

O valor do cortisol salivar em Endocrinologia Clínica

The Value of Salivary Cortisol in Clinical Endocrinology

RJ Santos¹, S Prazeres¹, AC Martins¹, LG Sobrinho¹

¹Serviço de Endocrinologia, Instituto Português de Oncologia Francisco Gentil, Lisboa

Correspondência: Rita J Santos · Serviço de Endocrinologia · Instituto Português de Oncologia Francisco Gentil · Rua Professor Lima Bastos · 1099-023 LISBOA · Portugal · ritajsantos@hotmail.com

Aceitação: Artigo recebido em 20/08/2010, revisto em 14/12/2010 e aceite para publicação em 14/12/2010.

RESUMO

Introdução: É hoje reconhecido que as concentrações de cortisol salivar podem ser úteis na avaliação da função do córtex da supra renal. O Laboratório de Endocrinologia do IPO de Lisboa tem utilizado um método de medição do cortisol salivar como rotina no Serviço.

Objectivos: Obtenção dos valores de referência numa população normal e em populações de doentes seleccionados. Comparar os valores do cortisol salivar com os do cortisol urinário das 24h na avaliação das disfunções da supra renal.

Material e Métodos: Foram colhidas 247 amostras de saliva de voluntários saudáveis para obtenção dos intervalos de referência.

Foram seleccionados e agrupados em quatro categorias 116 processos da consulta de Endocrinologia com doseamentos de cortisol salivar e urinário: hiperfunções do córtex supra renal; doença de Addison; adenomas não funcionantes da supra renal; patologia variada.

Resultados: O intervalo de referência para o cortisol salivar da manhã foi: 2.6– 60.7 nmol/L e da noite: 1.0–14.9 nmol/L. Não houve diferenças significativas entre faixa etária, homens e mulheres. Nas hiperfunções do córtex da supra renal o cortisol salivar das 23 h teve uma sensibilidade de 98% e uma especificidade de 87%. Para o cortisol das 9 h os mesmos valores foram de 16% e 78%, respectivamente. Houve correlação positiva significativa ($R=0,6$) entre o cortisol salivar das 23h e o cortisol urinário. Em 26 “incidentalomas” da supra renal o cortisol salivar das 23h foi normal em todos enquanto o cortisol urinário foi elevado em oito.

Discussão/Conclusões: Os intervalos de referência determinados foram superiores aos de outros autores. O método e modo de colheita variam, sendo essencial que cada laboratório defina os seus valores. As razões da dissociação entre cortisol salivar e urinário nos incidentalomas serão discutidas.

A nossa série confirma que o cortisol salivar das 23h é um excelente método na caracterização de hiperfunções da supra renal.

PALAVRAS-CHAVE

Cortisol salivar; Cortisol urinário; Córtex supra renal; Hipercortisolismo; Adenoma da supra renal.

ABSTRACT

Introduction: *The measurement of salivary cortisol is a valuable tool in the assessment of the adrenal cortex function. In the present report we review the basic principles involved and describe our experience with a radioimmunoassay method to measure salivary cortisol.*

Objectives: *To define the reference values in the normal population and find out the diagnostic*

validity of salivary cortisol in selected groups of patients.

Material and methods: Morning and late evening saliva samples were collected from 127 healthy volunteers. Salivary and urinary cortisol measurements were obtained in 51 patients with adrenal disorders and in 60 with miscellaneous, non-adrenal, conditions.

Results: The reference intervals for salivary cortisol were: Morning = 2.6 - 60.7 nmol/L; Late evening = 1.0 - 14.9 nmol/L. There were no significant differences between men and women or between age groups.

In adrenal hyperfunction evening salivary cortisol had a sensitivity of 83% and a specificity of 87%. There was a significant positive correlation ($R = 0.6$) between evening salivary cortisol and urinary cortisol. In 26 adrenal "incidentalomas" the evening salivary cortisol was elevated in two while urinary cortisol was elevated in eight.

Discussion / Conclusions: The reference intervals for salivary cortisol were higher than those referred by other authors. It is, therefore, essential that each laboratory defines its values. Our series confirms that the evening salivary cortisol is an excellent method in the screening for adrenal hyperfunction. The possible reasons for the dissociation between salivary and urinary cortisol in incidentalomas are discussed.

