

ANA PAULA MEIRELES DE MELO

**ATIVIDADE DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL EM PORTADORES
DE DIABETES MELLITUS TIPO 2**

BRASÍLIA

2015

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

ANA PAULA MEIRELES DE MELO

**ATIVIDADE DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL EM PORTADORES
DE DIABETES MELLITUS TIPO 2**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília

**Orientadora: Professora Doutora Angélica Amorim Amato
Co-orientadora: Professora Doutora Daniela Espíndola Antunes**

Brasília

2015

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de ensino, estudo ou pesquisa, desde que citada a fonte.

ANA PAULA MEIRELES DE MELO

**ATIVIDADE DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL EM PORTADORES
DE DIABETES MELLITUS TIPO 2**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília

Aprovado em: 11 de dezembro de 2015

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Angélica Amorim Amato (Presidente)
Universidade de Brasília

Prof. Dr. Francisco de Assis Rocha Neves
Universidade de Brasília

Prof. Dr. Nelson Rassi
Universidade Federal de Goiás

Profa. Dra. Carine Royer
Universidade de Brasília

Dedico este trabalho aos cinquenta e quatro pacientes portadores de Diabetes Mellitus tipo 2 que gentilmente cederam seu tempo e aceitaram participar deste estudo. Graças a vocês, mas principalmente, por vocês, ele foi realizado.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que zela por todos nós.

Aos meus avós maternos, Ovídio Gonçalves Meireles (i.m) e Maria Ferreira Meireles (i.m.) e aos meus avós paternos, João de Melo e Analzira Souza de Melo (i.m.), por serem exemplo de trabalho e honestidade.

Aos meus pais, José Humberto de Melo e Maria Luiza Meireles de Melo, pelo amor incondicional e incentivo. Emociona-me ver em seus olhos o mesmo entusiasmo, desde a minha primeira apresentação no jardim da infância até o momento de hoje.

À minha irmã, médica infectologista e amiga, Débora Luiza Meireles de Melo, fonte de inspiração, aprendizado e força. Sem você, eu seria metade.

À minha sobrinha, Manuela Meireles dos Santos, que há um ano chegou anossas vidas, fortaleceu nossos laços e me ensinou sobre a grandeza do amor de tia.

À minha tia, Maria Eugênia Meireles e sua família pelo amor, incentivo e por vocês me oferecerem um verdadeiro lar em Brasília.

À minhas tias, Maria Stela Meireles, Marília Gonçalves Meireles, Rosedália Gonçalves Meireles e a minha madrinha Celuta Gonçalves Meireles, pelo colo, mas também por vocês serem fonte de amor, de exemplos de força, trabalho e luta.

À minha tia e médica, Dra. Maria Mirtes de Melo por ser um exemplo de profissional e mulher, na qual sempre me espelhei.

Ao meu namorado, Agoncílio da Silva Moreira Filho que tem me proporcionado a bênção de um amor tranquilo.

À minha querida orientadora, Professora Dra. Angélica Amorim Amato, por ter acreditado na minha capacidade, pelo exemplo de humildade, paciência e generosidade em compartilhar seu conhecimento.

À minha co-orientadora, Professora Dra. Daniela Espíndola Antunes, por ter me proporcionado boas oportunidades profissionais e de aprendizado, pela confiança que sempre depositou em meu trabalho.

Ao Dr. Sérgio Vêncio, médico endocrinologista e representante da diretoria científica do Grupo DASA, pois sem a sua intercessão, este projeto não teria se concretizado.

Ao Grupo DASA (Diagnósticos das Américas S.A.) representado pelo Laboratório Atalaia por apoiar nosso projeto.

Ao biomédico, Matheus Antônio da Silva, responsável técnico pelo Laboratório Atalaia – Unidade Catedral e todos os funcionários dessa unidade, pelo profissionalismo e por tratarem com carinho os nossos pacientes.

Ao professor de estatística, Gercino Monteiro Filho, por ajudar na compreensão das análises estatísticas do projeto.

À minha amiga, médica endocrinologista, Dra. Cecília Pacheco Elias, pelo companheirismo durante as disciplinas do Mestrado, pela ajuda na seleção dos pacientes e apoio nos momentos de ansiedade.

Aos colegas da Clínica Cendi, principalmente Dr. Nelson Rassi, que têm me apoiado e acreditado em meu trabalho.

À minha secretária, Cândida Orlando Veloso por me ajudar a organizar a agenda nos últimos meses, pelo profissionalismo e amizade.

À todos os pacientes que participaram do projeto, especialmente Neide Maria França, paciente e amiga, agradeço pela generosidade.

Ao Serviço de Endocrinologia do Hospital das Clínicas da UFG, Dra. Sílvia Lêda França Moura de Paula, Dra. Estela Jatene, Dra. Monike Lourenço Dias, Dra. Cláudia Mundim e Dra. Daniela Pultrini Viggiano pelo apoio a mim e ao projeto. Tenho admiração por todas vocês.

Ao Serviço de Endocrinologia do Hospital Geral de Goiânia por terem acreditado neste projeto e permitido acesso aos Ambulatórios de Endocrinologia.

À residente de Endocrinologia do Hospital das Clínicas da UFG, Dra. Maria Izabel Pinheiro de Oliveira por ajudar na seleção dos pacientes.

Ao meu cunhado e médico Dr. Airton Ferreira dos Santos, aos meus primos, médicos, Dra. Fernanda de Souza Meireles e Dr. Luiz Fernando de Souza Meireles e os futuros médicos: Pedro Henrique Meireles Vieira e João Paulo Meireles Vieira por sermos, além de família, uma equipe que trabalha unida.

Às minhas colegas de graduação da Faculdade de Medicina da UFG, médicas Dra. Grécia Quinta Ribeiro, Dra. Manuella Barreira Amorim e Dra. Letícia Resende de Sá, por termos crescido juntas nos apoiando e nos fortalecendo.

“Minha mãe achava estudo a coisa mais fina do mundo. Não é. A coisa mais fina do mundo é o sentimento.”

(Ensino - Adélia Prado).

RESUMO

Introdução: Hiper cortisolismo leve é descrito em algumas séries de portadores de *diabetes mellitus* tipo 2 (DM2). Ela relaciona-se com a presença de resistência insulínica (RI) e Síndrome Metabólica (SM). Entretanto, alterações da atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HAA) não são consistentemente observadas entre diferentes estudos, nem estão definidos os possíveis fatores a ela associados. **Objetivo:** descrever a atividade do eixo HHA em pacientes com DM2 e correlacioná-la com variáveis clínicas e bioquímicas. **Métodos:** estudo observacional em 54 pacientes com DM2 (40 mulheres, 14 homens), selecionados em dois hospitais de Goiânia. Foram avaliados cortisol sérico e ACTH matinais, cortisol salivar noturno e cortisol sérico e salivar após dexametasona (0,5mg, 1mg e 2 mg); além de variáveis demográficas, clínicas, antropométricas [índice de massa corporal (IMC), índice de adiposidade corporal (IAC), circunferência abdominal (CA), relação circunferência-quadril (RCQ)] e bioquímicas (glicemia de jejum, HbA1c, HOMA-IR, peptídeo C, perfil lipídico). **Resultados:** a média de idade e de tempo de diagnóstico foram, respectivamente, de $58,7 \pm 8,4$ e $10,6 \pm 7,9$ anos. As medidas de tendência central do cortisol e ACTH matinais, cortisol salivar noturno e cortisol após dexametasona foram normais. Variáveis relacionadas à atividade do eixo HHA associaram-se à presença de SM (cortisol salivar noturno e cortisol sérico após 1 mg de dexametasona superiores em pacientes com SM), RCQ (ACTH matinal correlacionado negativamente com RCQ), IAC (cortisol sérico após 2 mg de dexametasona correlacionado negativamente com IAC), porém não com o controle glicêmico ou sexo. Entre os 54 portadores de DM2, 3,8% apresentaram cortisol sérico às 8h aumentado, 3,8% ACTH às 8h aumentado e 13,5% cortisol salivar às 23h aumentado. Onze pacientes falharam em suprimir o cortisol sérico após 0,5mg de dexametasona (20,4%), quatro após 1mg (7,5%) e um após 2mg (1,9%). Falha em suprimir o cortisol salivar para valores abaixo do p75 após 0,5mg, 1mg e 2mg ocorreu em 12 (23,5%), 7 (14,5%) e 7 (13,4%) pacientes, respectivamente. O cortisol salivar noturno correlacionou-se positivamente com a idade; houve associação positiva entre cortisol sérico e salivar após 1 mg e concentração sérica de peptídeo C e negativa entre cortisol salivar após 0,5 mg de dexametasona acima do p75 e IMC. A concentração média do ACTH matinal foi maior nos pacientes com doença cardiovascular do que nossem doença cardiovascular ($p=0,017$). **Conclusão:** a frequência de alterações nos resultados dos testes de atividade do eixo HHA foi semelhante à encontrada em estudos prévios. A associação entre resultados indicativos de hiperatividade do eixo HHA e variáveis relacionadas a obesidade abdominal, idade avançada e doença cardiovascular, embora não ao controle glicêmico ou diagnóstico definido de SM, sugere que alterações do eixo HHA, em portadores de DM2, possam estar relacionadas à obesidade central, envelhecimento e complicações crônicas.

Palavras-chave: eixo hipotálamo-hipófise-adrenal; *diabetes mellitus* tipo 2; Síndrome Metabólica; resistência-insulínica; Síndrome de Cushing; Hiper cortisolismo.

ABSTRACT

Background: Hypercortisolism is described in type 2 diabetes (T2D) patients in some studies and is associated with insulin resistance and metabolic syndrome (MS). However, hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) axis changes are not consistently observed in different studies and it is not clear which factors may be associated with it. The aim of this study was to describe HPA axis changes in T2D patients and correlate them with clinical and biochemical variables. **Methods:** This was an observational study involving 54 T2D patients (40 women and 14 men) recruited from two hospitals in Goiania. Serum morning cortisol and ACTH levels, night salivary cortisol levels and serum and salivary cortisol levels in response to dexamethasone (0.5 mg, 1 mg and 2 mg) were determined. Demographic, clinical, anthropometric [body mass index (BMI), body adiposity index (BAI), abdominal circumference (AC) and waist to hip ratio (WHR)] and biochemical (fasting glucose, HbA1c, HOMA-IR, C-peptide and lipid profile) were also measured. **Results:** Mean age and time from initial T2D diagnosis were, respectively, 58.7 ± 8.4 e 10.6 ± 7.9 years. Measures of central tendency of morning cortisol and ACTH, late salivary cortisol and post-dexamethasone salivary and serum cortisol were normal. Variables related to HPA axis were associated with the presence of MS (late salivary cortisol and serum cortisol post-1 mg dexamethasone were higher in patients with MS), WHR (morning ACTH levels were negatively correlated with WHR), BAI (serum cortisol post-2 mg dexamethasone was negatively correlated with BAI), but not with glucose control or gender. Among the 54 T2D patients, 3.8% had increased morning serum cortisol levels, 3.8% had increased morning ACTH levels and 13.5% had increased late salivary cortisol levels. Eleven (20.4%) patients failed to suppress serum cortisol secretion in response to 0.5 mg dexamethasone, four (7.5%) in response to 1 mg dexamethasone and one (1.9%) in response to 2 mg dexamethasone. Late salivary cortisol levels were positively associated with age; serum and salivary cortisol levels post-1mg dexamethasone were positively associated with serum C-peptide levels and salivary cortisol post-0.5 mg dexamethasone $>p75$ was negatively associated with BMI. Mean morning ACTH levels were higher in patients with cardiovascular disease than in patients without cardiovascular disease ($p=0,017$). **Conclusion:** The frequency of HPA axis tests alterations was similar to that previously described. The association of findings suggestive of HPA hyperactivity with abdominal obesity, increasing age and cardiovascular disease, but not to glycemic control or the diagnosis of MS, suggests that HPA alterations in T2D patients may be related to visceral obesity, aging and chronic complications.

Key words: hypothalamic-pituitary-adrenal axis; type 2 diabetes mellitus; metabolic syndrome; insulin resistance; cushing syndrome; hypercortisolism.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação gráfica da atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, da regulação do cortisol em tecidos-alvo e de sua atuação no núcleo da célula no receptor glicocorticoide.

Figura 2. Concentração de (A) cortisol sérico às 8h, (B) ACTH plasmático às 8h e (C) cortisol salivar às 23h dos 54 pacientes com diabetes mellitus do tipo 2 estudados.

Figura 3. Concentração de (A) cortisol sérico e (B) salivar encontrados em 54 pacientes com diabetes mellitus tipo 2 após supressão com baixas doses de dexametasona.

Figura 4. Análise simultânea do cortisol salivar às 23h e do cortisol sérico após 1 mg de dexametasona nos 52 pacientes com *diabetes mellitus* tipo 2 que realizaram ambos os testes.

Figura 5. Correlação entre a idade e o valor do cortisol salivar às 23h entre os 52 portadores de DM2 estudados e submetidos à avaliação do cortisol salivar às 23h.

Figura 6. Comparação entre as concentrações médias do peptídeo C e as concentrações do cortisol salivar após 1 mg de dexametasona divididas em quartis.

Figura 7. Comparação entre as concentrações medianas da Hemoglobina glicada e as concentrações do cortisol salivar após 1mg de dexametasona divididas em quartis.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características clínicas dos pacientes com *diabetes mellitus* do tipo 2 estudados.

Tabela 2 - Características laboratoriais dos pacientes com *diabetes mellitus* do tipo 2 estudados.

Tabela 3 - Testes de avaliação basal do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal nos pacientes com *diabetes mellitus* do tipo 2 estudados.

Tabela 4 - Resultado dos testes de supressão do cortisol sérico e salivar com baixas doses de dexametasona nos pacientes portadores de *diabetes mellitus* do tipo 2.

Tabela 5 - Análise comparativa das variáveis clínicas e laboratoriais entre os portadores de *diabetes mellitus* tipo 2 estudados de acordo com o IMC.

Tabela 6 - Atividade do eixo hipotálamo-hipófise adrenal nos portadores de *diabetes mellitus* tipo 2 estudados de acordo com o IMC e a presença de SM.

Tabela 7 - Frequência de resultados alterados nos testes de avaliação da atividade eixo HHA nos pacientes com *diabetes mellitus* tipo 2 estudados.

Tabela 8 - Análise comparativa de características clínicas e laboratoriais dos pacientes que apresentaram resultados anormais na avaliação do cortisol salivar noturno.

Tabela 9 - Análise comparativa de variáveis clínicas dos portadores de *diabetes mellitus* tipo 2, estudados de acordo com o valor do cortisol salivar em resposta à supressão com 0,5 mg de dexametasona.

Tabela 10 - Análise comparativa de variáveis clínicas dos portadores de *diabetes mellitus* tipo 2, estudados de acordo com o valor do cortisol salivar em resposta à supressão com 1 mg de dexametasona.

Tabela 11 - Análise comparativa de variáveis relativas à atividade do eixo hipotálamo-hipófise adrenal, entre os portadores de *diabetes mellitus* do tipo 2, estudados de acordo com a presença ou ausência de doença cardiovascular.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

11 β HSD1 - 11 β -hidroxiesteroide-desidrogenase tipo 1

11 β HSD2 - 11 β -hidroxiesteroide-desidrogenase tipo 2

p75- percentil 75

ACTH – hormônio adrenocorticotrófico ou corticotrofina

ACTH_{1/24} – ACTH exógeno

ADA – Associação Americana de Diabetes ou *American Diabetes Association*

AUC – área sob a curva

AVP – vasopressina

CA – circunferência abdominal

CAR – aumento matinal do cortisol ou *cortisol awakening response*

CBG – globulina transportadora de glicocorticoide

CQ – circunferência de quadril

CRH – hormônio liberador de corticotrofina

CSN – cortisol salivar noturno

DEX/CRH – teste de estímulo com dexametasona e hormônio liberador de corticotrofina

DEXA - absorciometria de duplo raio X ou *dual-energy X-ray absorptiometry*

DM – *diabetes mellitus*

DM2 – *diabetes mellitus* tipo 2

DP – desvio padrão

ELISA- *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ensaio imunoenzimático)

GLUT4 - transportador de glicose 4

GR – receptor glicocorticoide

HbA1c – hemoglobina glicada

HC – UFG – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás

HDL – lipoproteína de alta densidade

HGG – Hospital Geral de Goiânia

HHA – hipotálamo-hipófise-adrenal

HOMA- IR -modelo de avaliação da homeostase ou *homeostatic model assessment*

HPLC – cromatografia líquida de alto desempenho ou *high performance liquid chromatography*

IAC – índice de adiposidade corporal

IMC – índice de massa corporal

IQ – intervalo interquartil

LC/MS-MS – espectrometria de massa em cromatografia líquida

LDL – lipoproteína de baixa densidade

MR – receptor mineralocorticoide

PAD – pressão arterial diastólica

PAS – pressão arterial sistólica

PEPCK hepática – fosfoenolpiruvatocarboxiquinase hepática

POMC – pró-opiomelanocortina

RCQ – relação circunferência/quadril

RI – resistência insulínica

SC – Síndrome de Cushing

SM – Síndrome Metabólica

TC – tomografia computadorizada

VLDL – lipoproteína de muito baixa densidade

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO-----	19
2 REVISÃO DE LITERATURA-----	22
2.1 O EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL-----	22
2.2 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL-----	26
2.2.1 Cortisol sérico após supressão com dexametasona-----	26
2.2.2 Testes de estímulo do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal-----	28
2.2.3 Cortisol salivar noturno-----	28
2.2.4 Cortisol sérico à meia noite-----	29
2.2.5 Ritmo diurno da secreção de cortisol-----	30
2.2.6 Cortisol livre urinário-----	30
2.3 <i>DIABETES MELLITUS</i> TIPO 2-----	31
2.4 SÍNDROME METABÓLICA E RESISTÊNCIA INSULÍNICA -----	32
2.5 SÍNDROME DE CUSHING-----	35
2.5.1 Síndrome de Cushing subclínica-----	37
2.5.2 Estados de Pseudocushing-----	38
2.6 ATIVIDADE DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL NO <i>DIABETES MELLITUS</i> TIPO 2-----	41
2.6.1 Cortisol sérico após supressão com dexametasona em portadores de <i>diabetes mellitus</i> tipo 2-----	43

2.6.2 Cortisol salivar após supressão com dexametasona em portadores de <i>diabetes mellitus</i> tipo 2-----	46
2.6.3 Testes de estímulo do eixo hipotálamo-hipófise adrenal em portadores de <i>diabetes mellitus</i> tipo 2-----	47
2.6.4 Ritmo circadiano da secreção de cortisol em portadores de <i>diabetes mellitus</i> tipo 2-----	48
2.6.4.1 Cortisol salivar noturno-----	48
2.6.4.2 Cortisol sérico à meia noite-----	48
2.6.4.3 Ritmo diurno do cortisol-----	49
2.6.4.4 Cortisol sérico matinal e ACTH matinal-----	49
2.6.5 Cortisol livre urinário em portadores de <i>diabetes mellitus</i> tipo 2-----	53
2.7 METABOLISMO TECIDUAL DO CORTISOL EM PACIENTES COM <i>DIABETES MELLITUS</i> TIPO 2-----	53
3 OBJETIVOS -----	56
3.1 OBJETIVO GERAL-----	56
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS-----	56
4 MATERIAL E MÉTODOS-----	57
4.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS-----	57
4.2 SELEÇÃO DE SUJEITOS-----	57
4.2.1 Critérios de inclusão-----	57
4.2.2 Critérios de exclusão-----	58
4.3 AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL-----	58
4.4 CLASSIFICAÇÃO DAS VARIÁVEIS METABÓLICAS E DIAGNÓSTICO DE SÍNDROME METABÓLICA-----	62

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA-----	64
5 RESULTADOS-----	66
5.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS DOS PORTADORES DE <i>DIABETES MELLITUS</i> DO TIPO 2 ESTUDADOS-----	66
5.2 ATIVIDADE DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL EM PORTADORES DE <i>DIABETES MELLITUS</i> TIPO 2 ESTUDADOS-----	67
5.3 ANÁLISE COMPARATIVA DE CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS ENTRE PORTADORES DE <i>DIABETES MELLITUS</i> DO TIPO 2 ESTUDADOS DE ACORDO COM O CONTROLE GLICÊMICO-----	68
5.4 CARACTERÍSTICAS DOS PORTADORES DE <i>DIABETES MELLITUS</i> TIPO 2 ESTUDADOS DE ACORDO COM A PRESENÇA DE OBESIDADE E SÍNDROME METABÓLICA-----	69
5.4.1 Avaliação do eixo HHA entre os 54 portadores de <i>diabetes mellitus</i> do tipo 2 estudados de acordo com o IMC-----	69
5.4.2 Testes de avaliação do eixo HHA entre os 54 portadores de <i>diabetes mellitus</i> tipo 2 estudados segundo a presença de Síndrome Metabólica-----	69
5.5 AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS ENTRE PORTADORES DE <i>DIABETES MELLITUS</i> TIPO 2 DE ACORDO COM O SEXO-----	73
5.6 CARACTERÍSTICAS DOS PORTADORES DE <i>DIABETES MELLITUS</i> TIPO 2 ESTUDOS QUE APRESENTARAM RESULTADOS ANORMAIS NOS TESTES DE AVALIAÇÃO DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL-----	73
5.6.1 Características dos portadores de <i>diabetes mellitus</i> tipo 2 estudados que apresentaram rastreamento positivo para Síndrome de Cushing-----	76
5.6.2 Características dos portadores de <i>diabetes mellitus</i> tipo 2 estudados quanto as alterações do cortisol salivar noturno-----	78
5.6.3 Características dos portadores de <i>diabetes mellitus</i> do tipo 2 estudados quanto aos resultados anormais do cortisol sérico após baixas doses de dexametasona-----	80
5.6.4 Características dos portadores de <i>diabetes mellitus</i> do tipo 2 estudados que apresentaram resultados acima do p75 do cortisol salivar após baixas doses de dexametasona-----	81
5.7 ATIVIDADE DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL E COMPLICAÇÕES CRÔNICAS DO <i>DIABETES MELLITUS</i> -----	86

6 DISCUSSÃO -----	88
6.1 ATIVIDADE DO EIXO HHA E CONTROLE GLICÊMICO-----	89
6.2 ATIVIDADE DO EIXO HHA E SÍNDROME METABÓLICA/OBESIDADE VISCERAL -----	91
6.3 SUPRESSÃO DO CORTISOL COM DEXAMETASONA -----	92
6.4 CORTISOL SALIVAR NOTURNO-----	94
6.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS-----	95
7 CONCLUSÃO-----	98
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	100

1 INTRODUÇÃO

A Síndrome Metabólica (SM) foi originalmente descrita em 1988 por Reaven e recebeu o nome de “Síndrome X” ou “Síndrome de resistência insulínica”. Os componentes dessa Síndrome compreendem hipertensão arterial, dislipidemia, obesidade abdominal, disfunção endotelial e diabetes mellitus do tipo 2 (DM2) (1,2).

Características clínicas similares às da SM são observadas na Síndrome de Cushing (SC) que resulta de hipercortisolismo exógeno ou endógeno. Essas similaridades sugerem que alterações leves da secreção e ação do cortisol pudessem ser a conexão entre resistência insulínica e as demais características da SM (1-3). Essa hipótese é reforçada por estudos que demonstram hiperatividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) na SM (4-6). Adicionalmente, foi observado aumento da excreção de cortisol urinário em presença de concentração plasmática normal de cortisol em pacientes obesos (com ou sem SM), sugerindo que a depuração do cortisol esteja aumentada na obesidade (7,8).

