushing States.

Pseudo-Cushing syndromes are a heterogeneous group of disorders, including alcoholism, anorexia nervosa, visceral obesity, and depression, which share many of the clinical and biochemical features of Cushing's syndrome. The mechanisms responsible for the genesis of pseudo-Cushing's syndrome are poorly understood. It has been suggested that hypercortisolism of pseudo-Cushing syndrome may be the result of increased hypothalamic corticotrophin-releasing hormone (CRH) secretion in the context of a hypothalamic-pituitary-adrenal axis that is otherwise normally constituted. The substantial overlap in clinical and biochemical features among several patients with Cushing syndrome and those with pseudo-Cushing syndromes can make the differential diagnosis difficult. Distinguishing between pseudo-Cushing's syndrome and true Cushing's syndrome is critical for preventing the unnecessary and potentially harmful treatment of such patients. This brief review summarizes the main pathophysiological events of pseudo-Cushing syndromes and provides a useful strategy for differential diagnosis. (**Arq Bras Endocrinol Metab 2007;51/8:1303-1313**)

Keywords: Cushing syndrome; Pseudo-Cushing; Hypercortisolism; ACTH

revisão

DANIELLA J.P.C. ROMANHOLI
LUIZ ROBERTO SALGADO

Unidade de
Neuroendocrinologia da
Disciplina de Endocrinologia
do Hospital das Clínicas,
Universidade de São Paulo -
HCFMUSP, São Paulo, SP.

Recebido em 09/08/07

Aceito em 14/08/07

DEFINIÇÃO

ESTADOS DE PSEUDO-CUSHING (PC) podem ser definidos pela presença de um fenótipo clínico similar ao da Síndrome de Cushing (SC) verdadeira associada a alguma evidência de hipercortisolismo (1).

ETIOLOGIA

Diversas situações podem induzir ao estado de pseudo-Cushing, sendo a depressão maior e o alcoolismo crônico as mais reconhecidas. Outras causas de hipercortisolismo laboratorial são infecção bacteriana grave, obesidade principalmente visceral, síndrome dos ovários policísticos, diabetes mellitus mal controlado, síndrome de abstinência alcoólica, síndrome de resistência ao glicocorticóide generalizada, anorexia nervosa e outras doenças psiquiátricas tais como síndrome do pânico, ansiedade crônica e psicoses (1-7).

FISIOPATOLOGIA

O hipercortisolismo no estado de PC não apresenta uma causa bem definida. Acredita-se que seja principalmente secundário ao aumento de secreção de CRH (*corticotroph hormone release*) (4). Algumas teorias são descritas a seguir de acordo com as principais etiologias.

Obesidade

Diversas evidências na literatura demonstram que o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) apresenta-se hiper-responsivo em indivíduos obesos, principalmente naqueles com distribuição central de gordura (8,9).

Na obesidade, é descrito um aumento do *clearance* metabólico do cortisol que levaria a um maior estímulo do eixo HHA (10). Acredita-se que a diminuição da globulina ligadora de corticosteróide (CBG) e a alta densidade de receptores de glicocorticóides (GC) periféricos são os principais responsáveis pelo aumento do *clearance* metabólico do cortisol presente nos obesos (11).

Os adipócitos viscerais possuem maior densidade de receptores de GC; dessa maneira, quanto maior a quantidade de gordura visceral maior o *clearance* metabólico de cortisol e, portanto, maior é o estímulo do eixo HHA (12,13).

O aumento do *clearance* metabólico geralmente é compensado pelo aumento na produção de cor-

tisol, o que geralmente torna ausente o hipercortisolismo bioquímico (G-6), mas o hipercortisolismo funcional na obesidade pode contribuir para a síndrome metabólica com características muito semelhantes à SC (14).

Estudos recentes têm demonstrado uma desregulação da atividade da enzima 11 β -hidroxiesteróide-desidrogenase do tipo 1 caracterizada por um aumento dessa atividade no tecido adiposo visceral de ratos Zuker obesos e em humanos (15,16) e uma diminuição no fígado. Essa enzima catalisa a conversão de cortisona em cortisol acarretando uma maior síntese de GC local, o que está associado à hiperfagia, obesidade visceral e síndrome metabólica (15-19).

Os GC têm sido descritos como promotores da diferenciação e proliferação dos adipócitos em humanos (20).

Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP)

A anovulação fisiológica da adolescência pode estar mascarada pela SOP, que sabe-se em cerca de 70% dos casos é poligênica. Quadros de obesidade severa e resistência insulínica considerados estados de PC são fatores de risco para desenvolvimento de SOP (3). Os casos de obesidade severa e de difícil tratamento são exemplos de PC na adolescência e considerados preditores de SOP.

Alcoolismo

Vários fatores influenciam o desenvolvimento do estado de PC no alcoolismo. A duração do alcoolismo e o período de abstinência podem alterar a atividade do eixo HHA. A parada abrupta na ingestão de álcool estimula o eixo HHA (talvez secundário ao estresse) e este efeito tende a diminuir com o progredir do período de abstinência (21-23). Estudos mostram que muitas vezes é necessário um período em torno de 2 a 4 meses de abstinência para que o eixo HHA volte ao estado normal (24-26). Alguns autores postulam que o estado de PC no alcoolismo representaria um hipercortisolismo induzido pelo estresse repetido aos múltiplos episódios de abstinência subaguda do álcool (27).

É válido ressaltar, ainda, que a depressão presente em 25 a 50% dos etilistas crônicos (24) e a desnutrição (28) também estimulam o eixo HHA.

Alguns trabalhos têm demonstrado uma maior ativação do eixo HHA após a ingestão aguda de álcool (0,8-1,75 g/kg) em indivíduos saudáveis (29,30), entretanto outros trabalhos não confirmaram esses achados (31). Esses dados são difíceis de serem comparados, já que diferem em duração da observa-

ção (2–48 h) e nas condições basais de avaliação (jejum ou ausência de jejum).

Cobb e cols. demonstraram um aumento de esteroidogênese após adicionar etanol (0,25–3,0 g/L) em tecidos adrenais de ratos na ausência de ACTH (*adrenocorticotrophin*). Este efeito não era observado quando o ACTH era adicionado ao meio, concluindo que haveria um provável efeito direto do álcool sobre as adrenais estimulando a esteroidogênese (32). Em trabalho de Elias e cols. (33) utilizando o mesmo método em adrenais humanas não se observou os mesmos resultados.

Além da hipótese adrenal, diversos autores têm sugerido uma redução parcial na resposta hipofisária tanto à estimulação pelo CRH quanto à depressão pelos GC causada por uma alteração na tradução do sinal mediada pelo álcool associada ao *down regulation* de receptores de CRH na hipófise (34,35). Essa hipótese explicaria o aumento dos níveis de CRH liquorico em etilistas com ausência de hipercortisolismo laboratorial (35).

Um trabalho bastante interessante analisou as características histológicas da hipófise e da adrenal de ratos Wistar submetidos à ingestão alcoólica por três meses. Nesse estudo, foi encontrado um aumento na concentração de grânulos secretórios de ACTH e um espessamento da zona fasciculada e reticular nas adrenais desses ratos, demonstrando uma maior ativação do eixo HHA (36).