KEYWORDS

Salivary cortisol; Urinary cortisol; Adrenal cortex; Hypercortisolism; Adrenal adenoma.

INTRODUÇÃO

A avaliação da actividade do córtex da supra renal e da exposição dos tecidos à acção do cortisol tem sido avaliada através dos doseamentos do cortisol no soro e/ou na urina das 24 horas.

Cada um destes métodos tem vantagens e inconvenientes conhecidos:

1 – O doseamento do cortisol sérico é muito pouco sujeito a interferência por outras substâncias circulantes – naturais ou fármacos – e permite o recurso a medições repetidas durante provas dinâmicas. No entanto, cerca de 80 % do cortisol sérico circula ligado a uma proteína de transporte – CBG (Cortisol - Binding Globulin), 15% circula ligado à albumina e só cerca de 5% circula "livre". Estas percentagens variam com as concentrações totais de cortisol sérico já que a CBG tem muito alta afinidade para o cortisol mas circula em concentrações baixas e satura quando este atinge concen-

trações de 25 µg/dl. A partir desta concentração o cortisol sérico distribui-se apenas pela fracção ligada à albumina (para a qual tem muito menos afinidade) e pela fracção "livre", de modo que esta última aumenta desproporcionadamente para grandes concentrações de cortisol sérico¹.

2 – O cortisol urinário espelha as concentrações de cortisol "livre" no soro (o único que é filtrado) nas 24 horas. Não depende das flutuações pontuais devidas à secreção pulsátil do cortisol nem das concentrações da CBG que variam de pessoa para pessoa e aumentam com a gravidez e exposição a estrogénios orais². Por outro lado o rigor dos resultados depende de uma correcta colheita da urina de 24 horas, sempre problemática. Além de que a urina contém esteróides endógenos ou exógenos, por vezes em quantidades muito elevadas, que afectam os resultados das medições, mesmo quando a reacção

cruzada destes esteroides com o cortisol, em condições de equimolaridade, é baixa².

A imensa maioria da vasta literatura sobre diagnóstico das hiper ou hipofunções do córtex supra-renal foi construída com base nestes dois tipos de medições.

O reconhecimento de que a saliva contém cortisol e que as concentrações de cortisol salivar permitem estimar as concentrações de cortisol "livre" no soro levou a que, ultimamente, vários centros tenham utilizado esta variável na avaliação da função do córtex supra-renal para efeitos de diagnóstico ou de estudos de fisiologia e fisiopatologia.

Com efeito o doseamento do cortisol salivar tem vantagens únicas:

- 1 – Fácil execução, não invasivo e "stress-free".
- 2 – Permite que as colheitas sejam feitas em casa, a qualquer hora. O cortisol é estável à temperatura ambiente pelo que o doente pode fazer as colheitas em casa e levá-las ao laboratório no dia seguinte ou até mandá-las pelo correio³. Isto é sobretudo relevante quando se pretende a avaliação das concentrações do cortisol pelas 23 horas, quando as concentrações fisiológicas são mínimas e a diferença entre normalidade e hiperfunção é máxima.
- 3 – As concentrações do cortisol na saliva não variam com as variações do fluxo salivar².

No entanto, o valor diagnóstico do cortisol salivar é afectado pelo facto das glândulas salivares exprimirem a enzima desidrogenase dos 11 hidroxisteroides, tipo 2, (11 HSD, 2) que converte o cortisol em cortisona pelo que as concentrações de cortisol na saliva são cerca de 50% da concentração "livre" no soro^{4,5,6}. Para mais, a variabilidade do rendimento da conversão do cortisol em cortisona é grande, tendo o quociente entre cortisol e cortisona na saliva variado entre 7% e 47% numa série de 12 pessoas normais⁷. Como os métodos de medição do cortisol salivar correntes

em medicina clínica não medem a cortisona, a presunção de que o cortisol salivar "mede" o cortisol "livre" no soro está sujeita a um erro grande e não quantificável. A ultrapassagem desta limitação através da medição simultânea de ambos os esteróides requiere metodologia muito laboriosa, não acessível a laboratórios de apoio à clínica.