O DM2, à semelhança da obesidade, é importante componente da SM. Entretanto, não está claro se nele há alterações da secreção, do metabolismo ou da sensibilidade tecidual do cortisol. Alguns autores descrevem a presença de SC subclínica com frequência superior à esperada em diferentes séries de diabéticos do tipo 2 submetidos a rastreamento de rotina, variando de 0,7 a 9,4% (9-17). Entretanto, ainda não está clara a contribuição específica do DM2 nas alterações do eixo HHA, uma vez que a doença frequentemente coexiste com obesidade e SM.

Os métodos empregados na avaliação da hiperatividade do eixo HHA no DM2 são vários. Verifica-se em muitos estudos que, a atividade do eixo foi determinada de forma dinâmica, pela (i) mensuração do cortisol sérico (11-33) e salivar (15,21) após supressão com baixas doses de dexametasona, (ii) pela dosagem do cortisol sérico após estimulação com ACTH (1,18,25,26,30) ou após hormônio liberador de corticotrofina (CRH) (34). Outros avaliaram o eixo HHA por observação do ritmo circadiano, incluindo (i) medida de cortisol e corticotrofina (ACTH) séricos no período matutino (1,19,23-26,29,35-40), (ii) determinação do ritmo diurno de secreção do cortisol salivar (30,36,41-45) ou salivar noturno (15,21,28,32,41,46) e (iii) avaliação da concentração urinária de cortisol livre (1,20-22,27,29,30-32,40,47,48).

A maioria destes estudos indica aumento de atividade do eixo HHA nos pacientes com DM2 (1,19,20,21,23,26,32,39), contudo alguns não encontraram essa associação (18,25,33,37), o que em parte se deve a diferentes características dos protocolos de pesquisa e dos sujeitos incluídos. Nesse sentido, há evidências de aumento de resultados falso-positivos em testes de supressão com 1mg de dexametasona na população diabética, variando a frequência entre 1,1 a 28% (11-13,15,16, 21,22,24,32).

Entretanto, não há clareza sobre quais as variáveis poderiam estar relacionadas a alterações do eixo HHA em pacientes com DM2. É possível que a ativação do HHA e a falha em suprimir a produção do cortisol em resposta a 1 mg de dexametasona decorram de outros fatores frequentemente associados ao DM2, nem sempre incluídos como variáveis de ajuste nesses estudos, tais como: distribuição central de gordura, gravidade da resistência insulínica, distúrbios do metabolismo lipídico e outros fatores de risco cardiovascular.

Estas dificuldades, em conjunto, justificam o posicionamento de sociedades científicas, como a Sociedade de Endocrinologia Norte-Americana (*Endocrine Society*), de não recomendar rastreamento rotineiro da SC em todos os pacientes com DM2 e SM, a não ser que o paciente apresente características clínicas preditivas de SC, não usuais para idade ou múltiplas e progressivas (9). Essa mesma sociedade associa o DM2 à hiperatividade do eixo HHA, mas não considera que o DM2 represente hipercortisolismo verdadeiro e sugere que o DM mal controlado possa levar a resultados falso-positivos de rastreamento para SC, incluindo supressão anormal a dexametasona e elevação leve do cortisol livre urinário (9).

Entretanto, os dados que correlacionam variáveis indicativas de controle glicêmico e resultados falso-positivos no teste de supressão com 1mg de dexametasona são controversos. Alguns autores não encontraram correlação do cortisol sérico após dexametasona (1,18,31) com controle glicêmico, ao passo que outros encontraram correlação positiva da HbA1c e glicemia de jejum com concentrações do cortisol sérico após dexametasona (12,26).

A melhor caracterização do eixo HHA em portadores de DM2 e a identificação de fatores, que correlacionem a doença à alterações da sua atividade, podem

contribuir para esclarecer os fatores associados à falha da retroalimentação negativa nessa condição, o que facilitaria a interpretação de testes diagnósticos empregados na investigação de hipercortisolismo. Adicionalmente, considerando a influência dos glicocorticoides no metabolismo dos carboidratos, poderia contribuir para inferir estratégias de tratamento do DM2 direcionadas ao eixo HHA.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL

O cortisol é o principal glicocorticoide nos seres humanos, além disso é secretado pelo córtex adrenal sob controle do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA). Durante qualquer estresse agudo, tal como: quando há uma infecção sistêmica ou dano grave ao organismo, o eixo HHA é ativado, resultando em elevadas concentrações circulantes de cortisol, sendo esse mecanismo essencial para a sobrevivência.

O núcleo paraventricular do hipotálamo contém neurônios neuroendócrinos que sintetizam vasopressina (AVP) e hormônio liberador de corticotrofina (CRH). Esse é transportado para a hipófise anterior por meio do sistema venoso porta-hipofisário localizado na haste hipofisária, e o AVP é transportado pelos axônios para a hipófise posterior. Ambos atuam sinergicamente para estimular a secreção da corticotrofina (ACTH), que está estocado na hipófise anterior. O ACTH alcança o córtex adrenal pela corrente sanguínea e rapidamente estimula a secreção do cortisol. O aumento da concentração sérica do cortisol leva a inibição da secreção de CRH (Figura 1). Cerca de 90% do cortisol presente na circulação sistêmica estão ligados à globulina transportadora de glicocorticoide (CBG) e 5 a 6%, à albumina, mas é o cortisol livre que exerce função biológica (49,50).

A atividade do eixo HHA é caracterizada também pela presença do ritmo circadiano, havendo maior secreção de cortisol pela manhã, antes do despertar e menor à meia-noite. Variações diurnas desse ritmo podem ocorrer por mudanças na luminosidade, atividade física, estresse, assim como em algumas condições patológicas. Além disso, diferentes estressores podem levar a secreção de mediadores inflamatórios, tais como: fator de necrose tumoral α e interleucina-6, que podem contribuir para ativação do eixo HHA (49,50).

O glicocorticoide exerce suas ações, principalmente, por ligação ao receptor glicocorticoide (GR), um receptor nuclear membro da família dos receptores

esteroides (50) (Figura 1). Por ser assim, esse mecanismo de sinalização modula a expressão de vários genes (Quadro 1).

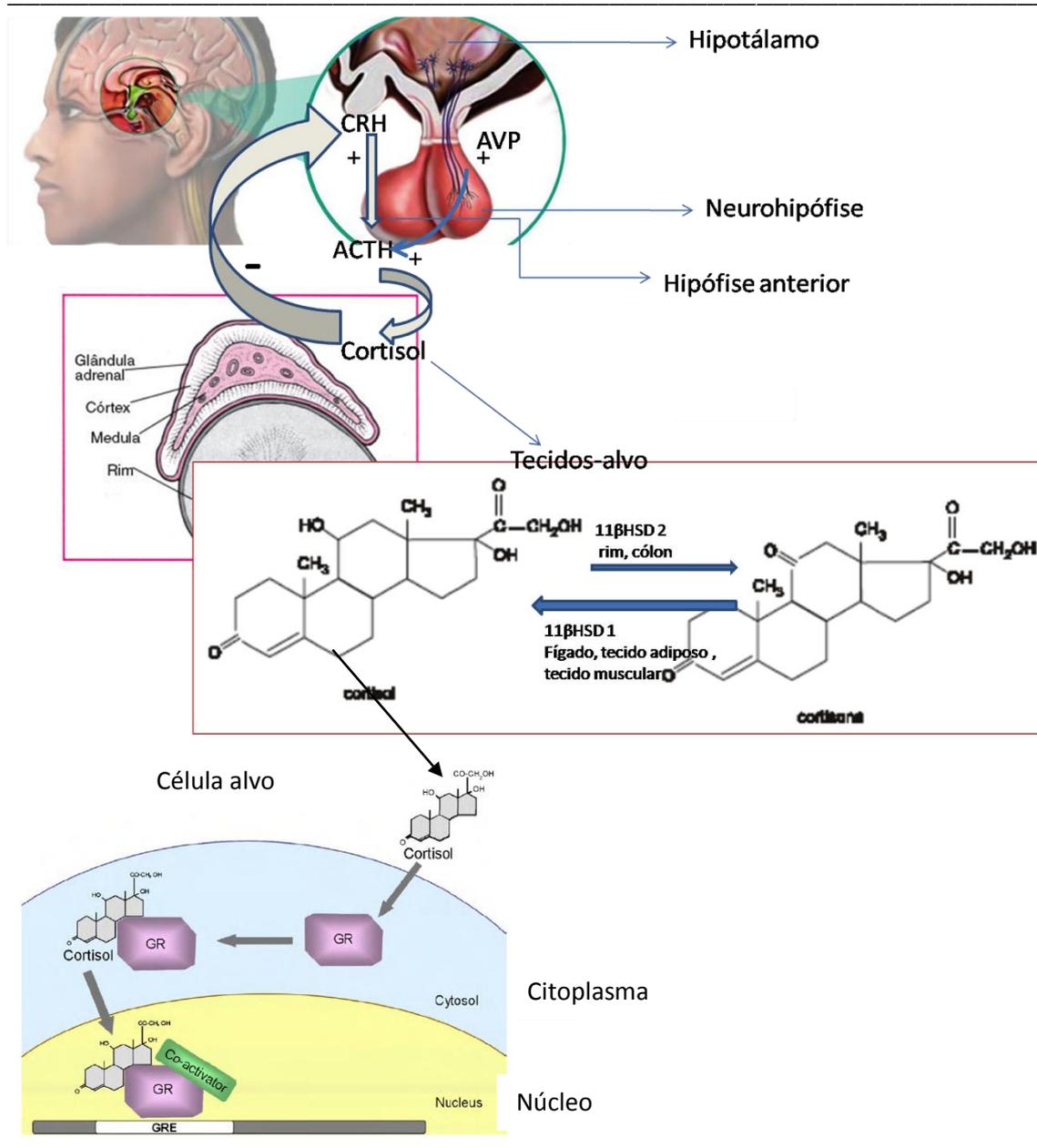


Figura 1. Representação gráfica da atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, da regulação do cortisol em tecidos-alvo e de sua atuação no receptor glicocorticoide. CRH: hormônio liberador de corticotrofina; AVP: Vasopressina; ACTH: hormônio corticotrófico ou corticotrofina; + = ação estimulatória; - = ação inibitória; 11βHSD1: 11βhidroxiesteroidedesidrogenase do tipo1; 11βHSD2: 11βhidroxiesteroidedesidrogenase do tipo 2; GR: Receptor glicocorticoide; GRE: elemento de transcrição gênica - adaptado de referências: 3 e 50.

Quadro 1 - Genes-alvo do receptor glicocorticoide.

Genes regulados positivamente pelos glicocorticoides	Função
Leptina	Homeostase da energia
Glicose-6-fosfatase	Gliconeogênese
Angiotensinogênio	Precusores da angiotensina I, vasoconstricção, balanço eletrolítico
Fosfoenolpiruvatocarboxiquinase (PEPCK) hepática	Gliconeogênese
GLUT4 (transportador de glicose 4)	Transportador de glicose encontrado no tecido adiposo e músculo estriado (apesar do aumento de sua expressão, há redução de sua migração para superfície celular)
Lipase lipoproteica	Metabolismo lipídico
Lipase hormônio sensível	Lipólise
Receptor VLDL	Metabolismo lipoproteico
Proteína ligadora de ácido graxo no adipócito (aP2)	Metabolismo e transporte lipídico intracelular
Tirosina aminotransferase	Catabolismo de aminoácidos
Triptofano-oxigenase	Catabolismo de aminoácidos
Genes regulados negativamente pelos glicocorticoides	Função
CRH	Regulação do eixo HHA
Pró-opiomelanocortina (POMC)	Regulação do eixo HHA e controle do apetite
Fator de necrose tumoral- α	Resposta pro - inflamatória
Molécula de adesão intracelular tipo 1 (ICAM-1)	Resposta pro - inflamatória
Interleucina 6	Resposta pro- inflamatória
Adiponectina	Aterogênese e sinalização insulínica
Prolactina	Lactação
Osteocalcina	Metabolismo ósseo
Colagenase	Matriz proteica

O glicocorticoide atua sobre a resposta imunológica, inflamatória, metabolismo energético, homeostase cardiovascular e resposta geral ao estresse. É ainda essencial, juntamente com o sistema nervoso simpático, na resposta ao estresse agudo, porque leva ao aumento da mobilização das reservas energéticas, promovendo as habilidades de “lutar ou correr”. A ação glicocorticoide resulta em aumento da lipólise e da gliconeogênese hepática, diminuição da captação de glicose e da sensibilidade insulínica, degradação proteica em muitos tecidos, tais como: músculo, osso, pele, além de antagonizar a ação anabólica do hormônio de crescimento, hormônios tireoidianos, insulina, esteroides sexuais, com objetivo de oferecer oxigênio e nutrientes aos órgãos nobres de uma forma rápida. Essas ações são compatíveis com os efeitos da exposição crônica ao glicocorticoide, que resulta em aumento dos estoques de triglicérides no tecido adiposo, diferenciação de pré-adipócitos e acúmulo de gordura visceral, hiperglicemia persistente, dislipidemia, hipertensão arterial sistêmica, resistência insulínica, miopatia, osteoporose, aumento de risco de infecções e infertilidade (49).

A capacidade do glicocorticoide de se ligar ao receptor, mas também de exercer sua ação em diferentes tecidos é controlada pelas isoenzimas 11 β -hidroxiesteroide-desidrogenase tipo 1 (11 β HSD1) e tipo 2 (11 β HSD2). A 11 β HSD2 converte o glicocorticoide ativo (cortisol) em glicocorticoide inativo (cortisona), essa é expressa predominantemente no rim e cólon. A afinidade do cortisol e da aldosterona pelo receptor mineralocorticoide (MR) é a mesma, entretanto o papel dessa enzima consiste em impedir a ativação do MR pelo cortisol. A 11 β HSD1, por sua vez, apresenta atividade bidirecional na interconversão cortisol-cortisona, além de ser expressa no tecido adiposo, muscular e hepático. No tecido adiposo e hepático, promove, predominantemente, a conversão da cortisona em cortisol, quando necessário também amplifica a ação do glicocorticoide nesses tecidos (Figura 1) (50).

2.2 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL

A avaliação do eixo HHA é essencial para a investigação da presença de sua hipo e hiperatividade e pode ser realizada em condições basais ou em resposta a fatores que estimulam ou suprimem os componentes do eixo. A avaliação basal inclui a determinação da concentração circulante de cortisol matinal (às 8h, cortisol total), noturno (às 23h, cortisol livre) ou em vários horários diferentes do dia, nesses dois últimos casos com o objetivo de caracterizar o ritmo circadiano de secreção do cortisol. Inclui ainda a dosagem de ACTH plasmático às 8h, a dosagem do cortisol livre em amostra de urina de 24h (uma medida integrada da secreção diária de cortisol) ou a dosagem de metabólitos de cortisol que refletem seu metabolismo tecidual. Entre os testes dinâmicos estão aqueles que avaliam a concentração circulante de cortisol em resposta a supressão do eixo com doses suprafisiológicas de glicocorticoide, ou seja, que avaliam o efeito do glicocorticoide em inibir, por retroalimentação negativa, a secreção do CRH e ACTH e, assim, do cortisol. Há também os testes de estímulo da hipófise (hipoglicemia induzida por insulina ou CRH exógeno) e da adrenal (ACTH exógeno).

2.2.1 Cortisol sérico após supressão com dexametasona

Em pacientes que não apresentam hipercortisolismo a administração de doses suprafisiológicas de glicocorticoides resulta em supressão da síntese de ACTH, por conseguinte, de cortisol. Na SC endógena, entretanto, há falha dessa supressão. O teste de supressão com 1 mg de dexametasona é utilizado para rastreamento de SC e o valor do cortisol abaixo de 1,8 µg/dL para descartar a doença é recomendado por ser mais sensível (93 a 100% de sensibilidade, embora com baixa especificidade, de 20 a 26% (9,51).

A dosagem do cortisol sérico pode ser feita por imunoenaios, tais como: radioimunoensaio, eletroquimioluminescência, imunoenaios enzimáticos ou métodos cromatográficos, como HPLC (cromatografia líquida de alto desempenho)

ou LC /MS-MS (espectrometria de massa em cromatografia líquida); a concentração circulante de cortisol tende a ser menor quando se empregam os métodos cromatográficos. O método LC/MS-MS é o mais específico por ser capaz de diferenciar esteroides e seus metabólitos, porém seu custo é mais elevado e sua execução demanda mais tempo. Os imunoensaios são mais utilizados, pois apresentam menor custo e execução mais rápida. Destaca-se ainda que, os valores de referência variam entre os métodos e sugere-se que os resultados de cada método sejam padronizados de acordo com o método LC/MS-MS (52).

Variações da absorção e metabolismo da dexametasona podem influenciar o resultado dos testes de supressão com esse medicamento. Algumas drogas podem aumentar a depuração hepática enzimática da dexametasona (Quadro 6), além disso, condições, como insuficiência renal e hepática podem reduzir sua depuração (9). Mas também há variações interindividuais nas concentrações séricas da dexametasona após sua ingestão oral (15).

Quadro 6 - Drogas que podem interferir na avaliação do cortisol sérico e no teste de supressão com dexametasona.

Drogas que aceleram o metabolismo da dexametasona

Anticonvulsivantes: fenobarbital, fenitoína e carbamazepina

Rifampicina

Pioglitazona

Drogas que comprometem o metabolismo da dexametasona

Itraconazol

Ritonavir

Fluoxetina

Diltiazem

Cimetidina

Drogas que aumentam a CBG e resultam em cortisol sérico falsamente elevado

Estrogênio

Mitotano

Adaptado de referência 9

2.2.2 Testes de estímulo do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal

O teste de estímulo combinado com dexametasona e hormônio liberador de corticotrofina (DEX/CRH) é muito utilizado para avaliar o eixo HHA, mas também para avaliar a sensibilidade da resposta hipofisária à estimulação hipotalâmica em estados de pseudocushing ou quando há dúvidas diagnósticas decorrentes de resultados contraditórios nos testes de rastreamento da SC. Ele é realizado inicialmente pela administração de 0,5 mg de dexametasona de 6 em 6 horas por 48h, começando ao meio dia e depois realiza-se a administração endovenosa de 1 µg/kg de CRH às 8h (2 horas após a administração da última dose de dexametasona). Usualmente é aceito que cortisol plasmático maior do que 1,4 µg/dL (> 38 nmol/L) ocorre em pacientes com SC (51).

O teste apresenta custo elevado, sua execução demanda bastante tempo, também é necessário empregar um método de alta sensibilidade e precisão na dosagem sérica de cortisol. Além disso, parece não apresentar vantagens quando comparado ao teste de supressão com 2 mg de dexametasona. O teste DEX/CRH tem especificidade em torno de 60% e sensibilidade em torno de 98%, ao passo que o teste de supressão com 2 mg de dexametasona tem especificidade em torno de 70% e sensibilidade de 96%, além de apresentar menor custo e execução mais fácil (9).

O teste de estímulo com ACTH não é utilizado no rastreamento de SC, mas sim na investigação diagnóstica da insuficiência adrenal, uma vez que seu objetivo consiste em estimular o córtex adrenal, por meio da administração de 250 µg de ACTH exógeno (ACTH_{1/24}) seguida da dosagem sérica de cortisol.

2.2.3 Cortisol salivar noturno

A atividade do eixo HHA se caracteriza pela presença do ritmo circadiano, caracterizado por picos de concentração de cortisol pela manhã, antes do despertar e menores concentrações à meia-noite. Por ser assim, a avaliação do cortisol salivar noturno, que tem o objetivo de avaliar o nadir da concentração de cortisol, é empregada como rastreamento da SC, em que se esperam níveis elevados. A dosagem do cortisol salivar é conveniente, confiável, apresenta sensibilidade e

especificidade em torno de 90-96% e 96-100%, respectivamente. Não é invasiva, consome menos tempo, tem uma coleta mais fácil, pois pode ser realizada pelo paciente e não gera estresse como a punção venosa (51).

A saliva contém cortisol estável, não afetado por alterações na CBG (como as alterações que ocorrem com uso de anticoncepcional oral e na gestação) e o impacto de micro lesões que levam a pequenos sangramentos na mucosa oral é desprezível (53). O tabagismo tem sido relacionado ao aumento da concentração de cortisol salivar(54,55).

Os imunoenaios são os métodos mais utilizados para dosagem de cortisol salivar (radioimunoensaio, imunoenzimático, quimioluminescência) porque apresentam menor custo, execução mais simples e demandam pequeno volume de saliva. Os valores de referência são diferentes de acordo com cada método ou população estudada, torna-se importante estabelecer um valor de referência local que inclua pacientes com estados pseudocushing, além de realizar validação institucional em vez de utilizar valores de referência do fabricante (51,54,55). O método mais específico para sua dosagem é o LC/MS-MS,mas não há vantagens em utilizá-lo para rastreamento ou avaliação do eixo HHA, devido ao alto custo e tempo necessário para realizá-lo (53,55).

2.2.4 Cortisol sérico à meia noite

Cortisol sérico à meia noite superior a 7,5µg/dL (207nmol/L) tem alta sensibilidade e especificidade de 96-100% e 88-100%, respectivamente, para diagnosticar SC (9). Medida única de cortisol sérico à meia noite inferior a 1,8µg/dL (50nmol/L) exclui SC. Entretanto essa avaliação é pouco utilizada na prática clínica por não ser livre da influência do estresse e o paciente precisar internar por 48h para diminuir a chance de resultados falso-positivos (51).

2.2.5 Ritmo diurno da secreção de cortisol

O cortisol salivar também é utilizado em estudos para avaliar o ritmo diurno de secreção cortisol, pois a coleta de amostra de saliva é fácil e pode ser feita seis a sete vezes no mesmo dia sem representar estresse para o paciente. O cortisol, geralmente, aumenta nos primeiros trinta minutos após o despertar, o que é chamado de aumento matinal do cortisol (CAR, *cortisol awakening response*). Desse período até 2 horas após o despertar ocorre o chamado *declínio precoce do cortisol* e de 2 horas após o despertar até o horário de dormir, o *declínio tardio do cortisol* (38,41).

2.2.6 Cortisol livre urinário

A dosagem do cortisol livre urinário, que consiste em uma avaliação integrada da secreção diária do cortisol, não sofre influência das concentrações séricas da CBG. Resultados quatro vezes acima do valor de referência são altamente sugestivos de SC, ao passo que elevações leves foram descritas em pacientes com depressão maior, ansiedade crônica e alcoolismo. O método apresenta sensibilidade em torno de 90 a 98% e a especificidade varia de 45 a 95% para diagnóstico de SC (51).

O valor de referência depende do método empregado. Os imunoenaios são mais utilizados, mas são influenciados pelo uso de glicocorticoides sintéticos, assim quando há essa suspeita o método mais específico é a HPLC. Substâncias, como carbamazepina, digoxina e fenofibrato podem levar a falsas elevações do cortisol livre urinário (9,51).

2.3 DIABETES MELLITUS TIPO 2

O *diabetes mellitus* (DM) constitui-se em uma doença de crescente importância em saúde pública devido ao aumento rapidamente progressivo de sua frequência. Atualmente, a prevalência da doença no Brasil é estimada em 13,5%. O DM tipo 2 (DM2) é responsável por 90 a 95% dos casos de diabetes e ocorre pela interação entre fatores genéticos e comportamentais que resultam em distúrbio progressivo com variáveis graus de resistência insulínica (RI) e disfunção da secreção da insulina. Os fatores de risco associados ao DM2 são, em sua maioria, componentes da Síndrome Metabólica (SM), tais como: hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia e obesidade (56,57) (Quadro 2).