Frente ao fato do metabolismo do cortisol ser predominantemente hepático, diversos autores postularam que a disfunção hepática seria a principal responsável pelo hipercortisolismo induzido pelo alcoolismo crônico (teoria hepática).

Bruna e cols. demonstraram uma correlação positiva entre os níveis de cortisol sérico e o declínio da função hepática em 31 etilistas (cirróticos e não cirróticos) (37). Entretanto, Mac Donald e cols. (38) encontraram uma correlação inversa entre o *score* Child-Pugh e os níveis de cortisol basal e após a administração de ACTH ou insulina em 38 cirróticos não associados ao etilismo. A comparação entre os estudos é difícil pela heterogeneidade entre os grupos, mas parece bem estabelecido que apenas distúrbios graves de função hepática podem interferir no metabolismo do cortisol ou na produção da CBG, ambos levando ao aumento dos níveis de cortisol livre (39,40).

O fato de apenas alguns etilistas desenvolverem o estado de PC, seja clínico e/ou bioquímico, demonstra que a predisposição genética ou a sensibilidade tanto ao álcool quanto ao cortisol também influenciam na etiopatologia dessa doença (21).

DEPRESSÃO MAIOR

A literatura psiquiátrica sugere que cerca de 80% dos pacientes portadores de depressão maior apresentam hipercortisolismo (41).

Evidências demonstram uma hiperatividade do eixo HHA em indivíduos deprimidos (42) e retorno ao estado normal após remissão da depressão (43). Estudos *post-mortem* revelaram um aumento do número de células do núcleo para-ventricular expressando CRH ou co-expressando CRH e AVP (arginina vasopressina) (44,45) em pacientes deprimidos.

Acredita-se que a hiperatividade do eixo estaria associada tanto ao aumento da liberação de AVP quanto à maior sensibilidade do eixo HHA à AVP (46,47).

A resposta da ACTH ao teste do CRH está diminuída na depressão endógena e alguns trabalhos demonstram inclusive *down regulation* dos receptores CRHR-1, refletindo o aumento nos níveis de CRH (48).

Anorexia nervosa

Anorexia nervosa representa um modelo de hipercortisolismo funcional associado à hiper-atividade do eixo HHA assim como a maioria das causas do estado de PC. Estudos funcionais demonstram que pacientes com anorexia apresentam uma diminuição da afinidade da CBG pelo cortisol, aumentando assim os níveis de cortisol livre (49).

Semelhante ao que ocorre nas demais causas de PC, na anorexia nervosa é descrita uma menor resposta do ACTH ao teste do CRH e perda da retro-regulação do eixo HHA pelo hipercortisolismo (50,51). Alguns autores sugerem que o aumento nos níveis de cortisol sérico estaria relacionado a uma diminuição no seu metabolismo (52).

Em trabalho recente, demonstrou-se uma redução em 138% da resposta do cortisol à AVP exógena, sugerindo uma menor sensibilidade hipofisária a esse peptídeo (o contrário do que ocorre em indivíduos deprimidos). O ganho de peso produziu um incremento dessa resposta em 55% (53).

Os níveis de AVP endógena estão elevados nos indivíduos com anorexia nervosa (54) e a saturação dos receptores AVP V1b-R ou *down regulation* dos mesmos levaria à diminuição da resposta do cortisol à AVP exógena. Portanto, diferente do que ocorre na depressão, a hiper-atividade do eixo HHA parece ser mediada apenas pelo CRH (55).

Apesar de alguns autores sugerirem que o hipercortisolismo correlaciona-se inversamente com o IMC (índice de massa corpórea) e desnutrição, outros acre-

ditam que o balanço energético negativo é mais importante quando comparado ao IMC absoluto (56,57).

Kudielka e cols. demonstraram que a reposição de estrógeno pode reduzir essa hiperatividade do eixo HHA através da melhora na eficácia do *feedback* inibitório exercido pelos GC. Efeitos semelhantes seriam obtidos durante a realimentação desses pacientes graças ao aumento da leptina, que sabidamente eleva os níveis de estrógenos (58).

A contribuição do CRH na hiperatividade do eixo HHA está associada à persistente perda de peso característica dos pacientes com anorexia nervosa, pois sabe-se que o CRH causa profunda inibição do apetite e diminuição do esvaziamento gástrico (59,60).

Síndrome de resistência generalizada ao glicocorticóide

Uma mutação no domínio de ligação no receptor dos GC causa uma diminuição no *feedback* inibitório nos níveis de ACTH, causando elevação nos níveis de cortisol sérico.

Os efeitos clássicos de hipercortisolismo (miopatia proximal, osteoporose, fragilidade vascular) geralmente estão ausentes. Os níveis de cortisol sérico e urinário estão elevados e não há supressão dos níveis séricos de cortisol sob dexametasona 1 mg *overnight*. Entretanto, o quadro clínico de hiperandrogenismo pode estar presente, levando ao aparecimento de acne, hirsutismo e irregularidade menstrual e hipertensão arterial sistêmica associada ou não à hipocalcemia pela ação mineralocorticóide ou saturação da 11 β -hidroxiesteróide-desidrogenase pelos níveis elevados de cortisol (61). Essas duas manifestações podem trazer alguma dificuldade diagnóstica, pois também estão presentes na SC clássica. História familiar positiva, além da manutenção do ritmo circadiano, muitas vezes em nível mais elevado de cortisol sérico, pode auxiliar na diferenciação entre essas duas entidades (1,62,63).

DIAGNÓSTICO

Clínico

O diagnóstico clínico do estado de PC implica na diferenciação com a SC propriamente dita. Muitas vezes, é necessário um período de observação prolongado dos pacientes portadores de queixas sugestivas, já que no PC não ocorre evolução do quadro clínico. Além disso, a identificação das possíveis causas do PC e a melhora do quadro clínico após a resolução dessas causas possibilita esse diagnóstico diferencial.

É válido ressaltar que diversas patologias estão associadas ao hipercortisolismo laboratorial, porém o estado de PC é definido apenas quando esse hipercortisolismo é acompanhado do fenótipo de SC (exceto na anorexia nervosa e depressão).

Laboratorial

Os resultados dos testes laboratoriais apresentam um *overlap* importante entre os indivíduos portadores de PC e SC e ainda costumam apresentar resultados diferentes de acordo com a etiologia dessa doença.

Cortisol sérico à meia-noite

É uma maneira de se avaliar o ritmo circadiano de cortisol que é caracterizado por picos entre 6–8 h e nadir entre 23–24 h.

Estudos prévios demonstram que pacientes obesos mantém o ritmo circadiano do cortisol apesar de níveis mais elevados em relação à população normal (64). Esse fenômeno também é observado em outras causas de PC (65).

Em estudo realizado por Papanicolaou e cols., foram avaliados 240 pacientes com SC (198 portadores de doença de Cushing, 27 com síndrome de ACTH ectópico e 15 com Cushing de origem adrenal) e 23 portadores de PC de diversas etiologias (depressão, anorexia, alcoolismo, diabetes mellitus mal controlado). Considerando como perda do ritmo circadiano de cortisol, níveis de cortisol sérico à meia-noite > 7,5 $\mu\text{g}/\text{dL}$, esse teste apresentou 100% de especificidade e 96% de sensibilidade (4).