Num dos poucos trabalhos publicados em que o cortisol e a cortisona salivar foram medidos simultaneamente verificou-se que as concentrações médias de cortisol salivar de manhã (9,3 nmol/l) são cerca de metade das concentrações de cortisona (17,9 nmol/l) enquanto no sangue as concentrações de cortisol são de 344 nmol/l e as de cortisona de 51 nmol/l⁵. Dois factores justificam esta desproporção. Um, como já vimos é a conversão de cortisol em cortisona. O outro é a reduzida afinidade da CBG para a cortisona pelo que as concentrações da fracção "livre" desta no soro, que é a que passa para a saliva, são cerca de 10 vezes superiores às do cortisol⁴.

O Laboratório de Endocrinologia do IPO tem usado desde 1998, um método de medição do cortisol salivar que tem sido usado como rotina no Serviço.

O presente trabalho descreve as características do método usado, define os valores de referência numa população normal, de manhã e à noite, e em populações de doentes seleccionados. São também comparados os valores do cortisol salivar com os do cortisol urinário das 24 horas na avaliação das disfunções da supra-renal.

MÉTODOS

Doseamento do cortisol urinário: O cortisol urinário foi doseado por radioimunoensaio (Cortisol – Coat-A-Count, Siemens, Los Angeles, USA). A sensibilidade do ensaio é de 5.52 nmol/L. O coeficiente de variação intra e inter-ensaio, para uma concentração de 552 nmol/L 20, é de 3.0 e 4.0%, respectivamente.

Doseamento do cortisol salivar: O doseamento do cortisol salivar foi efectuado por radioimunoensaio (CORT-CT2, CIS bio international, Gif-sur-Yvette, France), adaptado para medições em saliva, de acordo com as instruções do fabricante. Uma vez que a concentração de cortisol na saliva é muito inferior à existente no soro e na urina, o método não pode ser usado directamente, sendo necessário a preparação de uma curva de calibração entre 1 e 100 nmol/L.

A sensibilidade do ensaio é de 0.8 nmol/L. O coeficiente de variação intra e inter-ensaio, para uma concentração de 65 nmol/L, é de 4.5 e 5.5%, respectivamente.

Por razões práticas, valores inferiores ao primeiro ponto da curva de calibração foram considerados como 1 nmol/L.

Doseamento de ACTH: A ACTH foi doseada por um método quimioluminescente do tipo sandwich (ACTH-Immulite 2000, Siemens, Los Angeles, USA). A sensibilidade do ensaio é de 5 pg/mL. O coeficiente de variação intra e inter ensaio para uma concentração de 42 pg/mL é respectivamente 6.8 e 8.2%. O intervalo de referência é <46 pg/mL.

DETERMINAÇÃO DOS INTERVALOS DE REFERÊNCIA PARA O CORTISOL SALIVAR

Amostras de saliva: 247 amostras de saliva foram colhidas por voluntários saudáveis (44 homens, 34±18 anos, 7-72 anos; 83 mulheres, 31±15 anos, 5-70 anos): 125 amostras foram obtidas imediatamente antes de os voluntários irem dormir (noite) e 122 amostras obtidas imediatamente após acordarem (manhã).

Colheita de saliva: A saliva foi colhida, antes da lavagem dos dentes, para tubos Salivette tratados com ácido cítrico (Sarstedt, Numbrecht, Germany) e mantida no frigorífico, em casa do voluntário. No laboratório, as amostras foram centrifugadas (1600 g, 18°C, 10 minutos) e armazenadas

das a -20°C até se proceder ao doseamento do cortisol.

Determinação dos intervalos de referência: Por convenção, o intervalo de referência é definido como o intervalo central de 95%, ladeado pelos percentis 2.5 e 97.5. Foi utilizada a abordagem não paramétrica, através do método dos “rank numbers”, para estimar estes percentis.

O método Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance on Ranks (ANOVA) foi utilizado para testar a diferença entre sexos. Um valor de $p < 0.05$ foi considerado estatisticamente significativo.

Estudos em doentes: Foram revistos 214 processos clínicos de doentes inscritos na Consulta de Endocrinologia do IPO a quem foram pedidos doseamentos de cortisol salivar entre Janeiro de 1998 e Janeiro 2009. Destes foi possível seleccionar 116 processos por conterem informação susceptível de ser trabalhada. Estes foram agrupados nas seguintes categorias: Hiperfunções do córtex supra renal (23); Doença de Addison (2); Adenomas da supra renal sem evidência clínica de hiperfunção (26); Patologia variada não relacionada com a supra renal (60).