Quadro 2 - Fatores de risco associados à ocorrência do *diabetes mellitus* tipo 2.

-
- Idade ≥ 45 anos
 - História familiar de DM (pais, filhos e irmãos)
 - Sobrepeso e/ou obesidade ($IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$)
 - Sedentarismo
 - HDL baixo ou triglicérides elevados
 - Hipertensão arterial sistêmica
 - *Diabetes mellitus* gestacional prévio
 - Macrossomia ou história de abortos de repetição ou mortalidade perinatal
 - Uso de fármacos hiperglicemiantes: glicocorticoides, tiazídicos, betabloqueadores.
-

IMC=índice de massa corporal, HDL= lipoproteína de alta densidade (adaptado de referência 56)

Os critérios diagnósticos do DM2 são: (i) sintomas de poliúria, polidipsia e perda ponderal acompanhados de glicemia ocasional $> 200 \text{ mg/dL}$, (ii) glicemia de jejum $\geq 126 \text{ mg/dL}$, (iii) glicemia de 2 horas após sobrecarga de 75 gramas de glicose $\geq 200 \text{ mg/dL}$, (iv) hemoglobina glicada (HbA1c) $\geq 6,5\%$ (58).

São escassas as informações acerca da prevalência de SM ou de complicações e outras comorbidades do DM2 na população brasileira. Estima-se que a hipertensão arterial seja cerca de duas vezes mais prevalente na população diabética, a cegueira seja 6,1 vezes mais prevalente. O risco de doença arterial seja de 1,7 a 3,7 vezes maior e o risco de amputação de membros inferiores cerca de 16 vezes maior em relação à população sem DM (56).

2.4 SÍNDROME METABÓLICA E RESISTÊNCIA INSULÍNICA

Em 1988, Reaven propôs a denominação de Síndrome X ou Síndrome de Resistência Insulínica que origina as atuais definições de SM (59), para alterações que englobam simultaneamente alterações do metabolismo da glicose, aumento das partículas lipoproteicas de muito baixa densidade (VLDL), diminuição de lipoproteína de alta densidade (HDL), obesidade ou adiposidade central e hipertensão arterial. A proposta inclui o aumento da resistência insulínica (RI) como fator essencial que leva a essas alterações e ao aumento do risco cardiovascular (56).

Verifica-se que há um aumento da prevalência da SM e da discussão acerca desse tema em todo o mundo, porém não existem critérios diagnósticos uniformemente aceitos. Diferentes organizações têm suas próprias definições de SM conforme apresentado no Quadro 3.

Quadro 3 - Critérios para diagnóstico de Síndrome Metabólica

	IDF ^a (60)	OMS ^b (61)	NCEP ^d (62)
Obesidade	Circunferência abdominal > 80cm na mulher e >90cm no homem e/ou IMC>30/km ² *	Relação cintura/quadril > 0,9 em homens e > 0,85 em mulheres e/ou IMC > 30 kg/m ²	Circunferência abdominal > 102 cm em homens e > 88 cm em mulheres
Glicose	>100mg/dL ou tratamento para DM	Diabetes, intolerância glicídica ou resistência insulínica comprovada pelo <i>clamp</i> **	≥110mg/dL
Triglicerídeos	≥150mg/dL ou em tratamento para dislipidemia	≥150mg/dL ^c	≥150mg/dL
HDL	<40mg/dL no homem, <50mg/dL na mulher ou em tratamento para dislipidemia	<35mg/dL no homem, <39mg/dL na mulher ^c	< 40 mg/dL em homens e < 50 mg/dL em mulheres
Pressão arterial	≥130x85mmHg ou em tratamento para HAS	≥ 140x90 mmHg, ou tratamento para HAS	≥130x85mmHg
Outros		Excreção urinária de albumina ≥ 20 mcg ou relação albumina/creatinina ≥ 30 mg/g	

^a Federação Internacional de Diabetes; * Componente obrigatório mais dois dos demais componentes;

^b Organização Mundial de Saúde; **Componente obrigatório mais dois fatores; ^c Tanto triglicerídeos elevados ou HDL baixo constituem apenas um fator pela OMS; ^d *National Cholesterol Education Program*- presença de pelo menos 3 dos componentes citados.

A RI é definida como presença de resposta biológica diminuída à insulina endógena ou exógena (56) e pode ocorrer em condições fisiológicas, tais como: puberdade e gravidez e em condições patológicas, principalmente no DM2 e SM, mas também em outras condições, como na Síndrome do Ovário Policístico e doença hepática gordurosa não alcoólica (57). São fatores descritos como promotores do aumento da RI e do desenvolvimento ou evolução do DM2 (i) herança genética, (ii) fatores ambientais, tais como: sedentarismo, estresse, dieta inadequada, (iii) lipotoxicidade que ocorre por acúmulo de gordura visceral (fígado,

músculo e pâncreas), levando ao aumento de ácidos graxos livres circulantes e no meio intracelular (iv) elevação da produção de citocinas inflamatórias (fator de necrose tumoral alfa e interleucina 6) pelo tecido adiposo, (v) diminuição de adiponectina (56,57).

O aumento da quantidade de gordura corporal apresenta impacto negativo sobre a sensibilidade insulínica tanto pela maior liberação de ácidos graxos livres na circulação quanto por fatores secretados pelo tecido adiposo subcutâneo (adipocinas, adiponectina e leptina) e visceral (fator de necrose tumoral alfa, interleucina 6, proteína C reativa e glicocorticoides). Adipocinas liberadas pela gordura visceral têm, via veia porta, acesso ao fígado, exercendo efeito direto e maior sobre o metabolismo de carboidratos e lipídios. Esses aspectos justificam a ênfase clínica na medida da circunferência abdominal, uma vez que a distribuição de gordura central está diretamente relacionada ao aumento do risco cardiovascular e às características da SM (56).

Outra particularidade do tecido adiposo visceral é sua resposta peculiar aos glicocorticoides. Esse tecido expressa altos níveis de GR e parece haver, também, elevada interconversão local do glicocorticoide inativo (cortisona) em glicocorticoide ativo (cortisol) em razão do aumento da atividade da enzima 11β -HSD1. A relação entre a atividade da 11β -HSD1 e distúrbios metabólicos é claramente evidenciada por estudos envolvendo roedores. O aumento seletivo da atividade dessa enzima no tecido adiposo em camundongos resulta em características da SM, enquanto o animal com deleção homozigota do gene que codifica a 11β -HSD1 apresenta proteção contra as características da SM (3,49). Destaca-se outro aspecto, a similaridade clínica entre a SM e o hipercortisolismo endógeno ou exógeno (Síndrome de Cushing), que sugere a associação entre a atividade dos glicocorticoides e a fisiopatologia da resistência insulínica observada na SM e no DM2.

2.5 SÍNDROME DE CUSHING

A Síndrome de Cushing (SC) é condição clínica que resulta da exposição a excesso de glicocorticoide, de causa exógena (prescrição médica ou uso indevido de doses altas de glicocorticoide) ou endógena (por excesso de ACTH ou aumento primário da produção de cortisol pela adrenal). Sua incidência é de 2 a 3 casos por um milhão de habitantes por ano, segundo dados de estudos em populações européias. (9).

Algumas características clínicas na SC são únicas e consideradas discriminatórias ou preditivas. Essas incluem pletora facial, fragilidade capilar (fácil surgimento de hematomas na pele), fraqueza da musculatura proximal e pélvica, estrias violáceas, mas também osteoporose sem explicação evidente. Outras características clínicas da Síndrome não são tão específicas e podem existir em outras doenças. Elas incluem ganho de peso, acúmulo de gordura visceral, depressão, fadiga, *diabetes mellitus*, hipertensão arterial, irregularidades menstruais, entre outras (9).

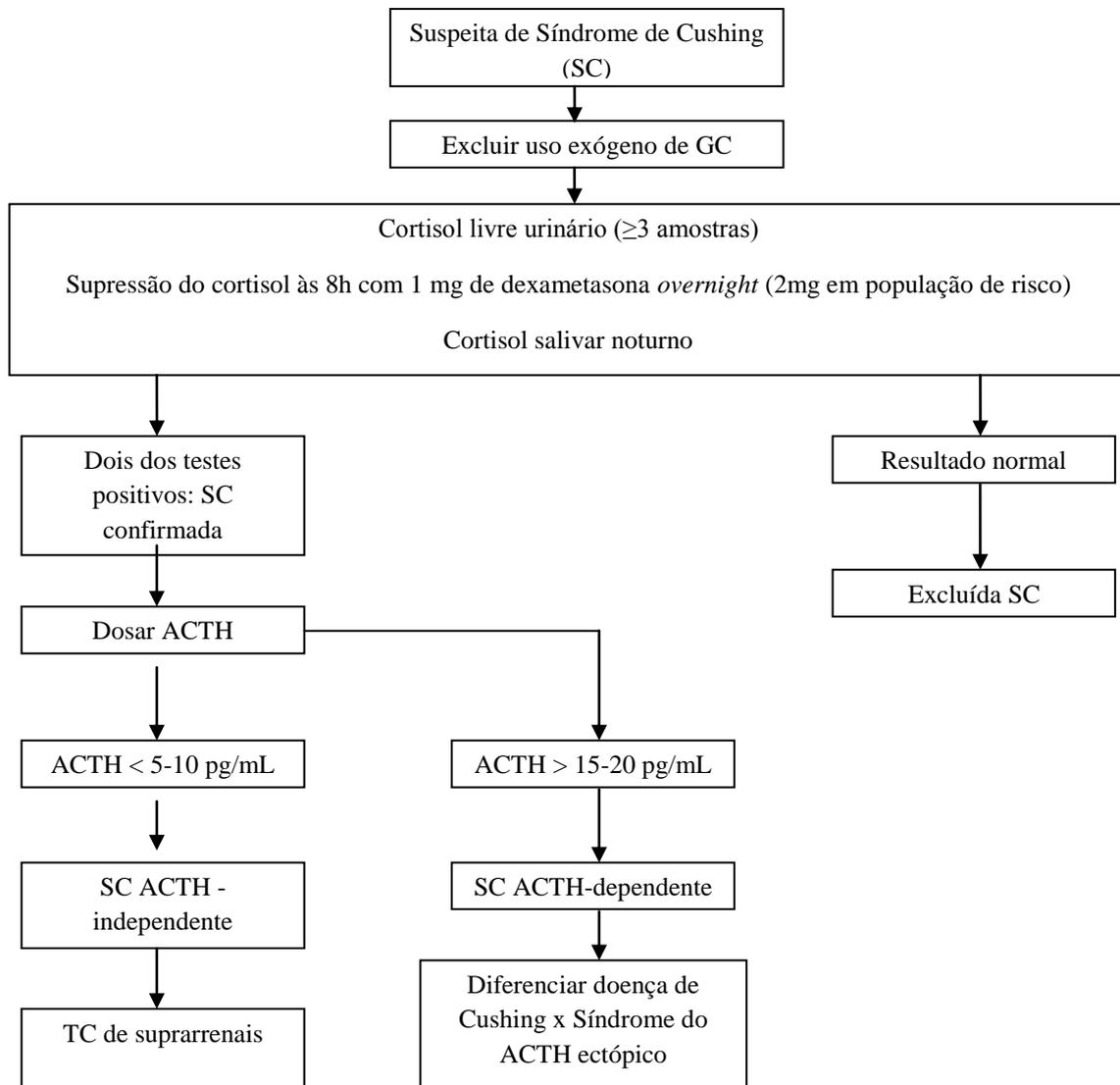
Intolerância à glicose e *diabetes mellitus* são observadas em cerca de 80% dos pacientes com SC (17). Entretanto, o rastreamento de SC não é realizado em todos os diabéticos. Atualmente, a recomendação é de que o rastreamento seja realizado em pacientes que apresentem características clínicas preditivas, múltiplas ou progressivas de SC ou quando há características clínicas não usuais para a idade do paciente, como hipertensão arterial, *diabetes mellitus*, osteoporose (9). Havendo indicação de rastreamento, o primeiro passo (Quadro 4) é excluir exposição exógena a glicocorticoides. Em seguida, deve-se realizar rastreamento com dois dentre os três testes a seguir:

(i) Dosagem de cortisol livre urinário na urina de 24h: no mínimo em duas e idealmente 3 amostras independentes, com valores de referência variáveis de acordo com o método, mas considerados indicativos de SC quando estiverem acima de 4 vezes do limite superior da referência.

(ii) Teste de supressão com dose baixa (1mg) de dexametasona: dosagem de cortisol às 8h, após administração de dexametasona às 23h da noite anterior; valores abaixo do ponto de corte de 1,8µg/dL descartam hipercortisolismo.

(iii) Cortisol salivar noturno (23 a 24h): valores de referência variáveis de acordo com laboratório e método de dosagem.

A presença de dois entre estes três testes positivos sugere a presença de hipercortisolismo. O passo seguinte é diferenciar entre SC ACTH dependente (em sua maioria determinada por Doença de Cushing ou adenoma hipofisário produtor de ACTH) e ACTH independente (origem adrenal primária). O fluxograma com as recomendações de rastreamento e diagnóstico etiológico está apresentado no Quadro 4.

Quadro 4 - Algoritmo para diagnóstico de Síndrome de Cushing (adaptado de 9)

ACTH: hormônio adrenocorticotrófico, TC: Tomografia computadorizada.

2.5.1 Síndrome de Cushing subclínica

Há condições de hipercortisolismo confirmado laboratorialmente, porém não acompanhadas de sinais e sintomas discriminatórios da SC. Essa condição é denominada SC subclínica. Ela é encontrada com maior frequência em estudos realizados com populações de alto risco para hipercortisolismo, incluindo pacientes com incidentaloma adrenal, *diabetes mellitus*, obesos, com história de osteoporose, fraturas, hirsutismo e irregularidade menstrual. Segundo Debono e cols (63) cerca de

30% dos pacientes com incidentaloma adrenal apresentam hipercortisolismo subclínico. Leibowitz e cols (10), Terzolo e cols (12) e Chiodini e cols (16) encontraram prevalência de 2,3%, 0,7% e 9,4% de SC subclínica, respectivamente, em 85, 813 e 289 pacientes com DM2. Entre pacientes com osteoporose e fratura vertebral cerca de 5% foram diagnosticados com hipercortisolismo subclínico (64).

2.5.2 Estados de Pseudocushing

Além da existência da SC subclínica, que dificulta o diagnóstico da SC, tem ainda condições clínicas em que há o aumento da atividade do eixo HHA sem haver hipercortisolismo confirmado, ou seja, na ausência de SC (Quadro 5). Essa condição é denominada por alguns autores como estado de pseudocushing (20,65). Embora em algumas delas possa haver características sugestivas de SC, em outras essas características não são observadas (Quadro 5).

Quadro 5 - Condições associadas a aumento da atividade do eixo HHA na ausência de Síndrome de Cushing.

Condições que podem apresentar algumas características clínicas da SC
Obesidade ^{7,8} / Síndrome Metabólica ^{2,3,65,66,67}
Alcoolismo ^{9,71}
Depressão e outras doenças psiquiátricas ^{9,56,68,69}
<i>Diabetes Mellitus</i> ^{1,9,19,21,23,26,32,39}
Gravidez ^{9,70}
Condições que não apresentam características clínicas da SC
Estresse (cirurgia, dor, hospitalização) ⁶⁵
Anorexia nervosa e desnutrição ⁶⁵
Exercício crônico intenso ⁹
Amenorreia hipotalâmica ⁹
Aumento da CBG (globulina ligadora de cortisol) – aumenta cortisol sérico, não salivar ou urinário ⁹

Adaptado de referência 9

A diretriz para o diagnóstico de SC, publicada pela Sociedade de Endocrinologia Norte-Americana (*Endocrine Society*) em 2008, não menciona a SM como condição associada ao aumento da atividade do eixo HHA na ausência de SC, porém menciona a obesidade mórbida e o DM descompensado (9). Cabe destacar, entretanto, que nem todos os estudos comprovam a associação de alterações do eixo HHA com descompensação do DM (24,27). Em relação à associação entre a obesidade e a atividade do eixo HHA, observa-se aumento da depuração metabólica do cortisol, que, por sua vez, poderia levar a estímulo do eixo HHA (8,65). Acredita-se que o aumento da depuração metabólica do cortisol nos obesos seja devido à diminuição da síntese de CBG e a alta densidade GR, sobretudo nos adipócitos viscerais. Há também aumento da atividade da enzima 11 β HSD1 no tecido adiposo subcutâneo de forma que, quanto maior a quantidade de gordura, maior a depuração metabólica de cortisol, portanto, maior o estímulo ao eixo HHA (3,7,50,65).

Pasquali e cols (66), em um estudo clínico, realizaram testes de supressão com baixas doses de dexametasona em 13 homens não obesos e 36 obesos. Eles observaram que a resistência do cortisol à supressão com dexametasona nos homens obesos se correlaciona positivamente com o valor da circunferência abdominal. Em outro estudo clínico, Misra e cols (67) mostraram aumento do cortisol livre urinário e da média do cortisol sérico noturno em 15 adolescentes obesos comparados a 15 adolescentes não obesos. Verificaram também que, o cortisol sérico noturno correlaciona-se positivamente com a adiposidade central avaliada por absorciometria de duplo raio X (DEXA ou *dual-energy X-ray absorptiometry*) e RI avaliada por HOMA-IR. Esses dados, em conjunto, sugerem que o aumento da atividade do eixo HHA possa estar relacionado à presença da adiposidade central, não apenas ao grau de obesidade avaliado pelo IMC.

O alcoolismo é outra condição considerada como estado de pseudocushing. Nesse contexto, a atividade do eixo HHA parece ser influenciada pela duração do alcoolismo, predisposição genética, sensibilidade do indivíduo ao álcool e ao cortisol, assim como o período de abstinência. Alguns autores sugerem que o hipercortisolismo relacionado ao alcoolismo seria induzido pelo estresse repetido de múltiplos episódios de abstinência subaguda, uma vez que a parada abrupta da ingestão de álcool estimula o eixo HHA e esse efeito tende a diminuir com o

progredir do período de abstinência. Muitas vezes é necessário um período de 2 a 4 meses de abstinência para que o eixo HHA volte ao estado normal. Ressalta-se ainda que, a depressão está presente em 25 a 50% dos etilistas crônicos, assim como não é raro a desnutrição, esses são fatores conhecidos que levam a ativação do eixo HHA (65).

Quanto às doenças psiquiátricas, o achado de hipercortisolismo é descrito na depressão maior, ansiedade, transtorno obsessivo compulsivo (9) e esquizofrenia (68). Na depressão maior, geralmente, os valores de CRH estão elevados, a resposta do ACTH ao teste com CRH é reduzida e parece haver uma resposta aumentada da adrenal ao estímulo com ACTH, o que explica o aumento do cortisol (65,68). Uma metanálise recente que aborda a esquizofrenia (69) conclui que, há aumento do cortisol salivar basal em pacientes com altíssimo risco para diagnóstico de esquizofrenia quando comparados a grupos controles considerados fora de situação de risco e que mais estudos são necessários para esclarecer qual o papel do eixo HHA na psicose.

Estudos funcionais demonstram que pacientes com anorexia nervosa e desnutrição apresentam diminuição da afinidade da CBG pelo cortisol (aumentando assim a concentração circulante de cortisol livre), menor resposta do ACTH ao teste do CRH e perda da retro-regulação negativa do eixo HHA pelo cortisol. O aumento do CRH contribui para a manutenção do quadro de anorexia, pois causa inibição do apetite e diminuição do esvaziamento gástrico (65).

Na gestação, o cortisol sérico e urinário aumentam progressivamente. Isso pode ser explicado pelo aumento da CBG induzido pelo estrogênio, além da produção placentária de CRH que estimula o ACTH materno e também leva a redução da retroalimentação negativa do eixo HHA pelo cortisol. O feto é protegido do hipercortisolismo materno pela expressão da 11β -HSD 2, pela placenta que inativa o cortisol em cortisona (70).

2.6 ATIVIDADE DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL NO *DIABETES MELLITUS* TIPO 2

2.6.1 Cortisol sérico após supressão com dexametasona em portadores de *diabetes mellitus* tipo 2

O teste de supressão com 1 mg de dexametasona apresenta frequência considerável de resultados falso-positivos, especialmente nas condições descritas no Quadro 5. Essa frequência chega a 23% em doentes crônicos, 13% em obesos, 43% na depressão maior e varia de 8 a 41% em outras condições psiquiátricas (51). A frequência de testes falso-positivos em pacientes com DM2 varia de 1,1% a 28,2%, considerando diferentes protocolos e métodos de dosagem realizados nos diferentes estudos (Quadro 7). Devido a essa alta frequência de falso-positivos no teste de supressão com 1 mg de dexametasona, sugere-se que o teste de supressão com 2 mg de dexametasona seja realizado, nessa população de alto risco, para descartar SC verdadeira (9).

O teste de supressão com doses mais baixas de dexametasona (0,5 ou 0,25mg) tem sido empregado em estudos para avaliar anormalidades leves na habilidade do receptor de glicocorticoide em controlar o eixo HHA (18,19,33). Contudo, em alguns deles o teste de supressão com 0,5mg de dexametasona é utilizado para rastreamento de SC com valor de referência do cortisol sérico após supressão $<3\mu\text{g/dL}$ (14,20,24). Nesse contexto, Tanigushi e cols (14) encontraram frequência de resultados falso-positivos de 18,51%.

Os estudos envolvendo testes de supressão com baixas doses de dexametasona em pacientes com DM2 apresentam resultados conflitantes. Entre onze estudos (1,18,19,21,23,25,26,30,33,37,39), que comparam os resultados do cortisol sérico após administração de dexametasona a pacientes com DM2 e controles com tolerância normal à glicose, em dois deles foi utilizada supressão com 0,25mg de dexametasona e encontradas concentrações de cortisol sérico após dexametasona similares (18) ou menores (33) nos diabéticos quando comparados aos controles, pareados por IMC e sexo. Cinco estudos utilizaram supressão com 1mg de dexametasona e encontraram concentrações de cortisol sérico após

dexametasona maiores (1,19,21,39) ou semelhantes (37) em portadores de DM2, quando comparados ao grupo controle com tolerância normal à glicose. Desses cinco estudos que avaliaram o cortisol sérico após 1mg de dexametasona em pacientes diabéticos, os estudos de Cardoso e cols (21), Zhukouskay e cols (19) e Chiodini e cols (39) apresentaram maior número amostral e os três foram concordantes em demonstrar menor supressão do cortisol sérico após 1mg de dexametasona nos portadores de DM2. Três estudos com a dose de 1,5mg de dexametasona encontraram concentrações de cortisol após dexametasona maiores em diabéticos do que em controles (23,30) e um encontrou concentrações similares (25) (quadro 8).

Quadro 7 - Frequência de resultados falso-positivos no teste de supressão com 1mg de dexametasona em diferentes estudos.