Em um estudo prévio, Newell-Price e cols. analisaram 150 portadores de SC e concluíram que um cortisol sérico à meia noite (no sono) acima de 1,8–2,0 $\mu\text{g}/24\text{h}$ distinguia esses pacientes de controles normais (66).

Quando Papanicolaou utilizou a linha de corte de 2,0 $\mu\text{g}/\text{dL}$ anteriormente reportada por Newell-Price, observou-se uma sensibilidade de 99% em detrimento de uma especificidade de apenas 26%, confirmando o dado de que grande parte dos portadores de PC apresentam ritmo circadiano de secreção de cortisol em vigência de hipercortisolemia (67).

Cortisol salivar (F sal)

Medidas do cortisol na saliva apresentam diversas vantagens, dentre elas: representa o cortisol livre (biologicamente ativo), é estável à temperatura ambiente, não requer a internação do paciente e é simples de ser coletada (68,69).

Em estudo recente, foram avaliadas 290 mulheres (63 normais, 47 com anorexia nervosa sem tratamento

farmacológico, 30 com anorexia nervosa em tratamento farmacológico e 150 com obesidade central definida por circunferência abdominal/ circunferência do quadril > 0,85). No protocolo do estudo foram realizadas medidas do cortisol sérico e salivar às 8 h, 17 h e 24 h, 3 medidas de medidas de cortisol na urina de 24 h e cortisol sérico e salivar após 1 mg de dexametasona *overnight* (somente as anoréticas). Os resultados revelaram que as portadoras de anorexia nervosa sem tratamento apresentavam níveis de cortisol elevados em todas as medidas durante as 24 h, 14% suprimiam o cortisol sérico após 1 mg de dexametasona, 19% suprimiam o cortisol salivar, e que a relação do F sal às 8h/24h era diminuída. Essas alterações eram menos pronunciadas naquelas que recebiam tratamento (53% suprimiam em cortisol sérico e 35% em cortisol salivar). Nas pacientes obesas não houve correlação entre os níveis de cortisol sérico e salivar, e o IMC e os pacientes apresentava uma menor relação entre F sal 8h/24h (79).

Cortisol urinário de 24 h (Fu 24 h)

A dosagem de cortisol urinário livre é considerada como um dos testes de *screening* de escolha para o diagnóstico de hipercortisolismo (71-73), embora se observe superposição importante de valores entre os indivíduos com SC e PC (74). No entanto, valores de Fu acima de 300 µg/24h geralmente estão presentes apenas na SC.

Vários métodos estão disponíveis para a medida do cortisol urinário de 24 h, dentre eles: radio imunossaios e a cromatografia líquida de alta performance (HPLC).

Devido à maior especificidade do método HPLC, este vem se tornando o método de escolha para a dosagem de cortisol urinário (72), salientando-se a possibilidade de fatores interferentes. Foram descritos alguns casos de pseudo-hipercortisolúria em pacientes que utilizavam fenofibrato e carbamazepina com a utilização desse método (71,73).

Num estudo realizado por Duellós e cols., que avaliou 19 mulheres portadoras de anorexia nervosa, apenas 3 apresentavam níveis elevados de Fu 24 h (75).

Em outra série de pacientes com 33 portadores de PC de diversas etiologias, 199 obesos, 91 com doença de Cushing e 27 normais, foi aplicada uma curva ROC (*receive operator curve*) que avaliou a performance do Fu 24 h em realizar o diagnóstico diferencial entre essas entidades. Considerando níveis de cortisol urinário livre acima de 80 µg e 120 µg/24h, foram obtidas acurácias de 87% e 95%, respectivamente.

Em estudo realizado pelo grupo de obesidade do Hospital das Clínicas de São Paulo, 9,7% dos pacientes obesos apresentavam níveis elevados de cortisol urinário (76), enquanto que Beauregard e cols. (77) descreveram os níveis de cortisol urinário livre normais ou discretamente aumentados em pacientes obesos e raramente maiores do que quatro vezes o valor de referência.

Variações circadiana e pulsátil de ACTH e cortisol

O ACTH e o cortisol são secretados de maneira pulsátil, obedecendo ao ritmo circadiano já anteriormente descrito. Muitos estudos têm demonstrado que na DC existe uma alteração da pulsatilidade e da ritmicidade na secreção desses hormônios. Acredita-se que no PC essas alterações estejam presentes em menor intensidade (78). Analisando 31 pacientes com DC, 11 portadores de PC e 17 indivíduos controle, Cunningham e cols. demonstraram que um coeficiente de variação entre as amplitudes de secreção de ACTH ou cortisol abaixo de 40% pode discriminar corretamente esses indivíduos com 100% de sensibilidade e especificidade para os valores de cortisol e 97% de sensibilidade e 100% de especificidade para os valores de ACTH (79).

Teste da desmopressina (DDAVP)

Este teste consiste na injeção endovenosa de 10 µg de DDAVP, análogo da vasopressina de longa duração, para dosagem de cortisol sérico e ACTH plasmático.

Tsagarakis e cols. (80) demonstraram que, utilizando como critério de resposta ao teste da desmopressina um aumento em 20% de cortisol sérico, 21/25 pacientes com doença de Cushing apresentam testes positivos, enquanto que apenas 3/20 portadores de obesidade apresentaram essa resposta (84% sensibilidade e 85% especificidade). Considerando como critério de resposta um aumento de 50% nos níveis de ACTH, 23/25 pacientes com doença de Cushing apresentam resposta, enquanto que 3/20 obesos apresentaram teste positivo (sensibilidade de 92% e especificidade de 85%). Nenhum paciente portador de outras etiologias de SC apresentou respostas a esse teste. Portanto, o teste da desmopressina apresenta uma baixa sensibilidade (63% para cortisol e 69% para ACTH) no diagnóstico diferencial entre SC e obesidade.

Outro trabalho (3) avaliou 173 pacientes (76 com doença de Cushing, 30 com PC secundário à SOP, etilismo ou depressão maior, 36 obesos e 31 indivíduos normais). Após o teste do DDAVP, houve aumento importante do ACTH e cortisol nos

pacientes com doença de Cushing, mas não naqueles com PC. Um aumento modesto, mas significativo, nos níveis de ACTH também foi observado nos obesos e normais.

Recentemente, Coiro e cols. avaliaram 8 etilistas crônicos e não encontraram alteração nos níveis de ACTH e cortisol séricos após a administração de desmopressina nestes pacientes (81).

Ao utilizar como critério de resposta um aumento absoluto nos níveis de ACTH maior ou igual 6.0 pmol/L após a desmopressina (obtido através de uma curva ROC), esse teste apresentou sensibilidade de 86,8% e especificidade de 90,7% em identificar os portadores de doença de Cushing. Com a utilização de critérios clássicos (82,83) para o teste do CRH (ACTH \geq 35% nos tempos 15–30 minutos e cortisol \geq 20% nos tempos 30–45 minutos), 71 indivíduos seriam classificados incorretamente. Além disso, observou-se uma correlação inversa entre os níveis de cortisol basal e o incremento de ACTH e cortisol após DDAVP nos indivíduos com PC, obesos e normais, reforçando a idéia de que o hipercortisolismo em condições fisiológicas ou mesmo no PC atenua a resposta ao DDAVP (84).