RESULTADOS

Determinação dos intervalos de referência para o cortisol salivar: Três amostras obtidas à noite e duas obtidas de manhã e foram consideradas “outliers” e excluídas.

O intervalo de referência estimado para o cortisol salivar é mais elevado de manhã do que à noite: manhã 2.6–60.7 nmol/L (n=120); noite 1.0–14.9 nmol/L (n=122).

Estes intervalos de referência são muito diferentes dos fornecidos pelo fabricante (manhã 6.2-38.1 nmol/L; n=28; noite 0.6–4.9 nmol/L; 18-20h; n=28;).

Não se observaram diferenças estatisticamente significativas para a concentração de cortisol salivar, entre homens, mulheres e

a totalidade do grupo (noite $p=0.471$; manhã $p=0.945$; Homens: mediana manhã = 19.3 nmol/L; mediana noite = 2.3 nmol/L; Mulheres: mediana manhã = 19.7 nmol/L; mediana noite = 2.6 nmol/L)

RESULTADOS EM DOENTES

Síndrome de Cushing: A tabela I. contém os resultados obtidos em 23 doentes com hiperfunção cortico supra renal. Todos eles tinham sintomatologia clínica sugestiva de hiperfunção supra renal e mais do que dois doseamentos de cortisol urinário

e/ou provas de supressão com dexametasona consistentes com o diagnóstico de Síndrome de Cushing.

Nas 23 medições feitas apenas 4 valores de cortisol das 23 H foram incluídos dentro dos limites da normalidade o que dá uma sensibilidade ao método de 82.6 %.

Nas 19 medições que incluíram o cortisol salivar das 9 h houve 14 que se situaram dentro dos limites da normalidade o que dá uma sensibilidade ao método de 26.3%.

Há uma correlação positiva significativa ($R=0,6$) entre os valores de cortisol salivar às 23h e os valores do cortisol urinário.

TABELA I: Doseamento de ACTH, cortisol salivar e urinário em 23 doentes com Síndrome de Cushing

Doente	Cortisol Salivar (nmol/L)		Cortisol urinário (nmol/24h)	ACTH (pg/ml)	Diagnóstico
	Manhã (9h)	Noite (23h)			
Doença de Cushing					
1	31,2	28,3	797	116	Doença de Cushing
2	32,5	26,8	990	-	Doença de Cushing
3	11,1	27,2	1126	31,9	Doença de Cushing
4	27,2	100	596	8,0	Doença de Cushing + hiperplasia supra renal macronodular
5	100	35,2	2683	24,4	Doença de Cushing Cíclica (em actividade)
6	72,7	55,0	4463	151	Doença de Cushing Cíclica (em actividade)
7	22,6	38,8	1413	-	Cushing's disease
8	-	14,1	422	28,7	Cushing's disease
9	29,7	7,1	516	43,0	Doença de Cushing Cíclica (em actividade)
10	31,2	28,6	764	63,0	Doença de Cushing
11	36,8	13,5	538	101	Doença de Cushing
Síndrome de Cushing ectópico					
12		53,3	833	63,0	Tumor neuroendócrino Pulmão
13	>100	>100	7521	620	Tumor neuroendocrino do Timo
Síndrome de Cushing por adenoma da supra-renal					
14	61,3	38,8	974	< 5	Adenoma supra renal esquerda – 5 cm
15	22,6	22,2	1228	10,8	Adenoma supra renal direita– 3cm
16	>100	48,2	337	-	Carcinoma supra renal direita
17	54,8	32,1	499	< 16	Adenoma supra renal esquerda 4 cm
18	-	28,8	588	< 5	Carcinoma supra renal esquerda – 8 cm
19	-	24,6	290	28,0	Adenoma supra renal direita – 1,5 cm
20	51,1	73,7	1904	< 16	Adenoma supra renal esquerda – 4,5 cm
21	26,9	18,7	375	-	Adenoma supra renal esquerda – 2,5 cm
22	49,2	19,2	580	< 16	Carcinoma supra renal esquerda – 5,5 cm
23	2,6	11,0	334	-	Adenoma supra renal esquerda – 2 cm

Doença de Addison: Nos dois doentes com doença de Addison os valores de cortisol salivar às 9:00 foram ambos < 1,3 nmol/l.