Primeiro autor e referência	Valor de referência utilizado	Método utilizado	Frequência de falso-positivos
Gungunes,2014 (11)	VR < 50 nmol/L (<1,8µg/dL)	Não foi descrito	4,6%
Cardoso,2013 (21)	VR < 50 nmol/L (<1,8µg/dL)	Radioimunoensaio	7,1%
Terzolo,2012 (12)	VR < 140 nmol/L (<5,0µg/dL)	Cada centro participante utilizou reagentes disponíveis	4,4%
Mert,2012 (13)	VR < 50 nmol/L (<1,8µg/dL)	Radioimunoensaio	3,37%
Ellis,2012 (22)	VR < 50 nmol/L (<1,8µg/dL)	ELISA*	28,2%
Mullan, 2010(28)	VR < 60 nmol/L (<2,1µg/dL)	Não foi descrito	20%
Newsome, 2008 (27)	VR < 50 nmol/L (<1,8µg/dL)	Quimioluminescência	18,12%
Caetano,2007 (15)	VR < 50 nmol/L (<1,8µg/dL)	Radioimunoensaio	13,59%
Liu,2005 (32)	VR < 50 nmol/L (<1,8µg/dL)	Não foi descrito	19,04%
Chiodini,2005 (16)	VR < 50 nmol/L (<1,8µg/dL)	Imunofluorimétrico	5,4%
Catargi,2003 (17)	VR < 60 nmol/L (<2,1µg/dL)	Radioimunoensaio	15%
Leibowitz,1996 (10)	VR < 140 nmol/L (<5µg/dL)	Radioimunoensaio	1,1%
Kaye,1992 (71)	VR < 140 nmol/L (<5µg/dL)	Quimioluminescência	9,4%

*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

Quadro 8 - Comparação entre as médias do cortisol sérico após dexametasona em grupos de diabéticos e grupos controle.

Primeiro Autor (referência)	DM2, N	Controle, N	Características gerais dos grupos controle	Dose de dexametasona	Método	Comparação entre as médias do cortisol sérico após dexametasona entre DM2 x controle
1. Arnetz, 2015 (18)	21	38	Indivíduos saudáveis, pareado de acordo com IMC e sexo com grupo DM2	0,25 mg	Imunoensaio enzimático	Similar
2. Zhukouskay, 2015(19)	99	107	Mulheres após menopausa sem história de osteoporose, pareadas de acordo com IMC com grupo DM2	1 mg	Imunofluorimétrico	Maior
3. Cardoso, 2013 (21)	56	100	Indivíduos saudáveis	1 mg	Radioimunoensaio	Maior
4. Prpic-Krizevac, 2012 (1)	121	49	30 obesos, 10 saudáveis, pareados de acordo com idade e sexo com DM2	1 mg	Radioimunoensaio	Maior
5. Duong, 2012 (23)	27	27	Indivíduos saudáveis, pareados de acordo com idade e sexo com DM2	1,5 mg	Imunoensaio enzimático	Maior
6. Felšöci, 2012 (37)	50	25	Indivíduos saudáveis, pareados de acordo com idade e sexo com DM2	1 mg	Radioimunoensaio	Similar
7. Bruehl, 2009 (25)	241	47	Indivíduos saudáveis, pareados de acordo com idade, sexo e nível de escolaridade com DM2	1,5 mg	Imunoensaio enzimático	Similar, após ajuste para IMC
8. Bruehl, 2007 (26)	30	30	Indivíduos saudáveis, pareados de acordo com idade e nível de escolaridade com grupo DM2	1,5mg	Imunoensaio enzimático	Maior
9. Chiodini, 2006 (39)	170	71	Indivíduos saudáveis, pareados de acordo com idade, sexo e IMC com DM2	1mg	Quimioluminescência	Maior
10. Lindkmark, 2006(30)	20	10	10 diabéticos com mau controle, 10 diabéticos bem controlados, 10 indivíduos saudáveis, pareados de acordo com IMC, sexo e idade	3,5µg/kg	Quimioluminescência	Similar
11. Andrews, 2002(33)	25	25	Indivíduos saudáveis, coincidentes em idade, sexo, IMC e níveis pressóricos	0,25mg	Radioimunoensaio	Menor

☐

Controle: grupo controle; DM2 = Diabetes Mellitus tipo 2; IMC=Índice de massa corporal

Algumas variáveis relacionadas a componentes da SM são descritas como interferentes no teste de supressão, por poderem estar relacionadas a possíveis alterações do eixo HHA. Gungunes e cols (11), Terzolo e cols (12) e Caetano e cols (15) encontraram correlação entre a pressão arterial e a concentração do cortisol sérico após 1 mg de dexametasona. Terzolo e cols (12) e Bruehl e cols (26) encontraram associação positiva entre o valor da HbA1c e as concentrações do cortisol sérico após 1mg (12) e 1,5mg (26) dexametasona. Em consistência com esses achados, Kaye e cols (71) encontraram correlação fraca entre o cortisol plasmático após 1mg de dexametasona e a média da glicemia.

Entretanto, Prpic-Krizevac e cols (1) encontraram correlação positiva entre concentrações séricas do cortisol após 1mg de dexametasona e o valor da circunferência abdominal (CA) e da relação circunferência abdominal/circunferência do quadril (RCQ). Thargher e cols (31) encontraram correlação entre o cortisol sérico após supressão com 1 mg de dexametasona e a presença de doença hepática gordurosa não alcoólica. Arnetz e cols (18) observaram que pacientes diabéticos utilizando medicamentos, como metformina e sulfonilureias apresentaram valores de cortisol sérico após supressão com 0,25mg de dexametasona mais altos do que os diabéticos que estavam controlados apenas com dieta. Entretanto, em outros estudos não foi encontrada associação significativa do cortisol sérico após 0,5 mg (14,20,24) ou 1 mg (10,17,27) de dexametasona com a hemoglobina glicada, IMC ou outras variáveis relacionadas à SM.

A associação da presença de complicações crônicas do DM e a atividade do eixo HHA também já foi explorada em estudos clínicos. Foi observado que pacientes com nefropatia incipiente, neuropatia assintomática, retinopatia e macroangiopatia silenciosa (39) podem apresentar maior concentração de cortisol sérico após 1mg dexametasona, assim como pacientes com falência autonômica parassimpática (29). Mert e cols (13) encontraram que, quanto maior o tempo de diabetes e a idade do paciente maior a supressão do cortisol sérico após 1mg de dexametasona. Felšöci e cols (37), entretanto, observaram resultados contrários, na medida em que descreveram que diabéticos com mais de 60 anos apresentaram menor supressão do cortisol sérico após 1mg de dexametasona do que os mais jovens. Outra característica de diabéticos que já foi relacionada à atividade do eixo é o desempenho cognitivo, que costuma diminuir ao longo da evolução da

doença. Bruehl e cols (25) encontraram que quanto maior a queda do desempenho cognitivo em pacientes diabéticos, menor a supressão do cortisol sérico após 1,5 mg de dexametasona.

2.6.2 Cortisol salivar após supressão com dexametasona em portadores de diabetes mellitus tipo 2

O cortisol salivar também pode ser utilizado em testes de supressão com dexametasona, embora esse método não tenha sido abordado em muitos estudos e não haja ainda um valor de referência a ser seguido. Castro e cols (54) realizaram estudo com pacientes saudáveis, obesos e com SC confirmada, e utilizaram como valores de referência para cortisol salivar após 1 mg de dexametasona, por radioimunoensaio, aqueles acima do percentil 90 para os valores observados no grupo controle (62ng/dL) e em obesos (392ng/dL) e encontraram sensibilidade e especificidade de 100/100% e 91,4/91,4%, respectivamente. Esses valores de sensibilidade e especificidade foram semelhantes aos do cortisol salivar noturno para rastreamento da SC, nesse mesmo estudo (54). Contudo não foi estudado o cortisol sérico após dexametasona.

Caetano e cols (15) consideraram valores acima do ponto de corte de 47 ng/dL (percentil 80) de cortisol salivar (por radioimunoensaio) após supressão com 1mg de dexametasona como resultado positivo do rastreamento de SC. Com essa abordagem, observaram que a dosagem do cortisol sérico e salivar após 1mg de dexametasona foi concordante em 84 pacientes dos 103 pacientes diabéticos avaliados, com frequência de 13,59% de resultados falso-positivos com a dosagem do cortisol salivar após dexametasona, mesma frequência encontrada com a dosagem do cortisol sérico após dexametasona. Cardoso e cols (21) encontraram maiores concentrações de cortisol salivar (também por radioimunoensaio) após 1mg de dexametasona em pacientes diabéticos quando comparados a grupo controle saudável.

2.6.3 Testes de estímulo do eixo hipotálamo-hipófise adrenal em portadores de diabetes mellitus tipo 2

O teste DEX/CRH foi utilizado por Bruehl e cols (26) para avaliar o eixo HHA em pacientes com DM2. Os autores realizaram o que denominaram *DEX/CRH curto*, em que os pacientes ingeriram 1,5mg de dexametasona às 23 horas e duas amostras de sangue venoso foram colhidas às 14h52 e 14h55 para dosagem de cortisol, ACTH e dexametasona. Às 15h, 100 µg de CRH foram administrados por via endovenosa e amostras de sangue venoso foram coletadas às 15h30, 15h45, 16h00 e 16h15. Com esses valores, foi calculada a área sob a curva (AUC) do cortisol após a administração de CRH. A AUC após o CRH foi maior em 30 pacientes diabéticos de meia idade quando comparados a 30 controles pareados de acordo idade, sexo e nível educacional. Em estudo com desenho semelhante, dos mesmos autores, não foi encontrada diferença na AUC após CRH em 241 diabéticos comparados a 47 controles pareados de acordo com idade, sexo e nível educacional (25).

Bano e cols (34) avaliaram as concentrações séricas de ACTH, POMC, pro-ACTH e cortisol nos tempos -15, 0, 15,30, 60 e 120 minutos após a administração de 100 µg de CRH por via intravenosa e não encontraram diferenças entre os valores basais ou estimulados de cortisol em 10 pacientes com DM2 comparados a 9 indivíduos saudáveis. Prpic-Krizevac e cols (1) utilizaram o teste de estímulo do cortisol com ACTH exógeno e observaram maiores concentrações de cortisol 30 minutos e 60 minutos após 250 µg de ACTH em 121 pacientes com DM2 comparados a 29 obesos não diabéticos e 19 controles saudáveis. Nesse estudo, a AUC da concentração sérica de cortisol em resposta ao ACTH também foi maior nos pacientes com DM2 e associada à idade, HbA1c, glicemia de jejum, HOMA-IR, duração do diabetes e presença de retinopatia (1).

A dose de 250 µg de ACTH é considerada suprafisiológica e parece não ser sensível o suficiente para avaliar alterações discretas da secreção do cortisol como as que ocorrem nos pacientes diabéticos, por isso a dose de 1µg de ACTH foi utilizada no estudo de Arnetz e cols (18), em que foi observado maior concentração sérica de cortisol em resposta à administração de ACTH_{1/24} em 21 homens com DM2 quando comparados a 38 controles. Nesse mesmo estudo foi observado que a

resposta do cortisol correlaciona-se negativamente com o IMC em indivíduos saudáveis, mas não em diabéticos. Cabe destacar, entretanto, que num estudo prévio de Lindmark e cols (30), em que foi empregado também o teste de estímulo do cortisol com ACTH exógeno, não foi observada diferença entre 10 pacientes com DM2 mal controlado, 10 pacientes com DM2 bem controlado e 10 controles saudáveis.

2.6.4 Ritmo circadiano da secreção de cortisol em portadores de *diabetes mellitus* tipo 2

2.6.4.1 Cortisol salivar noturno

A frequência de resultados falso-positivos com a dosagem de cortisol salivar noturno para rastreamento de SC em pacientes com DM2 foi de 3,8%, em um estudo realizado com o método radioimunoensaio em 103 diabéticos com IMC > 25kg/m² (15). Em outro estudo realizado com método ELISA em 40 diabéticos obesos a frequência de falso-positivos foi de 30% (22).

Liu e cols (32) e Hacket e cols (72) encontraram concentrações de cortisol salivar noturno maiores em grupos de 141 e 236 pacientes diabéticos, respectivamente, comparados com 46 e 2636 indivíduos saudáveis, respectivamente. Cardoso e cols (21) e Mullan e cols (28), por sua vez, encontraram concentrações semelhantes de cortisol salivar noturno em 56 e 201 pacientes diabéticos, quando comparados a 100 e 79 indivíduos saudáveis, respectivamente.

2.6.4.2 Cortisol sérico à meia noite

Valores de cortisol sérico à meia noite superiores a 7,5µg/dL (207nmol/L) apresentam elevada sensibilidade e especificidade (96-100% e 88-100%, respectivamente), para diagnosticar SC (9). Uma única medida de cortisol sérico à meia noite menor do que 1,8µg/dL (50nmol/L), por sua vez, exclui a SC (51). Apesar desse desempenho, esse teste é pouco utilizado na prática clínica, por não ser livre da influência do estresse e o paciente precisar ficar internado por 48h para que se

diminua a chance de resultados falso-positivos. Talvez pela dificuldade em ser realizado, há poucos estudos na literatura que investigaram seus resultados em pacientes diabéticos. Chiodini e cols compararam o cortisol sérico à meia noite de 171 pacientes diabéticos do tipo 2 e 71 indivíduos saudáveis coincidentes em IMC, idade e sexo, e encontraram concentrações de cortisol sérico noturno superior nos diabéticos (39).

2.6.4.3 Ritmo diurno do cortisol

Diferentes estudos em pacientes diabéticos em que foi avaliada a concentração do cortisol salivar ao longo do dia encontraram resultados controversos. A AUC da concentração de cortisol de acordo com o horário foi maior (36), menor (43) ou similar (30) entre diabéticos e controles. Outra variável obtida a partir desses estudos foi o CAR (aumento matinal do cortisol) e foi observada redução (38,43) ou resultados similares (36,40) quando comparado diabéticos e controles. Apesar dessas diferenças, esses estudos foram concordantes em mostrar redução do declínio precoce e do declínio tardio do cortisol nos pacientes diabéticos quando comparados a indivíduos saudáveis (38,41,72).

Oltmanns e cols (45) realizaram o perfil diurno do cortisol em pacientes com DM2, realizaram cinco medidas de cortisol salivar (ao deitar, ao acordar, 30 minutos após acordar, antes do almoço e 45 minutos após almoço), aqueles que apresentaram maiores concentrações no perfil diurno do cortisol tiveram maiores concentrações de glicemia de jejum e HbA1c e medidas de pressão arterial sistólica e diastólica.

2.6.4.4 Cortisol sérico matinal e ACTH matinal

De doze estudos (1,23,25,26,33,36,37,73-77), que avaliaram o cortisol sérico matinal (coletado entre 8h-9h da manhã), 5 mostram que as concentrações de cortisol sérico matinal foram maiores em pacientes diabéticos quando comparados a indivíduos saudáveis, 6 mostraram concentrações similares e apenas um demonstra menores concentrações (Quadro 9). Vale ressaltar, porém, que dos cinco estudos que apontaram cortisol sérico matinal maior em pacientes com DM2, em três

(23,26,76) os diabéticos eram mais obesos do que o grupo controle saudável, em dois o grupo de diabéticos foi coincidente em IMC com o grupo controle (73,77). Já entre os seis que encontraram resultados iguais, quatro estudos apresentavam grupos coincidentes em IMC (33,37,74,75) e em dois (1,25) o grupo controle era mais magro do que o grupo de diabéticos. No estudo que demonstra menores concentrações de cortisol salivar matinal em diabéticos, o resultado foi ajustado para IMC.

Muitos destes estudos correlacionaram essas variáveis com componentes da SM. Kontoangelos e cols (35) não encontraram correlação do cortisol sérico matinal com o controle glicêmico, mas evidenciaram a associação positiva com ansiedade em indivíduos com DM descompensado. Segundo Reynolds e cols (46), as maiores concentrações de cortisol sérico matinal foram associadas a maiores concentrações de glicemias de jejum, colesterol total e aumento do risco de doença cardíaca isquêmica. Esses autores, em um estudo envolvendo a mesma população, observaram associação positiva entre a concentração sérica de cortisol matinal declínio da habilidade cognitiva em pacientes com DM2, independentemente das variáveis metabólicas, presença de doenças cardiovasculares e humor (47). Lindmark e cols (30), por sua vez, constataram a associação entre concentrações de cortisol sérico matinal e HbA1c, ao passo que Duong e cols (23) verificaram essa associação em apenas em grupo de pacientes com alta frequência de alimentação considerada de baixa qualidade. Diferentemente, Felšöci e cols (37) observaram associação positiva entre as concentrações do cortisol sérico matinal e peptídeo C, porém não com o controle glicêmico e outras variáveis metabólicas. Lee e cols (76) perceberam que maiores medidas de circunferência abdominal foram associadas com maiores concentrações de cortisol sérico matinal.

Quanto às complicações crônicas do DM, Chiodini e cols (29) estudaram 59 pacientes com DM2 e descreveram maiores concentrações de cortisol sérico matinal em pacientes com falência autonômica parassimpática, quando comparados aos pacientes com falência autonômica simpática ou sem alterações do sistema nervoso autônomo. Em estudo prévio de Kaye e cols (78), em 20 homens diabéticos do tipo 2 com neuropatia autonômica e 11 diabéticos do tipo 2 sem neuropatia autonômica, a diferença da concentração do cortisol sérico matinal entre os dois grupos não foi observada (78).

A dosagem do ACTH matinal foi avaliada em poucos estudos, em sua maioria, foram observadas concentrações plasmáticas de ACTH similares em pacientes com DM2 quando comparados a indivíduos saudáveis ou obesos não diabéticos (1,19,37). No estudo de Chiodini e cols (29), entretanto, a concentração do ACTH matinal foi maior em pacientes diabéticos com falência autonômica parassimpática quando comparados a diabéticos sem alterações do sistema nervoso autônomo, assim como no estudo de Prpić-Križevace cols (1), em que concentrações plasmáticas mais elevadas de ACTH matinal foram observadas em pacientes com complicações crônicas do DM, com mais tempo de doença e mais velhos.

Quadro 9 - Estudos em que concentrações de cortisol sérico matinal foram avaliadas em pacientes com *diabetes mellitus* tipo 2 e comparadas com grupos de controles não diabéticos.

Primeiro autor, ano(referência)	DM2 N	Controle N	Método de dosagem do cortisol	Comparação entre grupo de diabéticos x grupo de indivíduos saudáveis	Correlações encontradas no estudo
1.Kontoangelos, 2015 (35)	86	-	Não mencionado	-	O valor do cortisol sérico matinal não teve associação com controle glicêmico e sim com o nível de ansiedade nos pacientes com controle glicêmico descompensado.
2.Carvalho,2015(36)	37	37	Não mencionado	concentrações mais baixas em diabéticos	
3.Prpic-Krizevac, 2012 (1)	131	29	Radioimunoensaio	Similar	O cortisol matinal foi similar também entre diabéticos e 29 obesos não diabéticos.
4.Duong, 2012 (23)	27	27	Imunoensaio enzimático	Maior em diabéticos	Associação positiva entre o cortisol matinal e HbA1c e o percentual de comida de baixa qualidade ingerida.
5.Felšöci,2011 (37)	50	25	Radioimunoensaio	Similar	Associação positiva entre as concentrações de cortisol matinal e peptídeo C.
6.Bruehl, 2009 (25)	241	47	Imunoensaio enzimático	Similar	
7.Bruehl, 2007(26)	30	30	Imunoensaio enzimático	Maior em diabéticos	
8.Richardson,2002 (77)	16	13	Não mencionado	Maior em diabéticos	Cortisol sérico matinal foi maior nos diabéticos do que em 11 pacientes com câncer de pulmão.
9.Andrews,2002(33)	20	25	Radioimunoensaio	Similar	
10.Valsamakis,2004 (73)	33	38	Quimioluminescência	Maior em diabéticos	
11.Kerstens, 2000(74)	8	8	Radioimunoensaio	Similar	
12.Phillips,2000 (75)	20	20	Radioimunoensaio	Similar	
13.Lee, 1999 (76)	90	104	Radioimunoensaio	Maior em diabéticos	Associação positiva entre cortisol matinal e circunferência abdominal

2.6.5 Cortisol livre urinário em portadores de *diabetes mellitus* tipo 2

Estudos envolvendo o rastreamento da SC em pacientes diabéticos com a dosagem de cortisol livre em amostra de urina de 24h demonstraram frequências de falso-positivos variando de 3,5 a 10%. Essa taxa de falso-positivos reflete as maiores concentrações de cortisol livre urinário observadas em pacientes diabéticos obesos quando comparados a indivíduos saudáveis ou obesos não diabéticos (1,21), embora esse achado não seja observado consistentemente. Godoy de Mattos e cols (79) não encontraram diferenças entre as concentrações do cortisol livre urinário entre pacientes com DM2 e saudáveis.

Entre as variáveis, em diabéticos do tipo 2, correlacionadas com a medida do cortisol livre urinário foram a presença de doença hepática gordurosa não alcoólica e de complicações crônicas do DM. No estudo de Thargher e cols (31) os pacientes com DM2 e doença hepática gordurosa não alcoólica apresentaram maiores concentrações de cortisol livre urinário do que os pacientes diabéticos sem essa condição. Chiodini e cols encontraram maiores concentrações de cortisol livre urinário em pacientes com complicações crônicas microvasculares do DM2 (29,39).

2.7 METABOLISMO TECIDUAL DO CORTISOL EM PACIENTES COM *DIABETES MELLITUS* TIPO 2

A relação entre a função da 11β -HSD1 em diferentes tecidos e em diferentes distúrbios metabólicos tem sido amplamente discutida. A relação entre metabólitos urinários do cortisol/cortisona é utilizada clinicamente para estimar a atividade global dessa enzima, porém não é capaz de diferenciar sua atividade em tecidos distintos. Estudos iniciais em pacientes obesos mostraram aumento da relação cortisol/cortisona e correlação positiva com IMC, CA e RCQ (80). Contudo recomenda-se que esses dados sejam interpretados com

cautela, porque outras enzimas relacionadas ao metabolismo do cortisol e cortisona podem estar alteradas na obesidade e influenciar os resultados (81).

Outra forma de avaliar a atividade da 11β -HSD1 é o teste da ingestão de cortisona, seguido da determinação da concentração sérica do cortisol. Na obesidade, esse teste sugere redução da conversão da cortisona em cortisol, mas também a diminuição da atividade redutase hepática da 11β -HSD1. Alguns desses estudos correlacionam a atividade enzimática de redutase negativamente com o IMC, CA, RCQ e positivamente com o aumento da resistência insulínica (80). O aumento da expressão e da atividade da 11β -HSD1 no tecido adiposo subcutâneo também tem sido repetidamente descrito na obesidade, bem como correlacionado positivamente com IMC, CA, RCQ e aumento da resistência insulínica (80).

Poucos estudos avaliaram a atividade da 11β -HSD1 em diabéticos. Andrews e cols (33) não encontraram diferença da atividade enzimática em tecido adiposo subcutâneo da região glútea de diabéticos do tipo 2 magros, comparados com indivíduos saudáveis e pareados para IMC. Contudo, observaram redução da atividade redutase hepática por meio da diminuição da conversão de cortisona oral em cortisol. Por sua vez, Valsamakis e cols (73) analisaram a atividade da enzima pela determinação dos metabólitos urinários do cortisol/cortisona (atividade global) e não encontraram diferenças ao comparar 33 homens com DM2 com obesos não diabéticos. Em consistência com esses achados, Basu e cols (82) e Stimons e cols (83) utilizaram o traçador D4-cortisol, porém não observaram diferenças na atividade da 11β -HSD1 hepática ao comparar indivíduos sem DM e peso normal com diabéticos obesos ou com peso normal.