Teste de supressão com dexametasona

Assim como os demais testes descritos, esse teste também apresenta uma superposição importante de resultados entre os portadores de PC, SC e até indivíduos saudáveis.

O teste *overnight* consiste na administração de dexametasona 0,5–2,0 mg (geralmente 1,0 mg) às 23–24 h com dosagem de cortisol sérico entre às 8–9 h da manhã seguinte. O uso de drogas que alteram o metabolismo e a absorção da dexametasona (fenitoína, carbamazepina, rifampicina) assim como estrogênios (aumentam a CBG) pode interferir nos resultados. De acordo com a literatura, esse teste apresenta 2% de resultados falso-negativos e até 30% dos indivíduos saudáveis podem apresentar resultados compatíveis com SC (85).

Em estudo retrospectivo, 18% dos pacientes portadores de doença de Cushing apresentaram níveis de Fs < 5 µg/dL e 8% desses apresentaram supressão para níveis abaixo de 2,0 µg/dL após 1 mg de dexametasona *overnight* (86).

Conforme descrito anteriormente, a grande maioria dos portadores de PC apresenta uma hiperatividade do eixo HHA e resistência à supressão pela dexametasona. Dessa forma, é descrito que o teste da dexametasona *overnight* apresenta resultados falso-

positivos em 23% dos indivíduos cronicamente doentes, 13% dos obesos (87), 43% dos portadores de depressão maior e até 41% daqueles que apresentaram outras doenças psiquiátricas (88).

Recentemente, Coiro e cols. demonstraram que a dexametasona 1 mg *overnight* foi incapaz de suprimir o cortisol para níveis abaixo de 5 µg/dL em 6 de 8 pacientes etilistas crônicos (81).

O teste de supressão com dexametasona também pode ser realizado com doses de 0,5 mg 6/6h por 48 h. Similarmente ao teste 1 mg *overnight*, este apresenta uma acurácia diagnóstica de apenas 71% (89).

Em estudo avaliando 19 mulheres portadoras de anorexia nervosa, 7 apresentaram níveis de cortisol sérico acima de 50 nmol/L (1,8 µg/dL) após dexametasona 0,5 mg 6/6h durante 48 horas (75).

Teste CRH – dexametasona

Descrito em 1993 por Yanovski e cols., este teste foi considerado o padrão ouro no diagnóstico diferencial entre SC e os estados de PC. Consiste na administração de CRH ovino 1 µg/kg (100 µg), intravenoso, 2 h após a última dose de dexametasona 0,5 mg 6/6h por 48 horas. Valores de cortisol sérico acima de 38 nmol/L (1,4 µg/dL) obtidos no tempo 15 minutos foram observados em 100% dos indivíduos com doença de Cushing e em nenhum portador de PC (sensibilidade, especificidade e acurácia de 100%) (74).

Em 1999, Duelos e cols. (75) questionaram a validade deste teste em pacientes portadores de anorexia nervosa, já que os mesmos não haviam sido incluídos no grupo de PC avaliado por Yanovski (74). Em seu estudo foram avaliadas 19 mulheres portadoras de anorexia nervosa pareadas com um grupo controle. Em 7 das 19 pacientes os níveis basais de cortisol sérico estavam acima de 50 nmol/L, resultado não observado em nenhum dos controles. Após a administração de oCRH, 9 das 19 pacientes anoréticas exibiram valores de cortisol sérico acima da linha de corte de 38 nmol/L (1,4 µg/dL) definida anteriormente por Yanovski.

Estes dados reforçam mais uma vez a superposição de valores nos exames laboratoriais entre os portadores de PC e ainda as discrepâncias fisiopatológicas entre as diversas etiologias dessa doença.

Teste LVP (lisina-vasopressina) – dexametasona

O teste LVP – dexametasona consiste na injeção intravenosa de LVP 10 UI cedo após 1 mg de dexametasona *overnight*. Contreras e cols. avaliaram a aplicação deste teste em 34 pacientes portadores de Síndrome de Cushing, 18 controles normais, 4 porta-

dores de depressão maior e 5 indivíduos com aparência “cushingóide” de diversas etiologias. Nesse estudo, encontraram uma sensibilidade de 88,9% e especificidade de 100% para esse teste (89).

Teste de tolerância à insulina (ITT)

Este teste consiste na aplicação de 0,1 U/kg de insulina regular endovenosa com posteriores dosagens de glicemia, ACTH e cortisol.

Apesar da superposição de respostas entre os portadores de PC, SC e mesmo indivíduos normais, este teste tem sido utilizado para esse diagnóstico diferencial. Os pacientes deprimidos geralmente apresentam uma resposta do cortisol intacta à hipoglicemia, enquanto que apenas 18% de portadores de SC mantêm essa resposta.

É válido ressaltar que pela resistência insulínica associada ao hipercortisolismo muitas vezes torna-se necessário utilizar doses de até 0,3 U/kg de insulina regular para que ocorra hipoglicemia nesses pacientes.

Teste de loperamida

A loperamida é um agonista opióide que tem sido utilizado no diagnóstico diferencial entre SC e os estados de PC.

Esse teste consiste na administração oral de loperamida 16 mg às 8h com dosagem de cortisol sérico 3,5 h após. A loperamida causa inibição do CRH (90) e, assim, supressão dos níveis de ACTH e cortisol em normais, o que não é observado em portadores de SC (91,92).

Após avaliar os dados em conjunto dos diversos relatos de uso deste teste, foram avaliados 49 portadores de SC (42 com doença de Cushing, 2 com síndrome de secreção ectópica de ACTH e 5 com tumores adrenais) que não apresentaram supressão dos níveis de cortisol sérico abaixo de 5 µg/dL (138 nmol/L) após administração de dexametasona 1 mg *overnight*. Em 128 de 138 indivíduos normais ou portadores de PC de diversas etiologias, observou-se supressão dos níveis de cortisol sérico abaixo deste valor, resultando em uma sensibilidade de 100% e especificidade de 93% para esse teste (91,92). A análise de um maior número de pacientes e controles será necessária para uma melhor avaliação da acurácia deste teste.

Dados recentes e com um maior número de participantes são necessários para uma melhor avaliação da acurácia deste teste.

Teste do naloxone

Naloxone é um antagonista opióide que tem sido utilizado para o diagnóstico diferencial entre o estado de PC relacionado ao etilismo crônico e à SC.

Alguns autores acreditam que o álcool determina a redução dos níveis dos peptídeos opióides endógenos levando à hiperatividade do eixo HHA e, sendo o naloxone um antagonista opióide, esse efeito no eixo seria reduzido.

Em 1995, Inder e cols. avaliaram os níveis de cortisol, ACTH, CRH e AVP a cada 20 minutos durante 2 horas em 9 etilistas e os compararam a 9 indivíduos controle pareados para sexo e idade (93). Após essa avaliação inicial eram administrados 20 mg de naloxone intravenosos com posterior dosagem dos mesmos hormônios nos tempos 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos. O nível basal dos diversos hormônios não variou entre os dois grupos, porém os etilistas apresentaram um menor incremento dos níveis de ACTH após o naloxone (93).