Adenomas da supra-renal sem evidência clínica sugestiva de hiperfunção (incidentalomas): A tabela II. contém os resultados obtidos em doentes com evidência imagiológica de massa na supra renal sem sintomas ou sinais de hipercortisolismo. Em 18 de 26 doentes o cortisol urinário e salivar

das 23 horas estava dentro dos parâmetros da normalidade. Nos doentes com doseamento elevado de cortisol urinário a avaliação subsequente foi negativa para Síndrome de Cushing. Três doentes obtiveram doseamentos elevados de cortisol urinário em mais de uma ocasião, sempre com cortisol salivar das 23 h normal. Opostamente, dois doentes com cortisol urinário normal tiveram doseamentos de cortisol salivar das 23 horas elevado.

TABELA II: Doseamento de ACTH, cortisol salivar e urinário em nódulos da supra renal, sem evidência de hiperfunção.

Doente	Cortisol Salivar (nmol/L)		Cortisol urinário (nmol/24h)	ACTH (pg/ml)	Diagnóstico
	Manhã (9h)	Noite (23h)			
Nódulos da Supra-renal					
24	8,5	1,4	158	15,0	Nódulo supra renal esquerda – 1 cm
25		15,0	77	12,0	Nódulo supra renal direita – 4 cm
26		1,8	223	11,5	Nódulo supra renal direita – 2 cm
27	30,7	33,0	102	-	Nódulo supra renal esquerda – 2 cm
28	33,0	11,3	87	-	Nódulo supra renal direita – 1,7mm
29	6,4	12,9	86	<17,5	Nódulo supra renal direita – 4,4 mm
30	11,4	4,4	43	-	Quisto hemorrágico supra renal esquerda – 2,5 cm
31	5,0	9,5	145	26,3	Nódulo supra renal esquerda – 2 cm
32	35,8	4,9	152	11,7	Nódulo supra renal esquerda – 4,2 cm
33	9,6	3,6	97	-	Nódulo supra renal direita – 2 cm
34	88,5	20,5	80	17,2	Adenoma supra renal direita – 5 cm
35	20,9	9,0	120	<10	Nódulo supra renal esquerda – 2,5 cm
36		4,6	177	<16,2	Nódulos supra renal direita e esquerda
37	11,6	3,6	152	<16,2	Nódulo supra renal direita – 1,8 cm
38		7,0	188	-	Nódulo supra renal direita – 4,4 cm
39		6,2	222	14,4	Nódulo supra renal esquerda – 2,9 cm
40		<1,3	57	-	Linfangioma da supra renal esquerda – 3,2 cm
41	11,3	3,2	103	17,1	Nódulo supra renal direita – 1,5 cm
42		8,3	83	13,2	Nódulo supra renal direita – 2,2 cm
43	13,2	5,1	138	-	Nódulo supra renal direita – 3,8cm
44	9,5	6,1	378	10,5	Adenoma supra renal direita – 5 cm
45	18,5	2,5	566	11,7	Nódulo supra renal esquerda – 2,6 cm
46		2,4	326	16,0	Nódulo supra renal esquerda – 2 cm
47	12,7	2,2	272	-	Nódulo supra renal esquerda – 2,4 cm
48	20,8	4,0	373	-	Nódulo supra renal direita – 2,7 cm
49	15,7	8,8	555	< 1,3	Nódulo supra renal esquerda – 3,5 cm

Nota: A designação “nódulo” significa que os doentes não foram operados e as dimensões foram avaliadas por imagiologia.

Doentes variados sem patologia da supra renal: Foram revistos 60 doentes variados sem patologia da supra renal, todos com medição de cortisol salivar e urinário no mesmo dia. Cinco tinham valores de cortisol urinário > 250 nmol /24h o que dá uma especificidade para este método e este cut-off de 92%. Dos 47 a quem foi medido o cortisol salivar das 23 h, seis tinham valores acima do cut-off de 14.9 nmol o que dá uma especificidade de 87%. Curiosamente, um dos pacientes com cortisol salivar elevado (19,6 e 96,5 nmol/L) e cortisol urinário normais (166 and 119 nmol/24h) tinha um MEN1 com um tumor pancreático e hiperparatiroidismo. As razões desta anomalia não foram esclarecidas.