Os estudos mais recentes acerca da atividade da 11β -HSD1 foram realizados por Dube e cols. Os autores utilizaram isótopos radiomarcados de cortisol e cortisona no cateterismo arteriovenoso de diferentes tecidos. Não foram observadas diferenças na atividade de redutase hepática quando compararam 21 obesos não diabéticos com obesos diabéticos e magros não diabéticos (84). Em um outro estudo empregando a mesma técnica, os

mesmos teóricos verificaram aumento da atividade redutase da 11 β -HSD1 no tecido adiposo subcutâneo abdominal e não no tecido adiposo subcutâneo da perna, em 15 pacientes obesos com DM2, quando comparados com magros e obesos não diabéticos(85).

Acredita-se que, a hiperinsulinemia crônica na obesidade leve a aumento da atividade da 11 β -HSD1 no tecido adiposo, com manutenção da atividade no tecido hepático, gerando aumento da atividade global da 11 β -HSD1, contribuindo assim para a perpetuação da hiperglicemia (83).

Há estudos em animais nos quais a deleção homozigota do gene que codifica a 11 β -HSD1 resultou em proteção contra hiperglicemia (80). Além disso, o bloqueio do receptor glicocorticoide com mifepristona ou antagonista seletivo do receptor glicocorticoide, específico para o tecido hepático e tecido adiposo, diminui as concentrações de glicose em ratos com DM2 (86). Em estudos envolvendo humanos, a administração de carbenoxolona, um inibidor não seletivo da 11 β -HSD, leva a melhora da sensibilidade insulínica (81). Esses achados sugerem que a atividade da 11 β -HSD1 e as concentrações de cortisol nos diferentes tecidos possam estar envolvidos na fisiopatologia da resistência insulínica associada ao DM2 e permitem acreditar que tanto a enzima quanto o GR possam ser potenciais alvos terapêuticos para a doença.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade do eixo HHA em portadores de DM2 obesos e não obesos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever características demográficas, clínicas e bioquímicas de portadores de DM2.
- Avaliar a atividade do eixo HHA em portadores de DM2, por determinação da concentração circulante de cortisol e ACTH às 8h, cortisol salivar às 23h e cortisol sérico e salivar às 8h após 0,5, 1 ou 2 mg de dexametasona.
- Analisar os resultados dos testes de avaliação do eixo HHA de portadores de DM2 de acordo com o controle glicêmico, índice de massa corporal, sexo e presença de Síndrome Metabólica.
- Descrever características clínicas e bioquímicas de portadores de DM2 que apresentaram resultados alterados de avaliação da atividade do eixo HHA.
- Analisar características clínicas e laboratoriais de portadores de DM2 de acordo com o valor do cortisol salivar noturno e do cortisol sérico e salivar após supressão com dexametasona.
- Analisar os resultados dos testes de avaliação do eixo HHA de portadores de DM2 de acordo com a presença de complicações vasculares do DM.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília (parecer número 892.947, ANEXO I), do Hospital Geral de Goiânia (parecer número 1.025.746, ANEXO II) e do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (parecer número 1.311.176, ANEXO III). O estudo foi conduzido de acordo com a Resolução número 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. Os pacientes tiveram a participação condicionada à assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, após receberem informações detalhadas sobre a pesquisa e seus objetivos.

4.2 SELEÇÃO DE SUJEITOS

Foram recrutados, no período de julho de 2014 a julho de 2015, e selecionados 54 pacientes com DM2, sendo 21 com obesidade (índice de massa corporal ou IMC ≥ 30 kg/m²) e 33 não obesos (IMC < 30 kg/m²), em acompanhamento no Serviço de Endocrinologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás e no Hospital Geral de Goiânia. O número amostral de 54 pacientes foi calculado considerando (i) que cerca de 10% dos pacientes diabéticos podem apresentar resultados falso-positivos no teste de supressão com 1mg de dexametasona (21,22), (ii) nível de significância de 5%, (iii) poder do estudo de 80% e (iv) margem de erro de 8%.

4.2.1 Critérios de inclusão

Foram incluídos pacientes dos sexos masculino e feminino que atendessem aos seguintes critérios:

- Diagnóstico prévio de DM2 de acordo com os critérios recomendados pela Associação Americana de Diabetes (ADA) (58).
- Idade superior a 25 anos na ocasião do diagnóstico.
- Acompanhamento ambulatorial no Serviço de Endocrinologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (HC-UFG) ou do Hospital Geral de Goiânia (HGG).

4.2.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos os pacientes que apresentassem quaisquer dos seguintes critérios:

- Tratamento com insulina.
- Diagnóstico prévio de Síndrome de Cushing endógena ou exógena.
- Diagnóstico prévio ou em tratamento de transtorno depressivo ou outras condições psiquiátricas.
- Insuficiência renal crônica; insuficiência hepática; gestação, alcoolismo ou doença neoplásica.
- Uso das drogas: rifampicina, cetoconazol, itraconazol, fenitoína, fenobarbital, fluoxetina, diltiazem, ritonavir, carbamazepina, pioglitazona e estrogênios que interferem no teste de supressão com dexametasona.

4.3 AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL

Os pacientes foram selecionados durante consultas nos ambulatórios de Endocrinologia do Hospital das Clínicas de Universidade Federal de Goiás

(HC-UFG) e Hospital Geral de Goiânia (HGG), quando receberam explicações sobre o projeto de pesquisa e convite para participação. Foi agendada consulta médica no ambulatório do HC-UFG para aqueles que aceitaram participar.

Na primeira visita, a pesquisadora responsável realizou o esclarecimento a respeito do estudo. Os pacientes que concordaram em participar do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Nesse primeiro encontro foram realizados anamnese e exame físico, mas também foram verificados:

(i) Pressão arterial (mmHg): com o paciente em posição sentada, foram realizadas 2 aferições com intervalos de 10 min.

(ii) Peso (kg).

(iii) Altura (cm).

(iv) Circunferência abdominal (cm): aferida com paciente em pé, no ponto médio entre o último arco costal e a crista íliaca anterossuperior, com fita inelástica, em posição horizontal, conforme orientado na V Diretriz Brasileira de Prevenção de Aterosclerose (87).

(v) Circunferência de quadril (cm).

Os pacientes foram orientados a coletar cortisol salivar às 23h em casa, no mesmo dia da primeira visita; e os que utilizavam sulfonilureias foram orientados a aferir a glicose capilar no momento da coleta da saliva; caso fosse detectado valor abaixo de 80 mg/dL, eles eram orientados a realizar a coleta em outra ocasião, em que a glicose capilar estivesse acima de 80 mg/dL. Os pacientes foram orientados também a permanecer em repouso, sem comer e nem escovar os dentes por 30 minutos antes da coleta e os tabagistas foram orientados a não fumar duas horas antes da coleta.

A avaliação bioquímica inicial foi realizada no dia posterior a primeira visita. Para tanto, o paciente foi orientado a comparecer ao laboratório de referência do estudo, em jejum de 12 horas. A avaliação laboratorial incluiu

perfil lipídico; peptídeo C; hemoglobina glicada, glicemia de jejum; insulina sérica, ACTH e cortisol sérico às 8h. Além disso, o paciente foi orientado a ingerir 0,5 mg de dexametasona às 23h e coletar amostra de saliva para dosagem do cortisol e amostra de sangue para dosagem do cortisol e ACTH às 8h no dia seguinte.

Na segunda visita, 8 dias após a primeira, foram solicitados cortisol salivar e sérico e ACTH plasmático após administração de 1 mg de dexametasona às 23h. Para isso, o paciente foi orientado a ingerir a dexametasona às 23h e ir ao laboratório no dia seguinte. Na terceira visita, sete dias após a segunda, foram solicitados os mesmos exames anteriores após supressão com 2 mg de dexametasona (0,5 mg de 6 em 6 horas, com início 48h antes da coleta).

Valores do cortisol sérico às 8h, após a administração de dexametasona, superiores a 1,8 µg/dL foram considerados anormais (9). Os valores do cortisol salivar às 8h, após a administração de dexametasona, foram agrupados em percentis, uma vez que não há faixa de referência estabelecida para essa variável, considera-se como anormais concentrações acima do percentil 75.

Pacientes que apresentaram resultados anormais do cortisol salivar noturno e/ou do cortisol sérico após 1 e/ou 2 mg de dexametasona foram submetidos à investigação adicional de SC, de acordo com protocolo estabelecido na literatura (9). Os demais valores de referência das variáveis bioquímicas e hormonais avaliadas estão apresentados no Quadro 10.

Quadro 10. Variáveis bioquímicas e hormonais determinadas nos participantes do estudo.

Variável	Método	Referência
Glicemia de jejum	Bioquímica enzimática automatizada	65-99 mg/dL
Hemoglobina glicada	HPLC	<7% para controle de DM >6,5 % para diagnóstico de DM ⁽⁵⁸⁾
Insulina Sérica	Quimioluminescência	2,6-24,9 µUi/mL
Peptídeo C	Eletroquimioluminescência	1,10-4,40 ng/mL
Colesterol total	Bioquímica enzimática automatizada	< 200mg/dL ⁽⁸⁷⁾
HDL	Bioquímica enzimática automatizada	> 60mg/dL: ótimo ⁽⁸⁷⁾
LDL	Bioquímica enzimática automatizada	< 70mg/dL ⁽⁸⁷⁾
Triglicérides	Bioquímica enzimática automatizada	< 150mg/dL ⁽⁸⁷⁾
Cortisol sérico as 8h	Quimioluminescência	4,0-22 µg/dL
ACTH as 8h	Quimioluminescência	5,0-46,0 pg/mL
Cortisol salivar	Eletroquimioluminescência	Entre 07-09h: < 0,68 µg/dL Entre 22-24h: < 0,35 µg/dL

HPLC: cromatografia líquida de alto desempenho; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; ACTH:corticotrofina

O elixir de dexametasona 0,5 mg/mL (laboratório Medley) foi utilizado para os testes de supressão. Os pacientes receberam 60 mL do elixir e um copo de medida de 10 mL graduado (com marcas de 5 e 10 mL). Em cada visita anterior, a cada teste de supressão, o paciente era esclarecido quanto à dose e modo de utilização do medicamento.

4.4 CLASSIFICAÇÃO DAS VARIÁVEIS METABÓLICAS E DIAGNÓSTICO DE SÍNDROME METABÓLICA

Foi considerado indicativo de bom controle glicêmico do *diabetes mellitus* valor de HbA1c inferior a 7% (58). O índice HOMA- IR (*homeostatic model assessment/Modelo de avaliação da Homeostase*) foi calculado a partir da fórmula abaixo e foi considerado indicativo de aumento da resistência insulínica valor superior a 2,7 (88):

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{Glicemia em jejum (mg/dL)} \times 0,0555 \times \text{insulinemia em jejum (mmol/L)}}{22,5}$$

A concentração sérica de colesterol LDL foi considerada ótima se menor que 70mg/dL, a de colesterol HDL se superior a 60mg/dL, triglicérides inferior a 150mg/dL e a de colesterol total inferior a 200 mg/dL, conforme metas estabelecidas para pacientes de alto risco pela V Diretriz de Dislipidemia da Sociedade Brasileira de Cardiologia (87).

O valor de referência utilizado para o cortisol salivar noturno, medido por eletroquimioluminescência, foi considerado normal quando menor que 0,35 µg/dL. O limite de detecção desse método é de 0,018 µg/dL.

O diagnóstico de SM foi realizado de acordo com os critérios de Síndrome Metabólica da Federação Internacional de Diabetes, estabelecidos em 2009 (Quadro 11) (60). Para tanto, utiliza-se valores de referência de circunferência abdominal baseados em dados da população do sul da Ásia, ameríndios e chineses, caracterizando obesidade central valores superiores a 80 e 90 cm para mulheres e homens, respectivamente. A presença de obesidade central é assumida mesmo sem a medida da circunferência abdominal (CA) em indivíduos com IMC maior do que 30 kg/m².

Quadro 11. Critérios para diagnóstico clínico de Síndrome Metabólica segundo Federação Internacional de Diabetes (2009)*.

Critério	Definição
Obesidade abdominal	
Homens	
Sul-asiáticos, ameríndios e chineses	≥ 90 cm
Mulheres	
Branças de origem europeia, negras, sul-asiáticas, ameríndias e chinesas	≥ 80 cm
HDL-colesterol	
Homens	< 40 mg/dL
Mulheres	< 50 mg/dL
Pressão arterial	
Sistólica	≥ 130 mmHg ou tratamento para hipertensão arterial
Diastólica	≥ 85 mmHg ou tratamento para hipertensão arterial
Triglicérides	
≥ 150 mg/dL ou em tratamento medicamentoso	
Glicemia	
Jejum ≥ 100 mg/dL ou diagnóstico prévio de DM	

*Presença de três de qualquer um dos cinco critérios consiste no diagnóstico de SM (60)

Os valores de referência da relação circunferência abdominal/quadril (RCQ) foram baseados em critérios estabelecidos pela Organização Mundial de Saúde (61), sendo o RCQ considerado maior do que 0,85 em mulheres e 0,90 em homens são critérios para caracterizar a SM. O índice de adiposidade corporal (IAC) utilizado, que reflete o percentual de gordura corporal de homens e mulheres, foi validado em uma população de norte-americanos descendentes de mexicanos e africanos. A fórmula utilizada para o cálculo, foi:

$$IAC (\%) = \frac{\text{Circunferência do quadril}}{\text{altura} \times \sqrt{\text{altura}}} - 18 \quad (89).$$

A presença de complicações crônicas do DM foi definida por: (i) exames complementares, do último ano, documentados no prontuário, que comprovassem o diagnóstico de doença macrovascular (ii), retinopatia diabética diagnosticada por mapeamento de retina realizado no último ano, (iii) neuropatia diabética periférica sintomática, (iv) exames complementares, do último ano, documentados no prontuário que comprovassem presença de microalbuminúria persistente ou proteinúria.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As características clínicas e laboratoriais dos 54 pacientes com DM2 foram descritas com medidas de tendência central e dispersão apropriadas.

As médias da idade, IMC, CA, RCQ, pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD), tempo de diagnóstico do DM2, glicemia de jejum, HbA1c, peptídeo C, insulina, HOMA-IR, colesterol total, LDL, HDL e triglicérides, cortisol sérico matinal, ACTH matinal, cortisol salivar noturno (CSN) e cortisol sérico e salivar após supressão com 0,5 mg, 1 mg e 2 mg, entre o grupo de obesos e não obesos, foram comparadas com a utilização do teste t (quando a variável apresentava distribuição normal, determinada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov) ou teste U de Mann Whitney (quando variável apresentava distribuição não normal, também determinada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov).

A correlação entre os resultados das variáveis relacionadas à obesidade (IMC, CA, RCQ), homeostase da glicose e resistência insulínica (glicemia de jejum, HbA1c, HOMA-IR, insulina, peptídeo C) e risco cardiovascular (hipertensão, dislipidemia) com os resultados do cortisol salivar e sérico em resposta à supressão com baixas doses de dexametasona, cortisol sérico matinal, ACTH matinal e cortisol salivar noturno foi inicialmente realizada por análise de regressão linear univariada. As variáveis para as quais a correlação

apresentou significância $< 0,15$ foram submetidas a análise de regressão linear multivariada, em que valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. Foi calculada também a correlação de Pearson quando correlacionadas duas variáveis de distribuição normal e correlação de Spearman quando duas variáveis de distribuição não normal. Na comparação entre as medianas dos quartis de cortisol salivar após dexametasona foi utilizado teste H de Kruskal-Wallis. Para os cálculos estatísticos foi utilizado o programa IBM SPSS Statistics versão 22.

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS DOS PORTADORES DE *DIABETES MELLITUS* DO TIPO 2 ESTUDADOS

Foram avaliados 54 pacientes com diagnóstico de DM2 e suas características clínicas estão descritas na Tabela 1. Quarenta participantes eram mulheres e 14 homens, a média de idade e de tempo de diagnóstico foi, respectivamente, de 54 e 10 anos. O valor médio da CA, RCQ, IMC e IAC, foram respectivamente, 98,9cm, 0,96, 30,1kg/m² e 33,9%. O valor médio da pressão arterial sistólica e diastólica foram discretamente elevados, respectivamente de 131,8 mmHg e 81,6mmHg.

Tabela 1. Características clínicas dos pacientes com *diabetes mellitus* do tipo 2 estudados.

Variável	N	Média ± DP	Mediana (IQ)
Idade (anos)	54	58,7±8,4 ^a	59 (54-64,2)
Tempo de diagnóstico (anos)	51	10,6±7,9 ^a	10 (4-15)
Circunferência abdominal (cm)	54	98,9±12,9 ^a	96,5(89,5-106)
Relação circunferência/quadril	54	0,96±0,13	0,96(0,91-0,99) ^b
Índice de massa corporal (kg/m ²)	54	30,1±6,9	28,3(25,1-33,3) ^b
Índice de adiposidade corporal (%)	54	33,9±8,1	31,3(27,7-38,6) ^b
Pressão arterial sistólica (mmHg)	52	131,8±15,9	130 (120-140) ^b
Pressão arterial diastólica (mmHg)	52	81,6±9,5	80 (80-89) ^b

^a variáveis com distribuição normal; ^b variáveis com distribuição não normal; IQ: intervalo interquartil.

Na Tabela 2 estão descritas as características laboratoriais dos pacientes estudados. O valor médio da glicemia de jejum (146,8 mg/dL), da hemoglobina glicada (7,4%) e do HOMA-IR(4,7) foram elevados.

Tabela 2. Características laboratoriais dos pacientes com *diabetes mellitus* do tipo 2 estudados.

Variável	N	Média± DP	Mediana (IQ)
Glicemia de jejum (mg/dL)	52	146,8±57,7	134 (101,2-172,5) ^b
Hemoglobina glicada (%)	54	7,4±0,2	6,8 (6,1-8,7) ^b
Peptídeo C (ng/mL)	54	2,5 ±0,9 ^a	2,3 (1,7-3,2)
Insulina sérica (µUi/mL)	54	12,6±10,3	11,9 (6,5-16,7) ^b
Homa-IR ¹	52	4,7±3,6	3,8 (2,1-5,7) ^b
Colesterol total (mg/dL)	54	162,1±35	153 (136-180) ^b
LDL ² colesterol (mg/dL)	54	90,3±34,1	82 (66,7-109,2) ^b
HDL ² colesterol (mg/dL)	54	47,3 ±9,1 ^a	46 (40-53,2)
Triglicérides (mg/dL)	54	143,1±96,3	121(78,7-175,5) ^b

^a variáveis com distribuição normal; ^b variáveis com distribuição não normal; IQ: intervalo interquartil; ¹ *Homeostatic model assessment*; ² lipoproteína de baixa densidade; ³ lipoproteína de alta densidade.

5.2 ATIVIDADE DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL EM PORTADORES DE *DIABETES MELLITUS* TIPO 2 ESTUDADOS

O eixo HHA dos 54 pacientes estudados foi avaliado com testes basais e dinâmicos. As medidas de tendência central dos resultados do cortisol sérico e ACTH às 8h e do cortisol salivar às 23h foram normais (Tabela 3). Houve correlação significativa (*Spearman*) entre ACTH e cortisol sérico às 8h ($r=0,29$, $p<0,05$).

Tabela 3. Testes de avaliação basal do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal nos pacientes com *diabetes mellitus* do tipo 2 estudados.

Variável	N	Média ± DP	Mediana (IQ)	Valores de referência
Cortisol sérico às 8h (µg/dL)	52	12,09 ±4,6 ^a	11 (9,2-14,8)	4,0-22 µg/dL
ACTH ¹ às 8h (pg/mL)	53	22,3±10,3	19,6 (15,0-26,0) ^b	5,0-46,0 pg/mL
Cortisol salivar noturno (µg/dL)	52	0,23±0,1	0,19 (0,15-0,27) ^b	< 0,35 µg/dL

^a variáveis com distribuição normal; ^b variáveis com distribuição não normal; IQ: intervalo interquartil; ¹ hormônio adrenocorticotrófico

A mediana do cortisol sérico às 8h após a administração de doses baixas de dexametasona (0,5 mg em dose única, 1 mg em dose única ou 2 mg divididos em 4 doses diárias, durante 2 dias), foi normal (Tabela 4).

As correlações (*Spearman*) entre ACTH e cortisol sérico após 0,5mg de dexametasona ($r=0,09$, $p<0,05$), ACTH e cortisol sérico após 1mg ($r=0,06$, $P<0,05$) e ACTH e cortisol sérico após 2,0mg ($r=0,06$, $P<0,05$), foram pouco significativas.

Tabela 4. Resultado dos testes de supressão do cortisol sérico e salivar com baixas doses de dexametasona nos pacientes portadores de *diabetes mellitus* do tipo 2.

Variável	N	Mediana (IQ)
Cortisol sérico após 0,5 mg($\mu\text{g/dL}$)	54	1,00 (0,60-1,60)
Cortisol salivar após 0,5 mg ($\mu\text{g/dL}$)	51	0,20 (0,15-0,26)
Cortisol sérico após 1,0 mg ($\mu\text{g/dL}$)	54	0,78 (0,60-1,10)
Cortisol salivar após 1,0 mg ($\mu\text{g/dL}$)	52	0,19 (0,15-0,26)
Cortisol sérico após 2,0 mg ($\mu\text{g/dL}$)	53	0,60 (0,40-0,80)
Cortisol salivar após 2,0 mg ($\mu\text{g/dL}$)	49	0,18 (0,14-0,29)
ACTH após 0,5mg (pg/mL)	48	5,7 (5,0-8,4)
ACTH após 1,0 mg (pg/mL)	53	5,4 (5,0-8,0)
ACTH após 2,0 mg (pg/mL)	51	5,0 (5,0-7,0)

IQ: intervalo interquartil. Todas as variáveis apresentaram distribuição não normal.

5.3 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS, LABORATORIAIS E RESULTADOS DOS TESTES DE AVALIAÇÃO DO EIXO HHA DE ACORDO COM O CONTROLE GLICÊMICO

Vinte e cinco pacientes apresentaram DM2 descompensado ($\text{HbA1c} \geq 7,0\%$) e vinte e nove, compensado ($\text{HbA1c} < 7,0\%$). Os pacientes com DM2 descompensado apresentaram médias de glicemia de jejum ($p=0,000$), triglicérides ($p=0,000$) e HOMA-IR ($p=0,004$) maiores do que os pacientes com DM2 compensado (Anexo IV). Não houve diferenças significativas quanto às variáveis relacionadas à atividade do eixo HHA entre pacientes com HbA1c abaixo ou acima de 7% (Anexo V).

5.4 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS, LABORATORIAIS E RESULTADOS DOS TESTES DE AVALIAÇÃO DO EIXO HHA, DE ACORDO COM A PRESENÇA DE OBESIDADE E SÍNDROME METABÓLICA

5.4.1 Avaliação do eixo HHA entre os 54 portadores de *diabetes mellitus* do tipo 2 estudados de acordo com o IMC

Vinte e um pacientes eram obesos ($IMC \geq 30\text{kg/m}^2$) e 33 não obesos ($IMC < 30\text{kg/m}^2$). Os obesos apresentaram CA, IAC e tempo de diagnóstico maior do que os não obesos, assim como maiores indicadores de resistência insulínica, incluindo insulina sérica e HOMA IR e maiores concentrações de peptídeo C (Tabela 5).

Não houve diferenças significativas entre as médias de cortisol sérico e ACTH matinal, cortisol salivar noturno e cortisol sérico e salivar após baixas doses de dexametasona entre os grupos de obesos e não obesos (Tabela 6).