Teste DDAVP – dexametasona

Devido ao fato de o DDAVP ser droga disponível e de baixo custo em nosso meio e a não disponibilidade e alto custo do CRH no Brasil (94), Salgado e cols. avaliaram a utilização do teste do DDAVP 10 µg intravenosos, após dexametasona 2 mg *overnight* em indivíduos normais e pacientes com doença de Cushing. Valores absolutos de cortisol sérico $\geq 2,4$ µg/dL no tempo 15 minutos do teste puderam classificar corretamente esses indivíduos.

Cateterismo bilateral e simultâneo dos seios petrosos inferiores (BIPSS)

O BIPSS é hoje considerado o método padrão ouro para o diagnóstico da etiologia da SC ACTH-dependente, atingindo uma acurácia de quase 100% (95).

Acredita-se que o hipercortisolismo dos estados de PC é resultado do aumento na secreção de CRH agindo sob o eixo hipófise–adrenal. Em contrapartida, a secreção de CRH pelo hipotálamo está suprimida pelo hipercortisolismo da SC. Levando em consideração esse raciocínio, Yanovsky e cols. postularam que os níveis de CRH avaliados durante o BIPSS permitiriam diferenciar essas duas situações (96).

Estudando 25 pacientes com doença de Cushing, 17 com síndrome de secreção ectópica de ACTH, 7 com SC de origem adrenal, 6 portadores de PC e 11 voluntários normais, Yanovsky e cols. não encontraram diferenças significativas nos níveis de CRH nos seios petrosos (esfenoidal) ou em veia periférica nos diversos grupos. Todos os indivíduos apresentaram níveis de CRH indetectáveis e apenas os valores de ACTH eram mais elevados nos portadores de doença de Cushing (96). Portanto, o BIPSS não parece acrescentar no diagnóstico diferencial entre a SC e os estados de PC.

Teste da hexarelina

A hexarelina é um peptídeo que estimula a secreção de ACTH hipofisário de uma maneira diferente da desmopressina (97). Acredita-se que a hexarelina age diretamente no hipotálamo, aumentando o ACTH via CRH endógeno ou outros fatores liberadores de ACTH hipotálamicos.

Evidências mostram que após a desconexão hipotálamo-hipofisária, o efeito da hexarelina é completamente abolido (97,98) e que ainda essa droga é capaz de estimular a secreção de ACTH *in vitro* (99,100).

O teste com hexarelina consiste na administração de 2,0 µg.kg⁻¹ com dosagem de ACTH e cortisol nos mesmos tempos do teste da desmopressina.

Coiro e cols. avaliaram os resultados do teste da hexarelina em 8 etilistas com PC, 6 portadores de doença de Cushing e 9 controles normais. Como já era de se esperar, a hexarelina levou a uma resposta exagerada de ACTH e cortisol nos portadores de doença de Cushing e um aumento menos intenso nos indivíduos normais, não se observando resposta nos etilistas (81). Conclui-se que este teste seria de grande valor no diagnóstico diferencial entre os portadores de PC de etiologia alcoólica. Mais estudos são necessários para avaliar sua utilização nas demais causas do estado de PC.

Antígeno prostático sérico específico (PSA)

Recentemente, a dosagem do PSA através de um imunoenensaio enzimático por quimioiluminescência altamente sensível possibilitou a detecção do PSA no soro de mulheres. Embora o sítio exato de secreção do PSA ainda seja desconhecido nas mulheres, acredita-se que vários tecidos secretam esse hormônio via estimulação de hormônios esteróides (101).

O PSA é considerado um marcador de atividade androgênica nas mulheres (102-104) e recentemente estudos *in vitro* demonstraram que a sua produção em células tumorais da mama é mediada por receptores androgênicos mas também por receptores de GC e de progesterona (105,106).

Estudo recente avaliou os níveis de PSA em 10 mulheres portadoras de PC dependente do álcool, 8 mulheres com doença de Cushing e 15 mulheres controles. Foram demonstrados níveis de PSA séricos significativamente maiores nas portadoras de doença de Cushing em relação às outras etiologias, e os níveis de PSA entre as etilistas e as normais foram semelhantes (106). Em conclusão, a avaliação dos níveis séricos de PSA total através de um ensaio de alta sensibilidade representa uma ferramenta a mais no diagnóstico diferencial entre essas duas entidades.

TRATAMENTO

O tratamento dos estados de PC consiste no tratamento específico das diversas etiologias relacionadas a ele. A melhora das queixas clínicas e laboratoriais sugestivas de hipercortisolismo à medida que ocorre melhora da doença primária causadora reforçaria ainda mais o diagnóstico de PC.

CONCLUSÃO

Pseudo-Cushing é um estado clínico caracterizado pela presença do fenótipo clínico similar à síndrome de Cushing associado a algum grau de hipercortisolismo endógeno.

Hipercortisolismo laboratorial pode estar presente em diversas doenças, no entanto o estado de pseudo-Cushing está bastante estabelecido no alcoolismo crônico e na depressão maior.

O diagnóstico diferencial com a síndrome de Cushing muitas vezes é bastante difícil, tornando necessária a realização de múltiplos testes laboratoriais e dinâmicos, já que nenhum pode ser considerado ideal.

Muitas vezes a observação em longo prazo permite essa diferenciação, já que o pseudo-Cushing não é doença progressiva e tende a regredir quando a sua etiologia é revertida.

REFERÊNCIAS

1. Newell-Price J, Trainer P, Besser M, Grossman A. The diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome and pseudo-Cushing's states. **Endocr Rev** 1998; 19(5):647-72.
2. Pecori Giraldi F, Pivonello R, Ambrogio AG, De Martino MC, De Martin M, Scacchi M, et al. The dexamethasone-suppressed corticotropin-releasing hormone stimulation test and the desmopressin test to distinguish Cushing's syndrome from pseudo-Cushing's states. **Clin Endocrinol** 2007; 66(2):251-7.
3. Moro M, Putignano P, Losa M, Invitti C, Maraschini C, Cavagnini F. The desmopressin test in the differential diagnosis between Cushing's disease and pseudo-Cushing States. **J Clin Endocrinol Metab** 2000;85(10):3569-74.
4. Papanicolaou D, Yanovski J, Cutler G, Chrousos G, Nieman L. A single midnight serum cortisol measurement distinguishes Cushing's syndrome from pseudo-Cushing states. **J Clin Endocrinol Metabolism** 1998;83(4):1163-7.
5. Lamberts SW, Klijn JG, de Jong FH, Birkenhager JC. Hormone secretion in alcohol-induced pseudo-Cushing's syndrome. Differential diagnosis with Cushing disease. **JAMA** 1979;242:1640-3.
6. Wand GS, Dobs AS. Alterations in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in actively drinking alcoholics. **J Clin Endocrinol Metab** 1991;72:1290-5.
7. Roy MS, Roy A, Gallucci WT, Collier B, Young K, Kamilaris TC, et al. The ovine corticotropin-releasing hormone-stimulation test in type I diabetic patients and controls: suggestion of mild chronic hypercortisolism. **Metabolism** 1993; 42:696-700.