Dos 46 a quem foi medido o cortisol salivar das 9 h, só um tinha valores acima do

cut-off de 60.7 nmol /l o que dá uma especificidade, para hiperfunção, de 98% (embora com baixa sensibilidade) e três tinham valores abaixo do valor de referência conferindo ao método uma especificidade de 91%.

DISCUSSÃO

Valores normais: Tal como referido por outros autores, não observamos diferenças entre géneros nem a existência de correlação significativa entre a concentração de cortisol salivar e a idade^{8,9,10,11,12}.

Os intervalos de referência por nós determinados para o cortisol salivar foram superiores aos referidos por outros autores (tabela III).

TABELA III: Intervalos de referência para o cortisol salivar de outros autores.

Cortisol Salivar (nmol/L)		Método	Método colheita	Referência
Manhã	Noite			
2.6–60.7 (n=120)	1.0–14.9 (n=122)	RIA/Cort-CT2	Salivette tratado com ácido cítrico	Presente trabalho
7.0–19.8 (n=58)	1.7–5.4 (n=58)	Elecsys	Salivette	Van Aken (03)
3.5–27.0 (n=197)	<6.0 (n=197)	RIA/Coat-A-Count	Salivette	Aardal (95)
4.7–32.0 (n=73)	<0.4–3.6 (n=73)	RIA/Coat-A-Count	Salivette	Raff (98)
3.6–35.1 (n=120)	<10.3 (n=120)			Hansen (03)
M 9.3–40.3 (n=120) H 10.9–40.3 (n=128)		RIA	Poliesterene tubes	Patel (04)

M: Mulheres; H: homens.

É de referir que o método e o modo de colheita de saliva utilizados não são os mesmos, estando bem documentada a influência destes dois factores nos resultados^{13,14,15}.

Como a tabela III ilustra é essencial que cada laboratório estabeleça os seus intervalos de referência.

Disfunções da supra renal: A avaliação não invasiva do cortisol “livre” circulante, através da sua excreção pela saliva, a qualquer hora e tantas vezes quantas necessárias permite o estudo do ritmo circadiano e da resposta a estímulos sem o recurso a internamento hospitalar, traumatizante e dispendioso. Isto é sobretudo útil no estudo

das hiperfunções do córtex da supra-renal uma vez que a presença de valores elevados é mais discriminante de noite, quando os valores normais são mais baixos.

Nas hipofunções a discriminação entre o normal e o patológico é melhor de manhã uma vez que os valores baixos sobressaem mais quando os valores fisiológicos são mais elevados.

Vários estudos têm convergido para a conclusão de que a medição do cortisol à noite (23:00 h – 24:00 h) é um excelente método de rastreio do hipercortisolismo tendo uma sensibilidade que pode chegar aos 93% e uma especificidade que pode che-

gar aos 100%. Por isso o doseamento do cortisol salivar pela meia noite é recomendado, a par do doseamento do cortisol urinário, pelas Guidelines para o diagnóstico de Síndrome de Cushing da Endocrine Society, americana¹⁶.

O desempenho do cortisol salivar à noite no rastreio das hiperfunções da supra renal tem sido comparável ou superior ao do cortisol urinário das 24 horas nas várias séries em que esta comparação foi feita no diagnóstico inicial ou nas recidivas pós cirurgia das hiperfunções da supra renal^{17,18}. Na nossa série a sensibilidade foi de 83% e a especificidade de 87 %.

Está bem estabelecido que alguns “incidentalomas” da supra renal podem ser funcionantes e ter implicações – osteoporose e síndrome metabólica - mesmo quando a apresentação clínica não é sugestiva¹⁹. Há algum consenso em que a definição de “funcionante” depende da presença de dois dos seguintes três critérios: cortisol urinário elevado, ACTH suprimido e não supressibilidade do cortisol sérico às 9 horas após administração de 1mg de dexametasona ao deitar¹⁹.

Dois trabalhos recentes referem que o doseamento do cortisol salivar é pouco sensível no diagnóstico do hipercortisolismo sub-clínico que ocorre em alguns doentes com incidentaloma da supra-renal^{17,20}. A nossa experiência nestes casos foi semelhante.