5.4.2 Testes de avaliação do eixo HHA entre os 54 portadores de *diabetes mellitus* tipo 2 estudados, segundo a presença de Síndrome Metabólica

Apenas três pacientes estudados não apresentaram valor de CA aumentado de acordo com os critérios estabelecidos pela Federação Internacional de Diabetes (60). Aqueles com aumento da CA apresentaram menor mediana de HDL e maior mediana de PAD, contudo não houve diferenças do valor da CA quando analisada de acordo com idade, tempo de diagnóstico, IMC, RCQ, IAC (Anexo VI), variáveis relacionadas ao controle glicêmico, resistência insulínica e atividade do eixo HHA quando comparados aos pacientes com CA normal (Anexo VII).

Entre os 54 pacientes estudados, cinco não apresentavam SM segundo os critérios diagnósticos da Federação Internacional de Diabetes (60). Os

valores médios de cortisol salivar noturno e cortisol sérico após 1mg de dexametasona foram maiores nesses pacientes quando comparados com os que preenchem critérios para SM ($p=0,035$ e $p=0,026$ respectivamente) (Tabela 6). Não houve diferenças significativas entre portadores e não portadores de SM quanto ao IMC, CA, RCQ, Peptídeo C, HOMA-IR e HbA1c entre os grupos com SM e sem SM (Anexo VIII).

A análise de regressão linear evidencia a correlação entre algumas variáveis relacionadas à atividade do eixo HHA (ACTH às 8h, cortisol sérico pós-2 mg de dexametasona e cortisol sérico às 8h) e variáveis antropométricas, clínicas e metabólicas.

Em análise de regressão linear univariada do ACTH às 8h com idade, IMC, CA, RCQ, IAC, GJ, HbA1c, CT, LDLc, HDLc, triglicérides, pressão arterial sistólica e diastólica, o ACTH às 8h apresentou correlação ($<0,15$) com RCQ, colesterol total e LDL. Após análise de regressão multivariada foi encontrada associação positiva entre ACTH às 8h e RCQ ($B=22,59$; $p=0,030$).

Em análise de regressão linear univariada do cortisol sérico após 2 mg de dexametasona com idade, IMC, CA, RCQ, IAC, GJ, HbA1c, CT, LDLc, HDLc, triglicérides e pressão arterial sistólica e diastólica, o cortisol sérico após 2 mg de dexametasona apresentou correlação ($<0,15$) com HbA1c, peptídeo C, idade do paciente e IAC. Após análise de regressão linear multivariada foi encontrada associação negativa entre o cortisol sérico após 2mg de dexametasona e índice de adiposidade corporal ($B -0,014$, $p=0,045$).

Em análise de regressão linear univariada do cortisol sérico matinal com idade do paciente, IMC, CA, RCQ, IAC, GJ, HbA1c, CT, LDLc, HDLc, triglicérides e pressão arterial sistólica e diastólica, o cortisol sérico matinal apresentou correlação ($<0,15$) com CA e tempo de diagnóstico, após análise de regressão linear multivariada foi encontrada tendência de associação negativa entre o cortisol sérico matinal e CA ($B= -0,96$; $p= 0,058$) e o tempo de diagnóstico do DM2 ($B =-0,162$, $p=0,055$).

Tabela 5. Análise comparativa das variáveis clínicas e laboratoriais entre os 54 portadores de *diabetes mellitus* tipo 2 estudados, de acordo com o IMC.

Variável	Obesos				Não Obesos				p
	N	Média±DP	Mediana (IQ)	IC 95%	N	Média ± DP	Mediana (IQ)	IC 95%	
Idade (anos)	21	56,6± 9,0	58 (505,-62)	52,5-60,7	33	60,1 ±7,8	60 (54-65,5)	57,3-62,9	0,143**
Tempo de diagnóstico (anos)	18	7,5 ±7,4	4,5 (2,7-10,2)	3,8-11,2	33	12,2 ±7,8	10 (6,0-16,0)	9,4-15,0	0,016*
Índice de massa corporal (kg/m ²)	21	36,6±6,7	34,1 (31,7-39,5)	33,5-39,7	33	25,9±2,42	26,1 (24,1-27,6)	25,0-26,7	0,000*
Circunferência abdominal (cm)	20	108,3 ±13,5	106(100-111,6)	101,9-114,6	33	93,31 ±8,75	91,5(86,4-101,7)	90,2-96,4	0,000*
Relação CA/CQ	20	0,93 ±0,09	0,95(0,9-1,0)	0,89-0,97	33	0,97 ±0,15	0,96 (0,91-0,99)	0,92-1,03	0,898*
Pressão arterial sistólica (mmHg)	19	133,3 ±16,0	135 (120-140)	125,5-141,0	33	131,0 ±16,0	130 (120-140)	125,3-136,7	0,628**
Pressão arterial diastólica (mmHg)	19	84,6 ±10,2	80 (80-90)	79,7-89,6	33	77,8 ±16,4	80 (77,5-80)	71,6-83,3	0,091**
HOMA-IR ^a	21	6,0 ±4,2	4,7 (3,0-8,2)	4,1-8,0	31	3,8 ±3,0	3,3 (1,5-4,4)	2,71-4,92	0,011*
Glicemia de jejum (mg/dL)	21	149,6 ±58,7	135 (114-166)	122,9-176,3	31	144,8 ±58,0	128 (99-176)	123,5-166,1	0,563*
Hemoglobina glicada (%)	21	7,66±1,51	6,9 (6, 3-8,9)	6,9-8,2	33	7,3±1,5	6,8 (6,0-8,6)	6,8-7,9	0,429*
Peptídeo C (ng/mL)	21	3,05 ±0,83	3,0 (2,4-3,5)	2,6-3,4	33	2,16 ±0,94	1,91 (1,5-1,9)	1,8-2,4	0,001**
Insulina (µUi/mL)	21	17,3 ±13,5	13,8 (10,7-19)	11,2-23,5	33	9,5±6,1	7,1 (4,2-13,1)	7,4-11,7	0,003*
Colesterol total (mg/dL)	21	167,5 ±43,4	156 (141-183)	147,7-187,3	33	158,7 ±28,7	152 (133-182,5)	148,5-16,8	0,570*
LDL ^b (mg/dL)	21	95,8 ±44,4	83 (63,5-122,5)	75,6-116,1	33	86,8 ±25,7	81 (68-107,5)	77,6-95,9	0,348**
HDL ^c (mg/dL)	21	45,5 ±8,4	45 (39-51)	41,7-49,4	33	48,4 ±9,5	49 (40,5-55,5)	45,0-51,8	0,270**
Triglicérides (mg/dL)	21	167,3±112,4	141 (113-189)	116,1-218,5	33	127,7 ±82,7	112 (72,5-151,5)	98,4-157,1	0,070*

* variáveis com distribuição normal - utilizado teste t; de Student** variáveis com distribuição não normal - utilizado teste U de Mann Whitney; IQ: intervalo interquartil; ^aHomeostatic model assessment; ^blipoproteína de baixa densidade; ^clipoproteína de alta densidade.

Tabela 6. Atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal nos portadores de *diabetes mellitus* tipo 2 estudados, de acordo com o IMC e a presença de SM.

Variável	Obesos				Não Obesos				p
	N	Média±DP	Mediana (IQ)	IC 95%	N	Média ± DP	Mediana (IQ)	IC 95%	
Cortisol salivar noturno	21	0,23± 0,11	0,18 (0,15-0,28)	0,18-0,28	31	0,23 ±0,12	0,20 (0,15-0,27)	0,19-0,28	0,916**
Cortisol sérico às 8h	21	12,6 ±5,3	10,8 (9,4-17,6)	10,1-15,0	31	11,7 ±4,2	11,6 (9,0-14,8)	10,2-13,2	0,528**
ACTH às 8h ^a	21	22,4±9,1	21,2 (15,2-28,7)	18,3-26,6	32	22,2±11,2	18,8 (14,9-25,5)	18,2-26,2	0,945**
Cortisol sérico após 0,5mg ^b	21	1,6 ±1,7	0,80 (0,61-1,9)	0,83-2,4	33	1,4 ±1,5	1,00 (0,50-1,50)	0,9-2,04	0,736*
Cortisol salivar após 0,5mg ^b	20	0,19 ±0,06	0,19 (0,15-0,22)	0,16-0,21	31	0,24 ±0,13	0,20 (0,15-0,34)	0,19-0,29	0,083**
Cortisol sérico após 1mg ^b	21	0,9 ±0,4	0,81 (0,56-1,11)	0,7-1,1	33	1,1 ±1,3	0,76 (0,60-1,08)	0,6-1,5	0,769*
Cortisol salivar após 1mg ^b	20	0,22 ±0,10	0,18 (0,15-0,25)	0,17-0,27	32	0,22 ±0,11	0,21 (0,14-0,27)	0,18-0,26	0,857**
Cortisol sérico após 2mg ^b	21	0,66 ±0,3	0,60 (0,42-0,90)	0,50-0,83	32	0,68 ±0,4	0,60 (0,40-0,80)	0,51-0,84	0,921**
Cortisol salivar após 2mg ^b	21	0,20 ±0,06	0,19 (0,15-0,24)	0,17-0,23	31	0,21 ±0,1	0,17 (0,12-0,29)	0,17-0,25	0,719**
Variável	Com Síndrome Metabólica				Sem Síndrome Metabólica				p
	N	Média±DP	Mediana (IQ)	IC 95%	N	Média ± DP	Mediana (IQ)	IC 95%	
Cortisol salivar noturno	47	0,21± 0,10	0,18 (0,15-0,26)	0,18-0,24	5	0,34±0,17	0,33 (0,22-0,48)	0,13-0,56	0,035**
Cortisol sérico às 8h	47	11,7±4,5	10,8 (9,0-14,2)	10,2-13,1	5	12,7 ±2,9	11,8 (10,3-15,7)	9,1-16,3	0,625**
ACTH às 8h ^a	48	22,2±11,1	19,0 (14,8-27,8)	18,8-25,7	5	22,7±4,1	24,6 (19,3-25,1)	17,5-27,8	0,449**
Cortisol sérico após 0,5mg ^b	49	1,5 ±1,7	0,94 (0,60-1,58)	1,0-2,0	5	1,5 ±0,72	1,50 (0,95-2,18)	0,65-2,4	0,175**
Cortisol salivar após 0,5mg ^b	47	0,22±0,1	0,20 (0,15-0,24)	0,19-0,25	4	0,27 ±0,16	0,22 (0,15-0,44)	0,17-0,52	0,600**
Cortisol sérico após 1mg ^b	49	1,02 ±1,17	0,70 (0,60-1,10)	0,67-1,38	5	1,38 ±0,58	1,10 (0,95-1,97)	0,6-2,1	0,026**
Cortisol salivar após 1mg ^b	47	0,22 ±0,11	0,20 (0,14-0,29)	0,19-0,26	5	0,20±0,05	0,18 (0,16-0,27)	0,13-0,27	0,952**
Cortisol sérico após 2mg ^b	48	0,64 ±0,35	0,60 (0,40-0,80)	0,53-0,74	5	1,08 ±0,81	0,80 (0,57-1,73)	0,07-2,09	0,080**
Cortisol salivar após 2mg ^b	45	0,21 ±0,08	0,19 (0,14-0,29)	0,18-0,23	4	0,21 ±0,08	0,22 (0,12-0,33)	0,18-0,23	0,738**

* variáveis com distribuição normal – teste t de Student; ** variáveis com distribuição não normal – teste U de Mann Whitney ;^aACTH: hormônio adrenocorticotrófico, ^b 0,5mg, 1,0mg e 2,0 mg: doses de dexametasona utilizadas durante o teste de supressão; IQ: intervalo interquartil.

5.5 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS, LABORATORIAIS E RESULTADOS DOS TESTES DE AVALIAÇÃO DO EIXO HHA, DE ACORDO COM O SEXO

No presente estudo foram incluídos 14 homens e 40 mulheres. As mulheres apresentaram maior valor de IAC quando comparadas aos homens, mas não houve diferenças entre os sexos quanto à idade, tempo de diagnóstico do DM2, IMC, RCQ, CA, variáveis relacionadas ao controle glicêmico, resistência insulínica, perfil lipídico e pressão arterial (Anexo IX). Também não houve diferenças quanto às variáveis relacionadas à atividade do eixo HHA (Anexo X).

5.6 CARACTERÍSTICAS DOS PORTADORES DE DIABETES MELLITUS TIPO 2 ESTUDOS QUE APRESENTARAM RESULTADOS ANORMAIS NOS TESTES DE AVALIAÇÃO DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL

Dois pacientes (3,8%) apresentaram cortisol sérico às 8h acima do limite superior da faixa de referência e um (1,9%), abaixo do limite da faixa de referência (Figura 2A). Dois pacientes (3,8%) apresentaram concentração plasmática de ACTH acima da faixa de referência (Figura 2B) e 7 pacientes (13,5%) apresentaram cortisol salivar às 23h acima do limite superior da faixa de normalidade (Figura 2C).

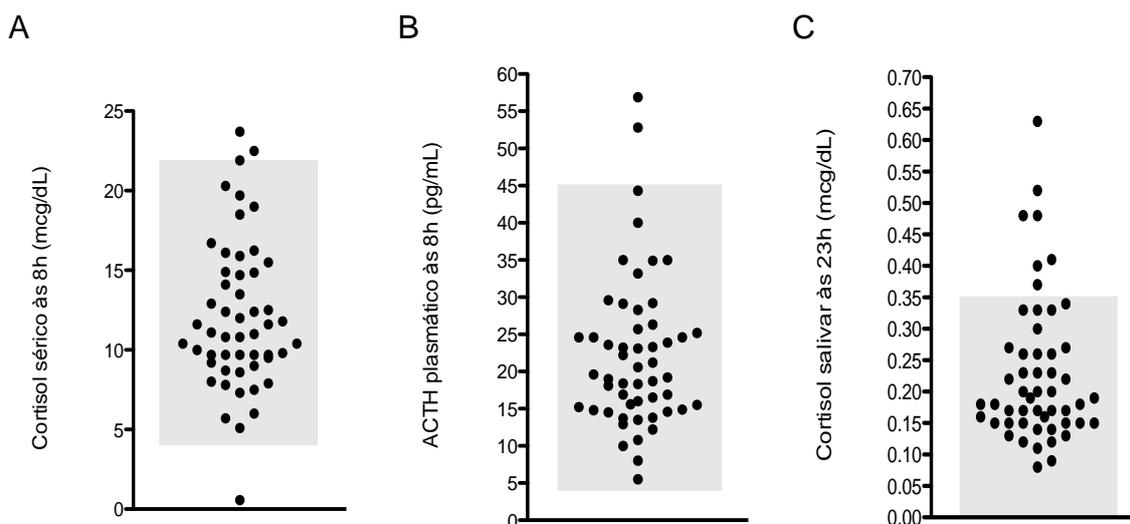


Figura 2. Concentração de (A) cortisol sérico às 8h, (B) ACTH plasmático às 8h e (C) cortisol salivar às 23h dos 54 pacientes com diabetes mellitus do tipo 2 estudados. As áreas sombreadas em cinza representam os valores incluídos na faixa de referência de cada teste.

Onze dos 54 pacientes (20,4%) estudados apresentaram o cortisol sérico às 8h em valores superiores a $1,8 \mu\text{g/dL}$ após a administração de 0,5 mg de dexametasona. Cinco pacientes apresentaram cortisol sérico após 1mg de dexametasona igual ou superior a $1,8 \mu\text{g/dL}$. Entre esses, um deles apresentou cortisol sérico após 1mg de dexametasona de $8,16 \mu\text{g/dL}$ e ACTH plasmático também após 1 mg de dexametasona de $13,8 \text{pg/mL}$. Esse dado não foi considerado nas análises estatísticas por suspeita de não ingestão adequada de 1mg de dexametasona. A presença de SC foi descartada pela supressão normal do cortisol após 2mg de dexametasona, assim como do ACTH. Um paciente (1,9%) não suprimiu o cortisol sérico após 2 mg de dexametasona (Figura 4A). Portanto, foi considerado que quatro pacientes (7,5%) entre 53 que realizaram o teste de supressão com 1 mg de dexametasona de forma adequada não suprimiram o cortisol sérico às 8h. Um paciente (1,9%) não suprimiu o cortisol sérico após 2 mg de dexametasona (Figura 3A).

No que diz respeito ao cortisol salivar, doze pacientes (23,5%) não suprimiram o cortisol salivar após administração de 0,5mg de dexametasona para valores inferiores ao percentil 75 ($0,26 \mu\text{g/dL}$), sete (14,5%) não suprimiram para

valores inferiores ao percentil 75 ($0,26\mu\text{g/dL}$) após 1 mg de dexametasona e sete (13,4%) não suprimiram para valores inferiores ao p75 ($0,29 \mu\text{g/dL}$) após 2 mg de dexametasona (Figura 3B).

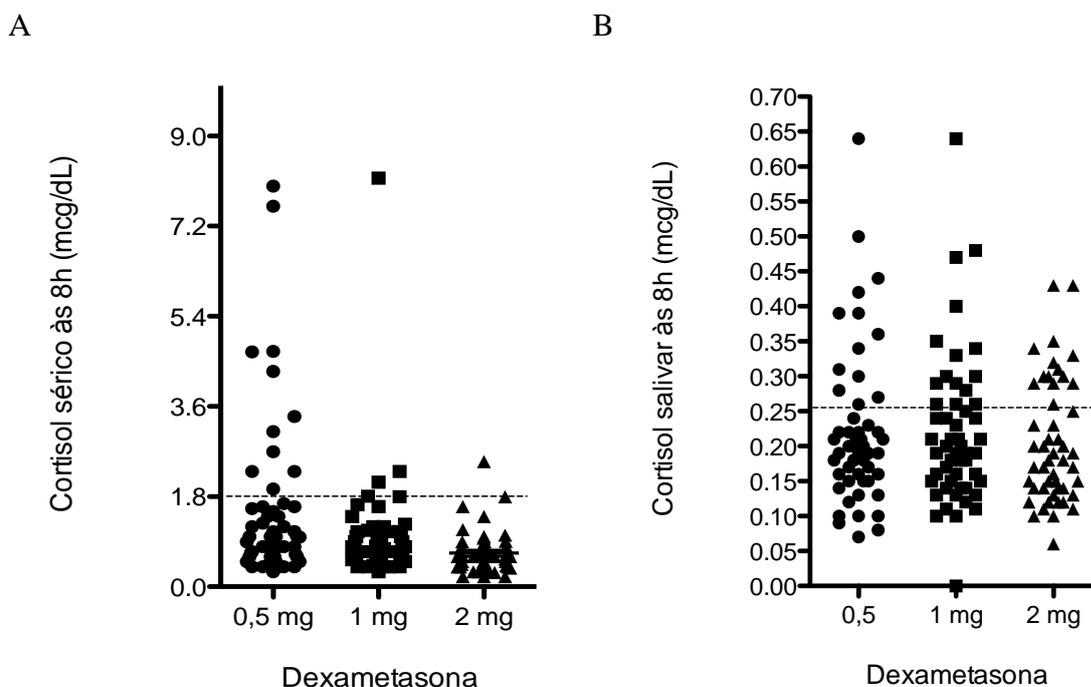


Figura 3. Concentração de (A) cortisol sérico e (B) salivar encontrados em 54 pacientes com diabetes mellitus tipo 2 após supressão com baixas doses de dexametasona. Na figura A, a linha pontilhada representa o ponto de corte do cortisol sérico após a administração de 0,5, 1 ou 2 mg de dexametasona. Na figura B, a linha pontilhada representa o percentil 75 do cortisol salivar ($0,26 \text{ mcg/dL}$) após administração de 0,5 e 1 mg de dexametasona.

Na tabela 7, encontra-se a frequência de todos os resultados alterados nos testes de avaliação do eixo HHA nos pacientes com *diabetes mellitus* tipo 2 estudados.

Tabela 7. Frequência de resultados alterados nos testes de avaliação da atividade eixo HHA nos pacientes com *diabetes mellitus* tipo 2 estudados

Teste	Frequência de resultados alterados	Referência
Cortisol às 8h	> 22 µg/dL: 3,8% (2/52) < 4 µg/dL: 1,9% (1/52)	4,0-22 µg/dL
ACTH ^a às 8h	3,8% (02/53)	5,0-46,0 pg/mL
Cortisol salivar noturno	13,5% (07/52)	22-24h: < 0,35 µg/dL
Cortisol sérico após 0,5 mg	20,4% (11/54)	< 1,8 µg/dL
Cortisol sérico após 1,0 mg	7,5% (04/53)	<1,8µg/dL
Cortisol sérico após 2,0 mg	1,9% (01/53)	<1,8µg/dL
Cortisol salivar após 0,5 mg	23,5% (12/51)	< 0,26µg/dL (<p75)
Cortisol salivar após 1,0 mg	13,5% (07/52)	< 0,26µg/dL (<p75)
Cortisol salivar após 2,0 mg	26,5% (13/49)	< 0,29µg/dL (<p75)

p75: percentil 75; ^a hormônio adrenocorticotrófico.

5.6.1 Características dos portadores de *diabetes mellitus* tipo 2 estudados que apresentaram rastreamento positivo para Síndrome de Cushing

Quando comparados os resultados dos dois testes de rastreamento para SC, cortisol salivar às 23h e teste de supressão do cortisol com 1 mg de dexametasona, foi observado que a maioria apresentou resultados normais em ambos. Cinco pacientes (9,6%) apresentaram elevação do cortisol salivar às 23h, porém cortisol sérico abaixo de 1,8 µg /dL após supressão com 1 mg de dexametasona. Um homem (1,9%) apresentou cortisol sérico acima de 1,8 µg/dL após supressão com 1 mg de dexametasona, porém cortisol salivar às 23h normal e outro homem apresentou cortisol sérico acima de 1,8 µg/dL após supressão com 1 mg de dexametasona, porém não teve amostra de cortisol salivar noturno satisfatória. A concordância entre os resultados do cortisol sérico pós-1 mg de dexametasona e do cortisol salivar às 23h, portanto, foi observada em 47 dos 54 pacientes (87%).

Dois pacientes (1,8%) apresentaram ambos, cortisol salivar às 23h e cortisol sérico após supressão com 1 mg de dexametasona acima da referência (Figura 4), ou seja, dois pacientes apresentaram rastreamento positivo para SC.