8. Duclos M, Gatta B, Corcuff JB, Rashedi M, Pehourcq F, Roger P. Fat distribution in obese women is associated with subtle alterations of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity and sensitivity to glucocorticoids **Clin Endocrinol** **2001**; 55:447-54.
9. Lordelo RA, Mancini MC, Cercato C, Halpern A. Eixos hormonais na obesidade: Causa ou efeito? **Arq Bras Endocrinol Metab** **2007**;51:34-41.
10. Salehi M, Ferenczi A, Zumoff B. Obesity and cortisol status. **Horm Metabol Res** **2005**;37(4):193-7.
11. Rebuffe-Scrive M, Bronnegard M, Nilsson A, Eldh J, Gustafsson JA, Bjorntorp P. Steroid hormone receptors in human adipose tissues. **J Clin Endocrinol Metab** **1990**;71:1215-9.
12. Bronnegard M, Arner P, Hellstrom Let, Akner G, Gustafsson JA. Glucocorticoid receptor messenger ribonucleic acid in different regions of human adipose tissue. **Endocrinology** **1990**;127:1689-96.
13. Lottenberg SA, Giannella-Neto D, Derendorf H, Rocha M, Bosco A, Carvalho SV, et al. Effect of fat distribution on the pharmacokinetics of cortisol in obesity. **Int J Clin Pharmacol Ther** **1998**;36(9):501-5.
14. Bujalska IJ, Kumar S, Stewart PM. Does central obesity reflect 'Cushing's disease of the omentum'? **Lancet** **1997**; 349:1210-3.
15. Livingstone DE, Kenyon CJ, Walker BR. Mechanisms of dysregulation of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in obese Zucker rats. **J Endocrinol** **2000**;167(3):533-9.
16. Masuzaki H, Paterson J, Shinyama H, Morton NM, Mullins JJ, Seckl JR, et al. A transgenic model of visceral obesity and the metabolic syndrome. **Science** **2001**;294(5549):2166-70.
17. Rask E, Olsson T, Soderberg S, Andrew R, Livingstone DE, Johnson O, et al. Tissue-specific dysregulation of cortisol metabolism in human obesity. **J Clin Endocrinol Metab** **2001**;86(3):1418-21.
18. Katz JR, Mohamed-Ali V, Wood PJ, Yudkin JS, Coppack SW. An in vivo study of the cortisol-cortisone shuttle in subcutaneous abdominal adipose tissue. **Clin Endocrinol** **1999**; 50:63-8.
19. Engeli S, Bohnke J, Feldpausch M, Gorzelnik K, Heintze U, Janke J, et al. Regulation of 11beta-HSD genes in human adipose tissue: influence of central obesity and weight loss. **Obes Res** **2004**;12(1):9-17.
20. Hauner H, Entenmann G, Wabitsch M, Gaillard D, Ailhaud G, Negrel R, et al. Promoting effect of glucocorticoids on the differentiation of human adipocyte precursor cells cultured in a chemically defined medium. **J Clin Invest** **1989**; 84:1663-70.
21. Veldman RG, Meinders AE. On the mechanism of alcohol-induced pseudo-Cushing's syndrome. **Endoc Rev** **1996**; 17(3):268.
22. Wilkins JN, Gorelick DA, Nademanee K, Taylor A, Herzberg DS. Hypothalamic-pituitary function during alcohol exposure and withdrawal and cocaine exposure. **Recent Dev Alcohol** **1992**;10:57-71.
23. Noth RH, Walter RM. The effects of alcohol on the endocrine system. **Med Clin North Am** **1984**;68:133-46.
24. Dackis C, Stuckey R, Gold M, Pottash A. Dexamethasone suppression testing of depressed alcoholics. **Alcohol Clin Exp Res** **1986**;10:59-60.
25. Lamberts SWJ, Klijin JGM, de Jong FH, Birkenhoger JC. Hormone secretion in alcohol-induced pseudo-Cushing's syndrome: differential diagnosis with Cushing's disease. **JAMA** **1979**;242:1640-3.
26. Jenkins RM, Page MM. Atypical case of alcohol-induced Cushingoid syndrome. **Br Med J** **1981**;282:1117-8.
27. Elias AN, Meshkinpour H, Valenta LJ, Grossman MK. Pseudo-Cushing's syndrome: the role of alcohol. **J Clin Gastroenterol** **1982**;4(2):137-9.
28. Bode C, Martini G, Bode J. Effect of alcohol on microsomal cortisol and 5-alpha reductase in the liver of rats that are on a standard or low protein diet. **Horm Metab Res** **1978**; 10:63-4.
29. Bellet S, Roman L, DeCastro O, Herrera M. Effect of acute ethanol intake on plasma 11-hydroxycorticosteroid levels. **Metabolism** **1970**;19:664-7.
30. Ylikahri RH, Huttunen MO, Harkonen M, Leino T, Helenius T, Liewendahl K, et al. Acute effects of alcohol on the anterior pituitary secretion of the tropic hormones. **J Clin Endocrinol Metab** **1978**;46:715-20.
31. Ida Y, Tsujimaru S, Nakamura K, Shirao I, Mukasa H, Egami H, et al. Effects of acute and repeated alcohol ingestion on hypothalamic-pituitary-gonadal and hypothalamic-pituitary-adrenal functioning in normal males. **Drug Alcohol Depend** **1992**;31:57-64.
32. Cobb CF, Van Thiel DH, Gavalier JS, Lester R. Effects of ethanol and acetaldehyde on the rat adrenal. **Metabolism** **1981**;30:537-43.
33. Elias AN, Meshkinpour H, Valenta LJ, Grossman MK. Pseudo-Cushing's syndrome: the role of alcohol. **J Clin Gastroenterol** **1982**;4:137-9.
34. Dave JR, Eiden LE, Karanian JW, Eskay RL. Ethanol exposure decreases pituitary corticotropin-releasing factor binding, adenylate cyclase activity, proopiomelanocortin biosynthesis and plasma endorphin levels in the rat. **Endocrinology** **1986**;118:280-6.
35. Rivier C, Bruhn T, Vale W. Effect of ethanol on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the rat: role of corticotropin-releasing factor (CRF). **J Pharmacol Exp Ther** **1984**; 229:127-31.
36. Somer L, Matavulj M, Hadzi B, Vuckovi N. The hypophyseal-adrenal axis in chronic alcoholism. **Source Medicinski Pregled** **1996**;49(9-10):349-55.
37. Burra P, Franklyn JA, Ramsden DB, Elias E, Sheppard MC. Severity of alcoholic liver disease and markers of thyroid and steroid status. **Postgrad Med** **1992**;168:804-10.
38. McDonald-JA, Haidelsman DJ, Dilworth P, Conway AJ, McCaughan GW. Hypothalamic-pituitary adrenal function in end-stage non-alcoholic liver disease. **J Gastroenterol Hepato** **1993**;18:247-53.
39. Rosman PM, Farg A, Benn R, Tito J, Mishik A, Wallace EZ. Modulation of pituitary-adrenocortical function: decreased secretory episodes and blunted circadian rhythmicity in patients with alcoholic liver disease. **J Clin Endocrinol Metab** **1982**;55:709-17.
40. McCann VJ, Fulton TT. Cortisol metabolism in chronic liver disease. **J Clin Endocrinol Metab** **1975**;40:1038.
41. Pfohl B, Sherman B, Schlechte J, Stone B. Pituitary-adrenal axis rhythm disturbances in psychiatric depression. **Arch Gen Psychiatry** **1985**;42:897.
42. Amsterdam JD, Maislin G, Winokur A, Berwisch N, Kling M, Gold P. The oCRH stimulation test before and after clinical recovery from depression. **J Affect Disord** **1988**; 14:213-22.
43. Pfohl B, Sherman B, Schlechte J, Winokur G. Differences in plasma ACTH and cortisol between depressed patients and normal controls. **Biol Psychiatry** **1985**; 20:1055.
44. Purba JS, Hoogendijk WJ, Hofman MA, Swaab DF. Increased number of vasopressin- and oxytocin-expressing neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus in depression. **Arch Gen Psychiat** **1996**;53:137-43.
45. Raadsheer FC, Hoogendijk WJ, Stam FC, Tilders FJ, Swaab DF. Increased numbers of corticotropin-releasing hormone expressing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus of depressed patients. **Neuroendocrinology** **1994**; 60:436-44.
46. Oshima A, Yamashita S, Ohashi T, Murata T, Tadokoro C, Miyaoka H, et al. The differential ACTH responses to combined dexamethasone/CRH administration in major depressive and dysthymic disorders. **J Psychiat Res** **2000**; 34:325-8.
47. Von Bardeleben U, Holsboer F. Cortisol response to a combined dexamethasone/human corticotrophin-releasing hormone challenge in patients with depression. **J Neuroendocrinol** **1989**;1:485-8.