Dos 26 doentes com adenomas hipodensos do córtex da supra renal, sem clínica, e em que foi medido o cortisol urinário, 22 tiveram valores dentro da normalidade. Nos restantes quatro doentes os valores de cortisol urinário variaram entre 273 e 566 nmol/24 h. Em três deles em que os ensaios foram repetidos os valores de cortisol urinário foram elevados em mais de uma ocasião. Todos eles tiveram valores normais de cortisol salivar às 23 h.

Uma explicação plausível para os nossos dados, tal como para os observados por Nunes (2009) e Masserini (2009) é a possibilidade de alguns destes adenomas terem

receptores aberrantes^{17,20}. Têm sido descritos receptores aberrantes com respostas hormonais a ligandos vários: GIP (Gastric Inhibitory Polypeptide), LH/hGH, vasopressina, cisapride, nas hiperplasias macronodulares da supra-renal ACTH independentes mas também em adenomas funcionantes isolados e em muitos incidentalomas^{21,22,23}. Nestes casos, e de acordo com o estímulo em causa, pode haver períodos de hipersecreção que se reflectem no cortisol urinário, mas que não são observáveis às 23h.

Por estas razões, não é de estranhar que, em condições marginais e na ausência de um padrão fiável de diagnóstico, o doseamento do cortisol salivar tenha um valor diagnóstico limitado na caracterização dos adenomas aparentemente não funcionantes da supra-renal. Parece-nos ser legítimo concluir que o doseamento do cortisol salivar às 23 h é um excelente método na caracterização de hiperfunções da supra-renal. Os limites do seu valor foram atrás explicitados.