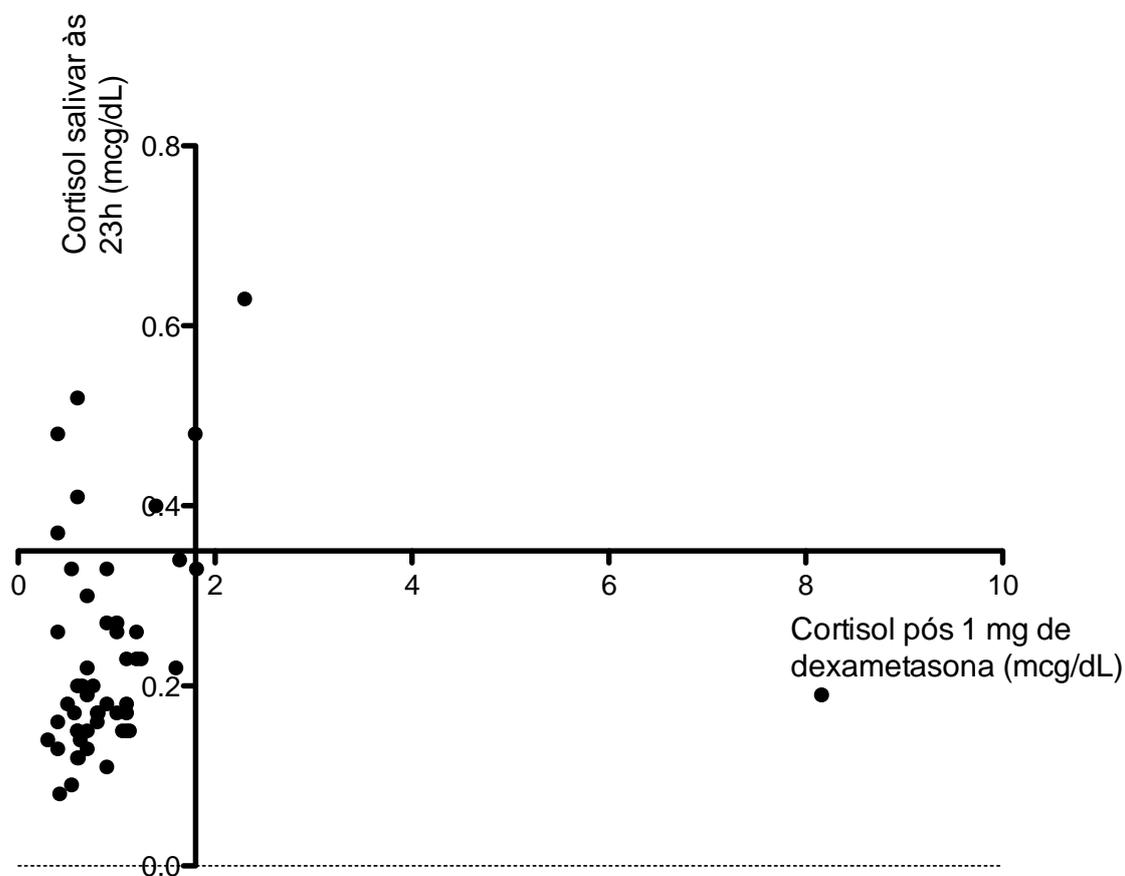


Figura 4. Análise simultânea do cortisol salivar às 23h e do cortisol sérico após 1 mg de dexametasona nos 52 pacientes com *diabetes mellitus* tipo 2 que realizaram ambos os testes. Rastreamento para SC positivo quando cortisol salivar noturno $\geq 0,35\mu\text{g/dL}$ e cortisol sérico após 1mg de dexametasona $\geq 1,8\mu\text{g/dL}$.

Dentre os dois pacientes que apresentaram rastreamento positivo para SC, verificou-se que:

(i) O primeiro apresentou também cortisol sérico após 2mg de dexametasona $\geq 1,8\mu\text{g/dL}$ e ACTH plasmático às 8h de 25pg/mL . O paciente em questão é do sexo masculino e tem diagnóstico de DM2 a cerca de 15 anos, apresenta bom controle glicêmico $\text{HbA1c}=6,6\%$, $\text{CA}=93,7\text{cm}$ e $\text{RCQ}=0,97$ aumentadas para o sexo, HOMA-IR aumentado (4,19) e microalbuminúria persistentemente alterada ($>30\text{mg/g}$), porém não apresentou diagnóstico de SM

segundo os critérios da Federação Internacional de Diabetes (60). Esse paciente não apresentou sinais discriminatórios de SC, como estrias violáceas, fraqueza de musculatura proximal ou fragilidade capilar. O resultado de sua ressonância magnética de sela túrcica foi normal.

(ii) O segundo paciente teve o diagnóstico de SC descartado após verificação de valores normais ($< 1,8 \mu\text{g/dL}$) de cortisol após supressão com 2mg de dexametasona. Trata-se de uma paciente do sexo feminino, que apresenta diagnóstico de SM segundo Federação Internacional de Diabetes (60), além do DM2 apresenta CA=107cm, RCQ=0,90, HOMA-IR=4,77 e HbA1c=8,3%, aumentados e HDL baixo (46mg/dL). Não apresenta complicações crônicas.

5.6.2 Características dos portadores de *diabetes mellitus* tipo 2 estudados quanto às alterações do cortisol salivar noturno

Entre os 52 pacientes estudados, que realizaram adequadamente a coleta de amostra de saliva para dosagem do cortisol salivar às 23h, sete (13,5%) apresentaram cortisol salivar noturno igual ou superior a $0,35\mu\text{g/dL}$ (tabela 7). Esses pacientes apresentaram média de idade maior do que a dos pacientes com cortisol salivar às 23h normal ($p=0,035$)(Tabela 8).

Em análise de regressão linear univariada incluindo idade, IMC, CA, RCQ, IAC, GJ, HbA1c, CT, LDL, HDL, triglicérides, PAS e PAD, o cortisol salivar noturno apresentou associação com idade do paciente e peptídeo C, quando essas variáveis foram inseridas em um modelo de análise de regressão linear multivariada apenas a idade do paciente manteve associação positiva com cortisol salivar noturno ($B=0,004, p=0,020$), assim como a correlação de Pearson foi positiva ($r=0,34, p=0,013$)(Figura5).

Tabela 8. Análise comparativa de características clínicas e laboratoriais dos pacientes que apresentaram resultados anormais na avaliação do cortisol salivar noturno

□

Variável	Cortisol salivar noturno <0,35µg/dL				Cortisol salivar noturno ≥0,35µg/dL				p
	N	Média±DP	Mediana (IQ)	IC 95%	N	Média ± DP	Mediana (IQ)	IC 95%	
Idade(anos)	45	57,8±8,4	58 (53-63)	55,3-60,3	7	65,1 ±6,7	65 (58-72)	58,8-71,4	0,035**
Tempo de diagnóstico (anos)	44	11,1 ±8,1	10 (5-16)	8,6-13,5	7	5,9 ±5,8	13 (3,5-14,5)	2,4-17,1	0,733**
Índice de massa corporal (kg/m ²)	45	30,3±7,3	28,3(25,1-33,6)	28,1-32,5	6	25,7±34,3	29,9 (26,8-31,4)	25,7-34,3	0,916**
Circunferência abdominal (cm)	45	98,6 ±13,7	95 (88,5-106)	94,5-102,8	6	102,0 ±4,5	102,7(99,1-105,5)	97,2-106,8	0,558**
Relação CA/CQ	45	0,95 ±0,14	0,94(0,910,98)	0,91-0,99	6	0,99 ±0,05	1,0 (0,95-1,05)	0,91-1,05	0,504**
Pressão arterial sistólica (mmHg)	43	131,9 ±17,2	130 (120-140)	126,6-137,2	7	132,1±6,98	130 (130-140)	125,6-126,6	0,975**
Pressão arterial diastólica (mmHg)	43	81,8 ±9,7	80 (80-90)	78,8-84,8	7	81,5 ±9,5	80 (75-86)	72,7-90,3	0,705*
HOMA-IR ^a	43	4,8 ±3,9	38 (0,21-5,8)	3,6-6,0	7	10,7 ±5,2	3,8 (2,1-4,7)	1,9-5,8	0,780*
Glicemia de jejum (mg/dL)	43	149,0 ±60,3	135 (105-173)	130,4-167,6	7	148,2±43,4	161 (115-190)	108,0-188,4	0,635*
Hemoglobina glicada (%)	45	7,38±1,49	6,8 (6,1 -8,7)	6,9-7,8	7	7,6±0,96	7,3 (6,8-8,7)	6,74-8,53	0,314*
Peptídeo C (ng/mL)	45	2,54 ±1,03	2,36 (1,84-3,2)	2,2-2,8	7	2,56 ±0,85	3,01 (1,6-3,1)	1,7-3,3	0,967**
Insulina (µUi/mL)	45	13,3 ±10,8	12,1 (6,8-17,1)	10,1-16,6	7	10,7±5,2	11,3 (6,8-17,6)	5,9-15,6	0,668*
Colesterol total (mg/dL)	45	163,2 ±36,7	153 (137-182,5)	152,1-174,2	7	152,1±24,5	153 (130-171)	129,4-174,8	0,446**
LDL ^b (mg/dL)	45	90,2 ±35,4	80 (66,5-107,5)	79,5-100,8	7	86,2 ±27,4	83 (57-117)	60,9-111,6	0,782**
HDL ^c (mg/dL)	45	47,4 ±9,51	46 (40-56,5)	44,5-50,3	7	45,0 ±5,3	45 (42-50)	40,0-49,9	0,512**
Triglicérides (mg/dL)	45	146,4±103,8	117 (120-140)	115,2-177,6	7	132,8 ±46,5	125 (112-170)	89,8-175,9	0,737*

* variáveis com distribuição normal - utilizado teste t de Student; ** variáveis com distribuição não normal – utilizado teste U de Mann Whitney; IQ: intervalo interquartil; ^aHomeostatic model assessment; ^b lipoproteína de baixa densidade; ^clipoproteína de alta densidade

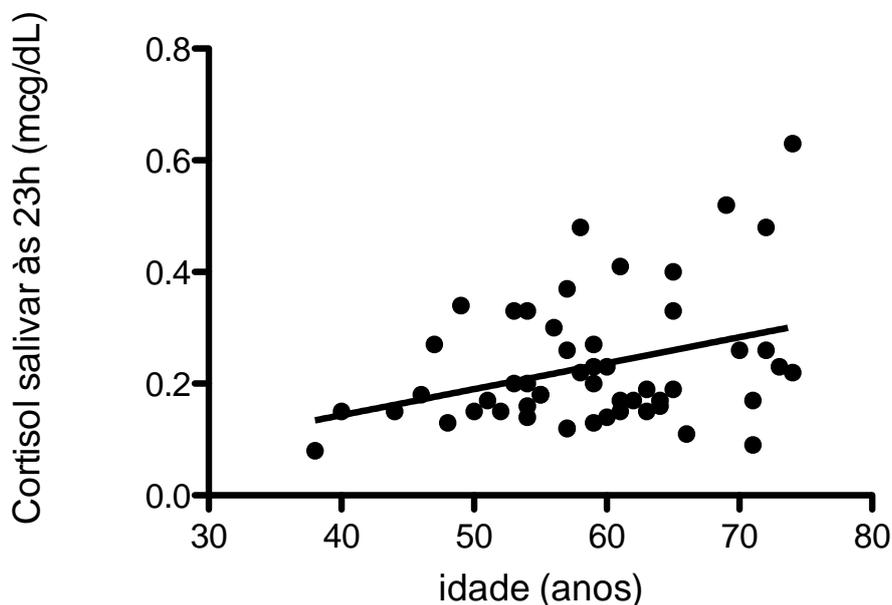


Figura 5. Correlação entre a idade e o valor do cortisol salivar às 23h, entre os 52 portadores de DM2 estudados e submetidos à avaliação do cortisol salivar às 23h. $R = 0,34$, $p = 0,013$ (Pearson).

5.6.3 Características dos portadores de *diabetes mellitus* do tipo 2 estudados quanto aos resultados anormais do cortisol sérico após baixas doses de dexametasona

Não houve diferenças entre as variáveis clínicas relativas ao controle glicêmico, resistência insulínica, pressão arterial e perfil lipídico entre os 4 pacientes que não apresentaram supressão do cortisol sérico em resposta a 1mg de dexametasona e os 49 pacientes que apresentaram supressão (Anexo XI).

Em uma análise de regressão linear univariada incluindo idade, IMC, CA, RCQ, IAC, GJ, HbA1c, CT, LDL, HDL, triglicérides, pressão arterial sistólica e diastólica, o cortisol sérico após 1mg de dexametasona apresentou associação com glicemia de jejum, peptídeo C, tempo de diagnóstico e pressão arterial diastólica. Após análise de regressão multivariada verificou-se associação

positiva com concentração sérica de peptídeo C ($B=0,148$, $p=0,023$) e negativa com pressão arterial diastólica ($B=-0,014$ e $p=0,039$).

5.6.4 Características dos portadores de *diabetes mellitus* do tipo 2 estudados que apresentaram resultados acima do p75 do cortisol salivar após baixas doses de dexametasona

Os pacientes estudados foram divididos em quatro quartis, são eles: abaixo do percentil 25, entre percentil 25-50, entre percentil 50-75 e acima do percentil 75.

Na primeira avaliação, os pacientes foram divididos em dois grupos, de acordo com o valor do cortisol salivar após dexametasona: abaixo ou acima do percentil 75 (p75). O valor do p75 foi de $0,26 \mu\text{g/dL}$, para os testes de supressão com 0,5 e 1 mg de dexametasona e de $0,29 \mu\text{g/dL}$ para o teste de supressão com 2 mg de dexametasona.

Os pacientes com cortisol salivar após 0,5mg acima do p75 apresentaram IMC médio menor do que os que apresentaram cortisol salivar abaixo do p75 ($p=0,035$) (Tabela 9). Os pacientes com cortisol salivar após 1mg de dexametasona acima do p75 apresentaram concentração sérica média do peptídeo C superior a daqueles com cortisol salivar após 1mg de dexametasona abaixo do p75 ($p=0,015$) (Tabela 10). Não houve diferenças significativas entre as variáveis clínicas e laboratoriais dos pacientes que apresentaram valores de cortisol salivar após 2mg de dexametasona abaixo ou acima do p75 (anexo XII).

Em um segundo momento, foi comparado a concentração mediana de peptídeo C, IMC, circunferência abdominal e hemoglobina glicada entre os quatro quartis de cortisol salivar após dexametasona por meio do teste H de Kruskal-Wallis (Anexo XIII). A concentração mediana do peptídeo C no quarto quartil foi de $3,1 \text{ ng/mL}$ ($2,5-3,8$), maior do que no primeiro quartil, que foi $1,9 \text{ ng/mL}$ ($1,6-2,4$) ($p=0,041$) e terceiro quartil, de $2,0 \text{ ng/mL}$ ($1,6-2,4$) ($p=0,005$)

(figura 6), e a concentração mediana da Hemoglobina glicada foi igual no primeiro quartil, 7,8% (6,5-9,6) e no quarto quartil, 7,8% (6,8-8,7) ($p=0,667$) (figura 7).

Tabela 9. Análise comparativa de variáveis clínicas dos portadores de *diabetes mellitus* tipo 2 estudados, de acordo com o valor do cortisol salivar em resposta à supressão com 0,5 mg de dexametasona.

Variável	Cortisol salivar após 0,5mg de dexametasona ≤ 0,26 µg/dL ^a				Cortisol salivar após 0,5mg de dexametasona > 0,26 µg/dL ^a				p
	N	Média±DP	Mediana (IQ)	IC 95%	N	Média±DP	Mediana (IQ)	IC 95%	
Idade (anos)	39	57,9± 8,5	58 (53,0-64,0)	55,1-60,7	12	61,5 ±6,8	61 (54,7-65,0)	57,1-65,8	0,194*
Tempo de diagnóstico (anos)	36	10,4 ±8,5	9,5 (4,0-15,5)	7,5-13,3	12	12,2 ±6,6	13,5 (6,0-17,0)	7,9-16,4	0,316**
Índice de massa corporal (kg/m ²)	39	31,0±7,4	29,8(25,3-33,7)	28,6-33,4	12	26,7±4,4	26,9 (23,2-28,1)	23,9-29,6	0,035**
Relação CA/CQ	39	0,96 ±0,15	0,96 (0,91-1,0)	0,91-1,01	12	0,96 ±0,05	0,96 (0,92-0,99)	0,92-0,99	0,998*
Circunferência abdominal	39	100,0±13,6	100 (90-107)	95,6-104,5	12	95,8±10,5	93,3 (89,2-102,1)	89,1-102,5	0,332*
Pressão arterial sistólica (mmHg)	37	134,3 ±16,5	135 (120-140)	128,8-139,8	12	125,5±13,0	128 (120-130)	117,2-133,7	0,097**
Pressão arterial diastólica (mmHg)	37	82,1 ±9,5	80 (80-90)	79,0-85,3	12	72,0 ± 24,4	80 (70-80)	56,5-87,6	0,172**
HOMA-IR ^b	39	4,6 ±3,7	3,6 (2,0-5,6)	3,4-5,8	10	3,9 ±2,1	4,0 (1,9-5,4)	2,3-5,4	0,951**
Glicemia de jejum (mg/dL)	39	152,5±61,0	141 (111-189)	132,7-172,3	10	118,4 ±29,6	120 (89,7-127,5)	97,2-139,5	0,102*
Hemoglobina glicada (%)	39	7,5±1,51	7,1 (6,2 -8,8)	7,0-0	10	3,9±2,1	6,5 (5,9-7,9)	2,3-5,4	0,155**
Peptídeo C (ng/mL)	39	2,4 ±1,0	2,2 (1,8-3,2)	2,1-2,8	12	2,4 ±1,0	2,1 (1,5-3,4)	1,7-3,0	0,894*
Insulina (µUi/mL)	39	12,3 ±11,4	10,9 (6,0-13,8)	8,6-16,0	12	12,2±5,8	13,1 (6,8-17,2)	8,5-16,0	0,393**
Colesterol total (mg/dL)	39	167,4 ±37,3	161 (142-195)	155,3-179,5	12	147,0 ±26,0	139,5 (131-151,2)	130,5-163,6	0,064**
LDL ^c (mg/dL)	39	93,6 ±36,4	84 (68-195)	81,8-105,4	12	78,3 ±26,0	70,5 (63-87,5)	61,4-95,2	0,184*
HDL ^d (mg/dL)	39	47,4 ±9,1	46 (40,0-53,0)	44,4-50,3	13	40,6 ±9,3	47 (40,5- 54,7)	40,6-52,5	0,786*
Triglicérides (mg/dL)	39	148,5±93,1	126 (83-181)	1184-178,7	12	133 ±115,2	98 (72,2-126,2)	59,7-206,2	,0162***

* variáveis com distribuição normal - utilizado Teste T de Student; ** variáveis com distribuição não normal - utilizado teste U de Mann Whitney; IQ: intervalo interquartil; ^aHomeostatic model assessment;

^blipoproteína de baixa densidade; ^clipoproteína de alta densidade; obs: cortisol salivar após 0,5 mg de dexametasona >0,26µg/dL corresponde a valores acima do percentil 75.

Tabela 10. Análise comparativa de variáveis clínicas dos portadores de *diabetes mellitus* tipo 2 estudados, de acordo com o valor do cortisol salivar em resposta à supressão com 1 mg de dexametasona.

Variável	Cortisol salivar após 1mg de dexametasona ≤ 0,26µg/dL (≤p75)				Cortisol salivar após 1mg de dexametasona > 0,26µg/dL (>p75)				p
	N	Média±DP	Mediana (IQ)	IC 95%	N	Média±DP	Mediana (IQ)	IC 95%	
Idade(anos)	40	58,8± 9,0	59 (53,2-64,7)	55,9-61,7	12	58,9 ±6,9	57,5 (54,2-64,0)	54,4-63,3	0,981*
Tempo de diagnóstico (anos)	44	11,1 ±8,1	9,5 (3,0-16,0)	8,6-13,5	7	5,9 ±6,1	11,0 (8,0-14,0)	2,4-17,1	0,275**
Índice de massa corporal (kg/m ²)	40	29,7±7,3	28,1 (24,4-28,1)	27,5-32,0	12	30,9±34,3	28,3 (26,9-32,7)	26,5-35,3	0,501**
Circunferência abdominal (cm)	39	99,3 ±14,3	95,0 (88-108)	94,6-103,9	12	98,3± 8,6	101,7(91,1-105,2)	92,8-103,8	0,833*
Relação CA/CQ	39	0,97 ±0,14	0,97 (0,92-1,00)	0,92-1,02	12	0,92 ±0,10	0,93 (0,90-1,00)	0,85-0,99	0,283*
Pressão arterial sistólica (mmHg)	39	131,7 ±16,8	130 (120-140)	126,3-137,2	11	128,9 ±11,1	130 (120-138)	121,4-136,4	0,577**
Pressão arterial diastólica (mmHg)	39	78,7 ±16,0	80 (75-88)	73,5-83,9	11	81,4 ±5,5	80 (80-86)	77,7-85,2	0,586**
HOMA-IR ^a	39	4,6±3,7	3,6 (2,0-6,0)	3,4-8	7	4,9 ±3,8	3,8 (2,7-4,7)	2,4-7,5	0,590**
Glicemia de jejum (mg/dL)	39	146,3 ±61,9	128 (100-173)	99,9-176,6	11	148,4 ±45,4	151 (115-171)	117,9-178,9	0,440**
Hemoglobina glicada (%)	40	7,3±1,49	6,6 (6,1 -8,7)	6,8-7,7	12	7,8±1,4	7,8 (6,8-8,7)	6,9-8,7	0,139**
Peptídeo C (ng/mL)	40	2,3 ±0,9	2,1 (1,6-3,1)	2,0-2,6	12	3,1 ±0,90	3,1 (2,5-3,8)	2,5-3,6	0,015*
Insulina (µUi/mL)	40	12,2 ±10,5	10,7 (4,4-16,3)	8,5-15,0	12	13,4±5,9	12,3 (8,2-16,5)	9,7-17,2	0,259**
Colesterol total (mg/dL)	40	159,2 ±29,7	150 (135-184,5)	149,9-168,9	12	160,1 ±25,7	156 (143,5-176,2)	143,7-176,5	0,688**
LDL ^b (mg/dL)	40	88,8 ±28,5	80,5 (67,5-109)	79,6-97,9	12	85,2 ±28,4	83 (62-103)	67,1-103,6	0,700*
HDL ^c (mg/dL)	40	47,6 ±8,2	47 (40-52,1)	44,5-50,3	12	46,2 ±12,3	43,5 (37-50,5)	38,5-54	0,660*
Triglicérides (mg/dL)	40	130,7±73,1	116,5 (80-167)	107,2-154,6	12	160,9 ±114,5	135 (87,7-209,0)	88,1-233,7	0,403**

* variáveis com distribuição normal - utilizado teste t de Student; ** variáveis com distribuição não normal - utilizado teste U de Mann Whitney; IQ: intervalo interquartil; ^aHomeostatic model assessment; ^blipoproteína de baixa densidade; ^clipoproteína de alta densidade; obs: cortisol salivar após 1mg de dexametasona >0,26µg/dL corresponde a valores acima do percentil 75

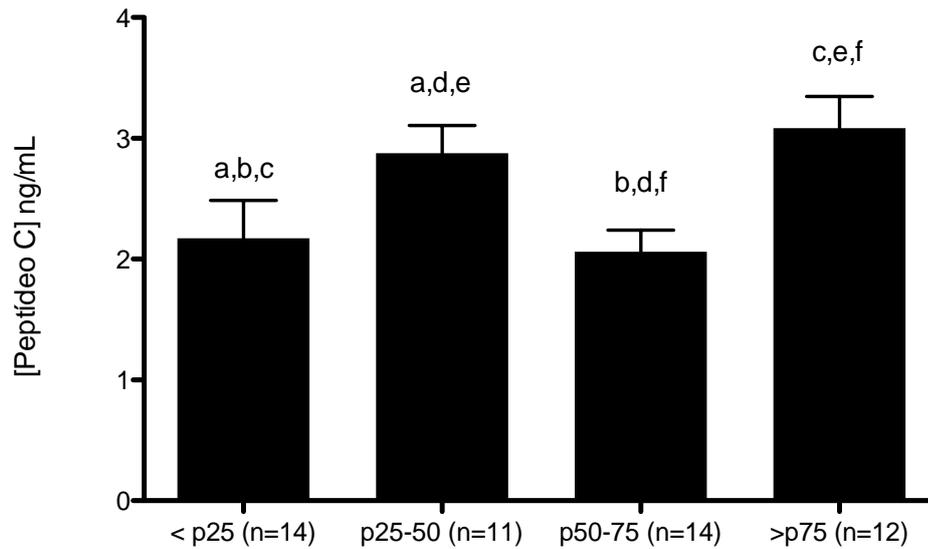


Figura 6. Comparação entre as concentrações medianas do peptídeo C e as concentrações do cortisol salivar após 1 mg de dexametasona divididas em quartis.