48. Newport DJ, Heim C, Owens MJ, Ritchie JC, Ramsey CH, Bonsall R, et al. Cerebrospinal fluid corticotropin-releasing factor (CRF) and vasopressin concentrations predict pituitary response in the CRF stimulation test: a multiple regression analysis. **Neuropsychopharmacology** **2003**;28:569-76.
49. Casper RC, Chatterton RT, Davis JM. Alterations in serum cortisol and its binding characteristics in anorexia nervosa. **J Clin Endocrinol Metab** **1979**;49:406-11.
50. Estour B, Pugea M, Lang F, Lejeune H, Broutin F, Pellet J, et al. Rapid escape of cortisol from suppression in response to IV dexamethasone in anorexia nervosa. **Clin Endocrinol** **1990**;33:45-52.
51. Cavagnini F, Invitti C, Passamonti M, Polli EE. Response of ACTH and cortisol to corticotropin-releasing hormone in anorexia-nervosa. **N Eng J Med** **1986**;314:184-5.
52. Boyar RM, Hellman LD, Roffwarg H, Katz J, Zumoff B, O'Connor J, et al. Cortisol secretion and metabolism in anorexia nervosa. **N Eng J Med** **1977**;296:190-3.
53. Connan F, Lightman SL, Landau S, Wheeler M, Treasure J, Campbell IC. An investigation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis hyperactivity in anorexia nervosa: the role of CRH and AVP. **J Psychiatr Res** **2007**;41(1-2):131-43.
54. Gold PW, Gwirtsman H, Avgerinos PC, Nieman LK, Gallucci WT, Kaye W, et al. Abnormal hypothalamic-pituitary-adrenal function in anorexia nervosa. Pathophysiologic mechanisms in underweight and weight-corrected patients. **N Eng J Med** **1986**;314:1335-42.
55. Malerbi DA, Fragoso MC, Vieira Filho AH, Brenha EM, Mendonça BB. Cortisol and adrenocorticotropin response to desmopressin in women with Cushing's disease compared with depressive illness. **J Clin Endocrinol Metab** **1996**;81(6):2233-7.
56. Berger M, Pirke KM, Doerr P, Krieg C, von Zersseen D. Influence of weight loss on the dexamethasone suppression test. **Arch Gen Psychiatr** **1983**;40:585-6.
57. Licinio J, Wong ML, Gold PW. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis in anorexia nervosa. **Psychiatr Res** **1996**;62:75-83.
58. Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos FE, et al. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. **Nature** **1996**;382:250-2.
59. Glowa JR, Gold PW. Corticotropin releasing hormone produces profound anorexigenic effects in the rhesus monkey. **Neuropeptides** **1991**;18:55-61.
60. Arase K, York DA, Shimizu H, Shargill N, Bray GA. Effects of corticotropin-releasing factor on food intake and brown adipose tissue thermogenesis in rats. **Am J Physiol** **1988**;255:255-9.
61. Bronnegard M, Stierna P, Marcus C. Glucocorticoid resistant syndromes — molecular basis and clinical presentations. **J Neuroendocrinol** **1996**;8:405-15.
62. Lamberts SW. The glucocorticoid insensitivity syndrome. **Horm Res** **1996**;45(suppl 1):2-4.
63. Arai K, Chrousos GP. Syndromes of glucocorticoid and mineralocorticoid resistance. **Steroids** **1995**;60:173-9.
64. Strain GW, Zumoff B, Strain JJ. Cortisol production in obesity. **Metabolism** **1980**;29:980-5.
65. Pirich K, Vierhapper H. 24-hour serum concentration profile of cortisol in patients with Cushing's disease. **Exp Clin Endocrinol** **1988**;92:275-9.
66. 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** **1995**;43:545-50.
67. Cunningham JM, Buxton OM, Weiss RE. Circadian variation in Cushing's disease and pseudo-Cushing states by analysis of F and ACTH pulsatility. **J Endocrinol Invest** **2002**;25(9):791-9.
68. Riad-Fahmy D, Read GF, Walker RF, Griffiths K. Steroids in saliva for assessing endocrine function. **Endocr Rev** **1982**;3:367-95.
69. Chen YM, Cintron NM, Whitson PA. Long-term storage of salivary cortisol samples at room temperature. **Clin Chem** **1992**;38:304-5.
70. Putignano P, Dubini A, Toja P, Invitti C, Bonfanti S, Redaelli G, et al. Salivary cortisol measurement in normal-weight, obese and anorexic women: comparison with plasma cortisol. **Eur J Endocrinol** **2001**;145:165-71.
71. Meikle AW, Findling J, Kushnir MM, Rockwood AI, Nelson GJ, Terryj AH. Pseudo-Cushing syndrome caused by fenofibrate interference with urinary cortisol assayed by high-performance liquid chromatography. **Clin Endocrinol Metab** **2003**;88(8):3521-4.
72. Turpeinen U, Markkanen H, Valimaki M, Stenman UH. Determination of urinary free cortisol by HPLC. **Clin Chem** **1997**;43:1386-91.
73. Findling J, Pinkstaff S, Shaker JL, Raff H, Nelson J. Pseudo-hypercortisoluria: spurious elevation of urinary cortisol due to carbamazepine. **Endocrinologist** **1998**;8:51-4.
74. Yanovski JA, Cutler Jr GB, Chrousos GP, Nieman LK. Corticotropin-releasing hormone stimulation following low-dose dexamethasone administration. A new test to distinguish Cushing's syndrome from pseudo-Cushing's states. **JAMA** **1993**;269:2232-8.
75. Duclos M, Corcuff JB, Roger P, Tabarin A. The dexamethasone-suppressed corticotrophin-releasing hormone stimulation test in anorexia nervosa. **Clin Endocrinol** **1999**;51(6):725-31.
76. Arguello AMC, Cercato C, Barroso RL, et al. Urinary free cortisol levels in obese patients. **Int J Obes Relat Metab Disord** **2002**;26(suppl. 1):S198.
77. Beauregard C, Dickstein G, Lacroix A. Classic and recent etiologies of Cushing syndrome: diagnosis and therapy. **Treat Endocrinol** **2002**;1(2):79-94.
78. Deuschle M, Schweiger U, Weber B, Gotthardt U, Korner A, Schmider J, et al. Diurnal activity and pulsatility of the hypothalamus-pituitary-adrenal system in male depressed patients and healthy controls. **J Clin Endocrinol Metab** **1997**;82(1):234-8.
79. Cunningham JM, Buxton OM, Weiss RE. Circadian variation in Cushing's disease and pseudo-Cushing states by analysis of F and ACTH pulsatility. **J Endocrinol Invest** **2002**;25(9):791-9.
80. Tsagarakis S, Vasiliou V, Kokkoris P, Stavropoulos G, Thallasinos N. Assessment of cortisol and ACTH responses to the desmopressin test in patients with Cushing's syndrome and simple obesity. **Clin Endocrinol** **1999**;51(4):473-7.
81. Coiro V, Volpi R, Capretti L, Caffarri G, Chiodera P. Desmopressin and hexarelin tests in alcohol-induced pseudo-Cushing's syndrome. **J Intern Med** **2000**;247(6):667-73.
82. Newell-Price J, Perry L, Medbak S, Monson J, Savage M, Besser M, et al. A combined test using desmopressin and corticotropin-releasing hormone in the differential diagnosis of Cushing's syndrome. **J Clin Endocrinol Metab** **1997**;82:176-81.
83. Niemann LK, Oldfield EH, Wesley R, Chrousos GP, Loriaux DL, Cutler Jr GB. 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.
84. Gold PW, Loriaux DL, Roy A, Kling MA, Calabrese JR, Kellner CH, et al. Responses to corticotropin-releasing hormone in the hypercortisolism of depression and Cushing's disease. Pathophysiologic and diagnostic implications. **N Engl J Med** **1986**;314:1329-35.
85. Tsigos C, Papanicolaou DA, Chrousos GP. Advances in the diagnosis and treatment of Cushing's syndrome. **Bailliere Clin Endocrinol Metab** **1995**;9:315-36.
86. Findling JW, Raff H, Aron DC. The low-dose dexamethasone suppression test: a reevaluation in patients with Cushing's syndrome. **J Clin Endocrinol Metab** **2004**;89:1222.
87. Crapo L. Cushing's syndrome: a review of diagnostic tests. **Metabolism** **1979**;28:955-77.
88. Murphy BE. Steroids and depression. **J Steroid Biochem Mol Biol** **1991**;38:537-59.
89. Contreras P, Araya V. Overnight dexamethasone pre-treatment improves the performance of the lysine-vasopressin test in the diagnosis of Cushing's syndrome. **Clin Endocrinol** **1996**;44:703-10.