No entanto, na prática clínica, as maiores dificuldades no rastreio de hiperfunção corticosuprarenal provém de duas origens: 1 – Com frequência a hiperfunção supra renal é episódica, como ilustramos em três dos nove casos de Síndrome de Cushing que estudámos; 2 – Formas ligeiras de hiperfunção podem não ser detectadas, sobretudo se a secreção é intermitente e não abranje o período da noite. No primeiro caso, melhor do que o recurso a um método ideal, é a possibilidade e acompanhar os doentes com doseamentos repetidos ao longo do tempo. É evidente que a colheita do cortisol salivar à noite, pela sua comodidade, é um instrumento ideal para este tipo de rastreios. No segundo caso vale a pena procurar obter valores de cortisol salivar (ou sérico) a várias horas do dia procurando identificar algum padrão temporal, como, por ex. picos de cortisol no período pós prandial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hellhammer DH, Wust S, Kudielka BM. Salivary cortisol as a biomarker in stress research. *Psychoneuroendocrinology* 2009 Feb; 34(2): 163-71
2. Laudat MH, Cerdas S, Fournier C, Guiban D, Guillaume B, Luton JP. Salivary cortisol measurement: a practical approach to assess pituitary-adrenal function. *J Clin Endocrinol Metab* 1988 66 343 – 348
3. Clements AD, Parker CR. The relationship between salivary cortisol concentrations in frozen versus mailed samples. *Psychoneuroendocrinology*. 1998 Aug;23(6):613-6
4. Meulenberg PMM, Hofman JA. Differences between concentrations of salivary cortisol and cortisone and of free cortisol and cortisone in plasma during pregnancy and postpartum. *Clin Chem* 1990 36 70 – 75
5. Morineau G, Boudi A, Barka A, Gourmelen M, Degeilh F, Hardy N, al-Halnak A, Soliman H, Gosling JP, Julien R, Brerault JL, Boudou P, Aubert P, Villette JM, Pruna A, Galons H, Fiet J. Radioimmunoassay of cortisone in serum, urine and saliva to assess the status of the cortisol cortisone shuttle. *Clin Chem* 1997 43 1397-1407.
6. Quinkler M, Stewart PM. Hypertension and the cortisol-cortisone shuttle. *J Clin Endocrinol Metab* 2003 88 2384–2392.
7. Kathol RG, Poland RE, Stokes PE, Wade S. Relationship of 24 hour urinary free cortisol to 4-hour salivary morning and afternoon cortisol and cortisone as measured by a time-integrated oral diffusion sink. *J Endocrinol Invest* 1995 18 374 – 377.
8. Raff H, Raff JL, Findling JW. Late-Night Salivary cortisol as a screening test for Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1998 83 2681-2686
9. van Aken MO, Romijn JA, Miltenburg JA, Lentjes GWM. Automated measurement of salivary cortisol. *Clin Chem* 2003 48 1408-1409
10. Hansen AM, Garde AH, Christensen JM, Eller NH, Netterstrøm B. Evaluation of a radioimmunoassay and establishment of a reference interval for salivary cortisol in healthy subjects in Denmark. *Scand J Clin Lab Invest* 2003 63 303-310
11. Safarzadeh E, Mostafavi F, Ashtiani MTH. Determination of salivary cortisol in healthy children and adolescents. *Acta Medica Iranica* 2005 43 32-36
12. Patel RS, Shaw SR, MacIntyre H, McGarry GW, Wallace AM. Production of gender-specific morning salivary cortisol reference intervals using internationally accepted procedures. *Clin Chem Lab Med* 2004 42 1424-1429
13. Aardal E, Holm AC. Cortisol in saliva ? Reference ranges and relation to cortisol in serum. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995 33 927-932
14. Raff H, Homar PJ, Burns EA. Comparison of two methods for measuring salivary cortisol. *Clin Chem* 2002 48 207-208
15. Poll EM, Kreitschmann-Andermahr I, Langejuergen Y, Stanzel S, Gilsbach JM, Gressner A, Yagmur E. Saliva collection method affects predictability of serum cortisol. *Clin Chim Acta* 2007 382 15-19
16. Nieman LK, Biller BMK, Findling JW, Newell-Price J, Savage MO, Stewart PM, Montori VM. The diagnosis of Cushing's syndrome; An Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2008 93; 1526- 1540
17. Nunes ML, Vattaut S, Corcuff JB, Rault A, Loiseau H, Gatta B, Valli N, Letenneur L, Tabarin A. Late-night salivary cortisol for diagnosis of overt and subclinical Cushing's syndrome in hospitalized and ambulatory patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2009 94 456- 462
18. Carrasco CA, Coste J, Guignat L, Groussin L, Dugué MA, Gaillard S, Bertagna X, Bertherat J. Midnight salivary cortisol determination for assessing the outcome of transphenoidal surgery in Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2008 93 4728 – 4734
19. Chiodini I, Morelli V, Masserini B, Salcuni AS, Eller-Vainicher C, Viti R, Coletti F, Guglielmi G, Battista C, Carnevale V, Iorio L, Beck-Peccoz P, Arosio M, Ambrosi B, Scillitani A. Bone mineral density, prevalence of vertebral fractures and bone quality in patients with adrenal incidentalomas with and without subclinical hypercortisolism: an Italian multicenter study. *J Clin Endocrinol Metab* 2009 94 3207- 3214.
20. Masserini B, Morelli V, Bergamaschi S, Ermetici F, Eller-Vainicher C, Barbieri AM, Maffini MA, Scillitani A, Ambrosi B, Beck-Peccoz P, Chiodini I. The limited role of midnight salivary cortisol levels in the diagnosis of subclinical hypercortisolism in patients with adrenal incidentaloma. *Eur J Endocrinol* 2009 160 87 -92.
21. Reznik Y, Lefebvre H, Rohmer V, Charbonnel B, Tabarin A, Rodien P, Lecomte P, Bardet S,

- Coffin C, Mahoudeau J; REHOS study group. Aberrant adrenal sensitivity to multiple ligands in unilateral incidentaloma with subclinical autonomous cortisol hypersecretion: a prospective clinical study. *Clin Endocrinol* 2004 (Oxf) 61 311-9.
22. Bugalho MJM, Li X, Rao Ch V, Soares J, Sobrinho LG. Presence of a Gs- mutation in an adrenal tumor expressing LH/hCG receptors and clinically associated with Cushing's syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2000 14 50-54.
 23. Bertherat J, Contesse V, Louiset E, Barrande G, Duparc C, Groussin L, Emy P, Bertagna X, Kuhn JM, Vaudry H, Lefebvre H. In vivo and in vitro screening for illegitimate receptors in adrenocorticotropin-independent macronodular adrenal hyperplasia causing Cushing's syndrome: identification of two cases of gonadotropin/gastric inhibitory polypeptide-dependent hypercortisolism. *J Clin Endocrinol Metab* 2005 90 1302-1310.