90. Auernhammer CJ, Stalla GK, Lange M, Pfeiffer A, Muller OA. Effects of loperamide on the human hypothalamo-pituitary-adrenal axis *in vivo* and *in vitro*. **J Clin Endocrinol Metab** 1992;75:552-7.
91. Ambrosi B, Bochicchio D, Ferrario R, Colombo P, Faglia G. Effects of the opiate agonist loperamide on pituitary-adrenal function in patients with suspected hypercortisolism. **J Endocrinol Invest** 1989;12:31-5.
92. Ambrosi B, Bochicchio D, Colombo P, Fadin C, Faglia G. Loperamide to diagnose Cushing's syndrome. **JAMA** 1993; 270:2301-2.
93. Inder WJ, Joyce PR, Ellis MJ, Evans MJ, Livesey JH, Donald RA. The effects of alcoholism on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: interaction with endogenous opioid peptides. **Clin Endocrinol** 1995;43(3):283-90.
94. Salgado LR, Knoepfelmacher M, Pimentel F, Wajchenberg BL, Liberman B. Desmopressin (DDAVP): a more reliable test for diagnosis of Cushing's disease. Programs and Abstracts of the Endocrine Society 80th Annual Meeting 1998; New Orleans, LA:69.
95. Oldfield EH, Nieman LK. 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.
96. Yanovski JA, Nieman LK, Doppman JL, Chrousos GP, Wilder RL, Gold PW, et al. Plasma levels of corticotropin-releasing hormone in the inferior petrosal sinuses of healthy volunteers, patients with Cushing's syndrome, and patients with pseudo-Cushing states. **J Clin Endocrinol Metab** 1998; 83(5):1485-8.
97. Hickey GJ, Drisko J, Faidley T, Chang C, Anderson L, Nicolich S, et al. Mediation by the central nervous system is critical to the *in vivo* activity of the GH secretagogue L-692, 585. **J Endocrinol** 1996;148:371-80.
98. Wand GS, Dobs AS. Alterations in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in actively drinking alcoholics. **J Clin Endocrinol Metab** 1991;72:1290-5.
99. Bowers CY, Momany FA, Reynolds GA, Hong A. On the *in vitro* and *in vivo* activity of a new synthetic hexapeptide that acts on the pituitary to specifically release growth hormone. **Endocrinology** 1984;114:1537-45.
100. Arvat E, De Vito L, Macacagno B, Broglio F, Boghen MF, Deghenghi R, et al. Effects of GHRF-2 and hexarelin, two synthetic GH-releasing peptides, on GH, prolactin, ACTH and cortisol levels in men. Comparison with the effects of GHRH, TRH and hCRH. **Peptides** 1997;18:885-91.
101. Diamandis EP, Yu H. New biological functions of prostate specific antigen? **J Clin Endocrinol Metab** 1995;80:1515-7.
102. Melegos DN, Yu H, Ashok M, Wang C, Stanczyk F, Diamandis EP. Prostate specific antigen in female serum. A potential new marker of androgen excess. **J Clin Endocrinol Metab** 1997;82:777-80.
103. Negri C, Tosi F, Dorizzi R, Fortunato A, Spiazzi GG, Muggeo M, et al. Antiandrogen drugs lower serum prostate-specific antigen (PSA) levels in hirsute subjects: Evidence that serum PSA is a marker of androgen action in women. **J Clin Endocrinol Metab** 2000;85:81-4.
104. Obiezu CV, Scorilas A, Magklara A, Thornton MH, Wang CY, Stanczyk FZ, et al. Prostate-specific antigen and human glandular kallikrein 2 are markedly elevated in urine of patients with polycystic ovary syndrome. **J Clin Endocrinol Metab** 2001;86:1558-61.
105. Luke MC, Coffey DS. Human androgen receptors binding to the androgen response element of prostate specific antigen. **J Androl** 1994;15:49-51.
106. Coiro V, Volpi R, Gallia P, Manfredi G, Magotti MG, Sacconi-Jotti G, et al. Serum total prostate-specific antigen assay in women with Cushing's disease or alcohol-dependent pseudo-Cushing's state. **Horm Res** 2004;61:148-52.

Endereço para correspondência:

Luiz Roberto Salgado
Av. Brigadeiro Luiz Antônio 4258
01402-002 São Paulo, SP
Fax: (11) 3885-6719
E-mail: salga@uol.com.br