*Para comparar o valor médio de peptídeo C entre os quartis de cortisol salivar após 1mg de dexametasona foi utilizada teste H de Kruskal-Wallis. Para comparar a média de um quartil com outro teste de U de Mann Whitney; a: $p=0,630$, comparação do primeiro quartil com segundo; b: $p=0,748$, comparação do primeiro quartil com terceiro; c: $p=0,041$, comparação do primeiro quartil com quarto; d: $p=0,011$, comparação do segundo quartil com terceiro; e: $p=0,608$, comparação do segundo quartil com o quarto; f: $p=0,005$, comparação do terceiro quartil com o quarto. (p25: $\leq 0,15,0$, p25-50: 0,16-0,19, p50-75: 0,20-0,26, p75: $> 0,26\mu\text{dL}$)

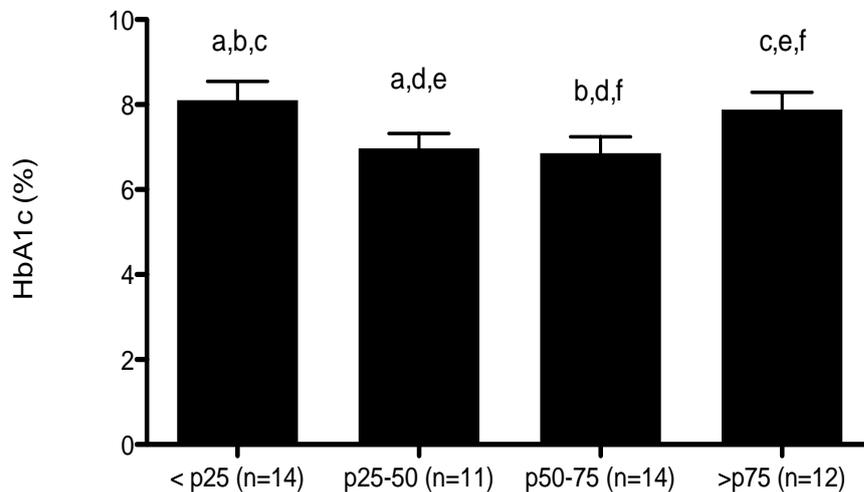


Figura 7. Comparação entre as concentrações medianas da Hemoglobina glicada e as concentrações do cortisol salivar após 1 mg de dexametasona divididas em quartis.

*Para comparar o valor médio da HbA1c entre os quartis de cortisol salivar após 1mg de dexametasona foi utilizado teste H de Kruskal-Wallis; para comparar a média de um quartil com outro, teste U de Mann Whitney; a: $p=0,660$, comparação do primeiro quartil com segundo; b: $p=0,034$, comparação do primeiro quartil com terceiro; c: $p=0,667$, comparação do primeiro quartil com quarto; d: $p=0,467$, comparação do segundo quartil com terceiro; e: $p=0,079$, comparação do segundo quartil com o quarto; f: $p=0,031$, comparação do terceiro quartil com o quarto. (p25: $\leq 0,15,0$, p25-50: 0,16-0,19, p50-75: 0,20-0,26, p75: $> 0,26\mu\text{dL}$).

5.7 ATIVIDADE DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL E COMPLICAÇÕES CRÔNICAS DO *DIABETES MELLITUS*

Não houve diferenças significativas entre os valores médios do cortisol sérico às 8h, cortisol salivar noturno, ACTH às 8h, cortisol sérico e salivar após 0,5mg, 1mg e 2mg de dexametasona entre os 3 pacientes com e os 36 sem retinopatia diabética (Anexo XIV). Também não houve diferença entre essas variáveis quando se compararam os 3 pacientes com sintomas de neuropatia periférica e os 37 sem sintomas (Anexo XV), assim como entre os 12 pacientes com nefropatia diabética e os 28 sem essa complicação (Anexo XVI).

Entre os 2 pacientes com doença cardiovascular, o valor médio do ACTH às 8h foi maior do que o dos 37 pacientes sem doença cardiovascular ($p=0,017$) (Tabela11).

Tabela 11. Análise comparativa de variáveis relativas à atividade do eixo hipotálamo-hipófise adrenal, entre os portadores de *diabetes mellitus* do tipo 2 estudados, de acordo a presença ou ausência de doença cardiovascular.

Variável	Presença de doença cardiovascular				Ausência de doença cardiovascular				p
	N	Média±DP	Mediana (IQ)	IC 95%	N	Média ± DP	Mediana (IQ)	IC 95%	
Cortisol salivar noturno	2	0,18±0,94	0,18 (0,18-0,18)	0,15-0,62	36	0,22±0,11	0,18 (0,15-0,27)	0,18-0,26	0,793*
Cortisol sérico às 8h	2	12,4 ±0,07	12,45(12,4-12,45)	11,8-13,0	37	11,7 ±4,8	19,20 (8,8-14,8)	10,1-13,4	0,849**
ACTH às 8h^a	2	36,2±29,2	36,2 (15,6-36,2)	-0,22-29,8	37	30,5±7,3	19,2 (14,8-24,6)	18,1-23	0,017**
Cortisol sérico após 0,5mg^b	2	0,90 ±0,7	0,90 (0,40-0,90)	-5,4-7,2	38	1,5 ±1,5	1,00 (0,62-1,61)	1,04-2,04	0,456*
Cortisol salivar após 0,5mg^b	2	0,20 ±0,02	0,20 (0,19-0,20)	0,14-0,39	37	0,22 ±0,12	0,19 (0,14-0,27)	0,18-0,26	0,702*
Cortisol sérico após 1mg^b	2	1,1 ±0,70	1,1 (0,60-1,10)	-5,2-7,4	38	1,07 ±1,2	0,70 (0,60-1,07)	0,6-1,48	0,780*
Cortisol salivar após 1mg^b	2	0,13 ±0,02	0,13 (0,11-0,13)	-0,12-0,38	36	0,21 ±0,11	0,19 (0,15-0,25)	0,18-0,25	0,095*
Cortisol sérico após 2mg^b	2	0,90 ±0,70	0,90 (0,40-0,90)	-5,4-7,5	37	0,66 ±0,4	0,60 (0,41-0,80)	0,52-0,81	0,773*
Cortisol salivar após 2mg^b	2	0,19 ±0,02	0,13 (0,13-0,13)	-0,06-0,4	35	0,20 ±0,09	0,17 (0,14-0,30)	0,17-0,24	0,749*

* variáveis com distribuição normal – teste t de Student; ** variáveis com distribuição não normal – teste U de Mann Whitney ;^aACTH: hormônio adrenocorticotrófico, ^b 0,5mg, 1,0mg e 2,0 mg: doses de dexametasona utilizadas durante o teste de supressão; IQ: intervalo interquartil.

6 DISCUSSÃO

A SM tem a resistência insulínica como componente fisiopatológico essencial, caracterizando-se por alterações do metabolismo da glicose, diminuição de lipoproteína de alta densidade, adiposidade central e hipertensão arterial (59). A SC é caracterizada pelo hipercortisolismo e esse leva ao desenvolvimento de adiposidade visceral, liberação de ácidos graxos livres pelo tecido adiposo e gliconeogênese, mas também a alterações lipídicas/glicídicas semelhantes a SM. Intolerância à glicose e DM são observados em cerca de 80% dos pacientes com SC (17) e a SC subclínica é encontrada entre 0,7 a 9,4% (10-17) dos pacientes com DM2. Além das similaridades clínicas entre SC e SM, estudos evidenciam resultados falso-positivos em testes de supressão do cortisol com 1mg de dexametasona na população diabética investigada para SC, variando de 1,1 a 28% (11,13,15,16,21,22,24,32). Esses dados tornam plausível a hipótese de que possa haver uma leve hipersecreção glicocorticoide nos pacientes com DM2 relacionada à resistência insulínica.

No presente estudo foram avaliados 54 pacientes com diagnóstico de DM2, sendo 40 mulheres e 14 homens, 61% obesos, com média de idade e de tempo de diagnóstico de, respectivamente, 54 e 10 anos. Os valores de CA, RCQ e IMC apresentaram tendência central de 98,8cm, 0,96 e 30,1kg/m², respectivamente. O IAC, CA e HOMA-IR (>2,7) estavam aumentados em 77,3%, 92,5% e 64,7%, respectivamente. Quanto ao controle glicêmico o grupo foi mais homogêneo, pois 53% apresentaram DM compensado.

As medidas de tendência central das concentrações de cortisol, ACTH matinal, cortisol salivar noturno, cortisol sérico e salivar após baixas doses de dexametasona estavam dentro dos valores de referências considerados normais. Na maior parte dos estudos em pacientes com DM2 também não foram encontrados valores acima do limite superior do método, contudo as concentrações médias e/ou medianas foram maiores no grupo com diabetes versus grupo controle (1,19,21,23,26,28,73).

6.1 ATIVIDADE DO EIXO HHA E CONTROLE GLICÊMICO

As variáveis relacionadas à atividade do eixo HHA foram analisadas segundo o controle glicêmico em duas perspectivas. Em uma delas os pacientes foram divididos em um grupo bem controlado ($HbA1c < 7\%$) ou mal controlado ($HbA1c > 7\%$) e não foram observadas associações entre controle glicêmico e atividade do eixo HHA. Na outra os pacientes foram divididos de acordo com os resultados do (i) cortisol salivar noturno, (ii) cortisol sérico ou (iii) salivar após supressão com doses baixas de dexametasona. A partir dessas categorizações a $HbA1c$ dos grupos formados foi comparada. Destaca-se ainda que, também não foi observada associação entre a atividade do eixo HHA e o controle glicêmico analisado pela $HbA1c$, embora tenha sido observada $HbA1c$ mais elevada nos grupos com cortisol salivar após 1mg de dexametasona no primeiro e no quarto quartis (ou seja, abaixo do p25 e acima do p75), quando comparados aos pacientes no segundo e no terceiro.

Muitos autores avaliaram a correlação entre cortisol sérico após supressão com dexametasona e controle glicêmico. Os resultados são conflitantes, sendo que a maioria não encontrou correlação entre essas duas variáveis (10,17,20,27), embora outros tenham encontrado (12,26). Nos estudos de Newsome e cols (27) e Catargi e cols (17) foram avaliados 171 e 200 pacientes, respectivamente, com DM2 e IMC acima de 25 kg/m² e não foi encontrada correlação entre a supressão com 1mg de dexametasona e $HbA1c$. Por outro lado, Terzolo e cols (12) avaliaram 813 pacientes com DM2 e com IMC acima de 25 kg/m², eles encontraram correlação positiva entre cortisol sérico após 1mg de dexametasona e $HbA1c$.

Quanto à avaliação do ritmo diurno do cortisol versus controle glicêmico. Kotoangelos e cols (35) avaliaram 131 pacientes com DM2 e não encontraram correlação da $HbA1c$ com cortisol sérico matinal, assim como no presente estudo. Já Reynolds e cols (46) avaliaram 919 pacientes com DM2 e encontraram correlação positiva do cortisol sérico matinal com glicemia de jejum, mas não com Hemoglobina glicada. Por outro lado, Oltmanns e cols (45) observaram que pacientes com

maiores medidas no perfil diurno do cortisol apresentavam maior glicemia de jejum e HbA1c.

Dados originados de estudos pré-clínicos sugerem que a hiperglicemia possa ativar o eixo HHA por aumento da expressão do gene que codifica a POMC (90). Estudos em modelos animais demonstraram que camundongos diabéticos apresentavam redução da função hipocampal (91). Bruehl e cols (43) demonstraram atrofia hipocampal em pacientes com DM2, além de associação positiva entre concentração de cortisol sérico após 1 mg de dexametasona e HbA1c nesses pacientes (26). Os estudos clínicos nos quais foram incluídos os maiores números de pacientes com DM2, acima mencionados (12,45,46), também encontraram correlação entre controle glicêmico e atividade do eixo HHA. Esses achados da literatura não permitem descartar a influência da hiperglicemia sobre a hiperatividade do eixo, apesar de não ter sido observada essa correlação no presente estudo.

Foi investigada também a associação da atividade do eixo HHA com outras variáveis relacionadas à homeostase da glicose, como HOMA-IR e concentração circulante de peptídeo C. O cortisol sérico e salivar após 1mg de dexametasona se correlacionaram positivamente com o valor do peptídeo C, mas não com HOMA-IR. Felšöci e cols (37) também encontraram associação positiva entre as concentrações de peptídeo C e cortisol sérico matinal em um grupo de pacientes com DM2, mas não avaliaram HOMA-IR. Concentrações suprafisiológicas de insulina estimulam agudamente o aumento do ACTH e cortisol em indivíduos saudáveis, um efeito atribuído a hipoglicemia (18). Esse cenário contrasta com a hiperglicemia e hiperinsulinemia crônica associadas à resistência insulínica do DM2 e da SM. É possível que, além das interferências de fatores relacionados ao metabolismo tecidual sobre a atividade do eixo HHA (81) haja também efeitos decorrentes da ação central da hiperglicemia ou mesmo da resistência central à insulina, assim, faltam evidências que estabeleçam relação de causa e efeito entre resistência insulínica e atividade do eixo.

6.2 ATIVIDADE DO EIXO HHA E SÍNDROME METABÓLICA/OBESIDADE VISCERAL

A atividade do eixo HHA também foi avaliada de acordo com a presença de SM no presente estudo. Entre os 54 pacientes estudados, cinco não preencheram critérios para SM segundo a Federação de Diabetes (60). Esses apresentaram valores médios de cortisol salivar noturno e cortisol sérico após 1mg de dexametasona maiores do que os pacientes com SM. Vale ressaltar que eles não preencheram critérios para SM, mas apresentaram HbA1c indicativa de bom controle glicêmico (< 7%) e tinham valores elevados de relação circunferência/quadril e HOMA-IR (medidas de tendência central > 0,94 e >2,7, respectivamente). Dessa forma, apresentavam em comum com a SM a obesidade central e a resistência insulínica apesar do bom controle glicêmico. Embora o número de pacientes com esse perfil seja pequeno, esses dados podem sugerir que a obesidade central, mais que o controle glicêmico, influencie as possíveis alterações do eixo HHA.

As concentrações circulantes de ACTH matinal se correlacionaram positivamente com o valor da RCQ esse dado concorda com a possível associação entre obesidade central e hiperatividade do eixo HHA. Há estudos que associam a obesidade central em pacientes com SM com o aumento do cortisol livre urinário, aumento de resposta do cortisol ao ACTH e CRH e resistência à supressão com baixas doses de dexametasona (2,6,66). Em pacientes com DM2, Prpic-Krizevac e cols (1) encontraram correlação positiva entre as concentrações séricas do cortisol após 1 mg dexametasona e a circunferência abdominal e RCQ. Thargher e cols (31), por sua vez, encontraram correlação do cortisol após 1 mg de dexametasona com outra característica relacionada à obesidade visceral, a doença hepática gordurosa não alcoólica.

Foi encontrada tendência de associação negativa entre o cortisol sérico matinal e o valor da CA. Esse dado é consistente com os estudos prévios, em que o cortisol sérico e salivar matinal foram menores em pacientes obesos (6,18). A razão para essa alteração ainda não está clara, mas pode estar relacionada com a inversão do ritmo circadiano de secreção do cortisol, com valores de cortisol mais baixos pela manhã e mais altos à noite ou ao aumento da depuração metabólica do cortisol na obesidade.

Resistência a supressão com baixas doses de dexametasona tem sido relacionada à obesidade em pacientes com SM e DM2 (1,2,3,31). Neste estudo, entretanto, foi observado que pacientes que apresentaram menor supressão do cortisol salivar após 0,5 mg de dexametasona (para valores > p75) tinham IMC médio menor. Além disso, o valor do cortisol sérico após 2 mg de dexametasona apresentou associação negativa com índice de adiposidade corporal. Não foi encontrado resultado similar em grupos de pacientes com DM2 incluídos em estudos prévios. Cabe destacar que, no estudo de Pasquali e cols (66), envolvendo 34 pacientes saudáveis e 87 obesos não diabéticos, sem hipertensão arterial ou dislipidemia foi observado nas mulheres, mas não nos homens, que o percentual de supressão do cortisol após dexametasona foi maior nas obesas do que nas de peso normal, assim como as concentrações de dexametasona foram maiores nas obesas. Duclos e cols (92) também mostraram maior supressão do cortisol após 0,25 e 0,5 mg de dexametasona em 23 mulheres com obesidade predominantemente abdominal quando comparadas a 27 obesas com distribuição periférica de gordura. Quando os pacientes analisados no presente estudo foram categorizados de acordo com o sexo ou o valor da circunferência abdominal não foram observadas diferenças significativas entre os grupos. É possível que diferenças interindividuais da farmacocinética da dexametasona sejam, pelo menos em parte, a explicação para esses resultados (66,92).

6.3 SUPRESSÃO DO CORTISOL COM DEXAMETASONA

A supressão do cortisol sérico para concentrações menores que o ponto de corte de 1,8µg/dL após 0,5mg de dexametasona ocorreu em 20,5% dos pacientes, após 1mg de dexametasona em 7,5%, e após 2mg de dexametasona em 1,9% dos pacientes. Esses dados sugerem que o teste de supressão com 2 mg de dexametasona possa ser mais efetivo e deve ser considerado para rastreamento da SC na população de portadores de DM2.

A taxa de falha de supressão do cortisol no teste com 1mg de dexametasona de 7,5%, encontrada no presente estudo, é semelhante à descrita em estudos prévios envolvendo pacientes com DM2 em que é observada a frequência de resultados falso-positivos neste teste variando de 1,1 a 28% (11,13,15,16,

21,22,24,32). Os resultados envolvendo populações de doentes crônicos (23%), paciente obesos (3,1-20%) ou de doentes psiquiátricos (8-43%) não são muito diferentes (51). Nos estudos de Gungunes e cols (11), Cardoso e cols (21) e Chiodini e cols (16) foram avaliados 277, 56 e 170 pacientes com DM2 descompensado ($HbA1c > 7,0\%$), encontraram prevalência de falso-positivos de 4,6%, 7,1,% e 5,4%, respectivamente. No estudo de Newsome e cols (27) e Caetano e cols (15) foram avaliados 171 pacientes, 103 com DM2 e sobrepeso, e as frequências de resultados falso-positivos foram de cerca de 18% e 14% respectivamente. Ellis e cols (22) avaliaram 40 pacientes com DM2 e obesos e encontraram frequência de falso-positivos de 28,2%. A frequência de resultados falso-positivos nesses estudos aumentou quando foram selecionados pacientes que, além do DM2, apresentavam sobrepeso e obesidade.

A falha de supressão do cortisol salivar para concentrações abaixo do p75 (ponto de corte considerado no presente estudo) após 0,5mg, 1mg e 2mg ocorreu em 23,5%, 14,5% e 13,4% dos pacientes, respectivamente. Essas taxas de falha foram superiores às encontradas para o cortisol sérico, sugerindo que talvez o cortisol salivar após dexametasona reflita melhor a atividade do eixo HHA. Entretanto, é importante destacar que não existe valor de referência estabelecido para cortisol salivar após dexametasona e os diferentes métodos utilizados nos estudos, mas também os diferentes pontos de corte considerados para supressão *versus* não supressão dificultam comparações.

Castro e cols (54) realizaram estudo que incluiu 30 pacientes saudáveis, 18 obesos e 33 com Síndrome de Cushing confirmada. Eles utilizaram como referência para cortisol salivar após 1 mg de dexametasona (por radioimunoensaio) valores acima do percentil 90 no grupo controle (62ng/dL) e em obesos (392ng/dL). Os autores encontraram sensibilidade e especificidade de 100/100% e 91,4/91,4% respectivamente.

Caetano e cols (15), ao estudar um grupo de pacientes com DM2, utilizaram o valor de referência de 47ng/dL (acima do percentil 80) como falha de supressão após 1mg de dexametasona. A falha de supressão foi concordante em 84 pacientes dos 103 avaliados e a frequência de resultados aumentados com a dosagem do cortisol salivar (radioimunoensaio) após dexametasona foi de 13,59%, similar a

encontrada com a dosagem do cortisol sérico após dexametasona. Embora, no presente estudo, as frequências de resultados do cortisol salivar após 1mg de dexametasona aumentados sejam maiores do que as encontradas com cortisol sérico após 1mg de dexametasona, a comparação com o estudo de Caetano e cols (15) é limitada pelas diferentes metodologias (foi utilizado eletroquimioluminescência) e pelo critério adotado (falha de supressão de cortisol salivar após dexametasona acima do p75).

6.4 CORTISOL SALIVAR NOTURNO

O cortisol salivar noturno estava aumentado em de 13,5% dos pacientes. Estudos prévios em grupos de pacientes com DM2 mostraram frequências de cortisol salivar noturno aumentado em 11,6% (15) e 30% (22). O estudo de Ellis e cols (22) foi realizado em 40 pacientes com DM2 e foram realizadas cinco amostras de cortisol salivar noturno em cada paciente, em dias consecutivos, com método ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*). Doze pacientes apresentaram pelo menos uma amostra aumentada (30%), nenhum foi diagnosticado com SC. Já o estudo de Caetano e cols (15) foi realizado em 103 pacientes com DM2 e uma dosagem às 23 horas foi realizada em cada paciente, por radioimunoensaio, sendo que 12 pacientes apresentaram aumento do cortisol salivar noturno (11,6%) e 4 foram diagnosticados com SC. A dosagem de cortisol salivar por imunoensaios enzimáticos apresenta valores superiores ao radioimunoensaio, sendo esse último considerado de maior acurácia para avaliação do cortisol livre na saliva (51,93). Provavelmente esse seja o motivo de Ellis e cols (22) terem encontrado maior frequência de resultados aumentados, quando comparado a Caetano e cols (15). Quanto a eletroquimioluminescência, utilizada no presente estudo, faltam análises de reprodutibilidade do método (93).

O cortisol salivar noturno, nos pacientes pesquisados, aumentou com a idade, à semelhança de dados previamente descritos. Liu e cols (32) estudaram 162 homens com DM2 e 55 homens sem DM2. Em ambos os grupos as concentrações de cortisol salivar noturno foram maiores em homens com mais de 60 anos quando comparados aos mais jovens. Em estudos envolvendo modelos animais e humanos há outros indicadores da atividade do eixo HHA que confirmam o efeito da idade

sobre o eixo. Foi observado, em roedores, que com o envelhecimento há redução da expressão de receptores glicocorticoides no núcleo paraventricular do hipotálamo, assim há redução da resposta do eixo HHA às concentrações do cortisol, com aumento do CRH e ACTH. Em estudos em idosos observa-se que, o cortisol salivar tende a aumentar com a idade mesmo quando medido em diferentes momentos do dia, mostrando que o ritmo circadiano parece estar alterado (94). Felšöci e cols (37) demonstraram que diabéticos com mais de 60 anos apresentaram menor supressão do cortisol sérico após dexametasona do que os diabéticos mais jovens. Em humanos deve-se considerar que, com o envelhecimento surgem condições que sabidamente afetam a atividade do eixo HHA, tais como: depressão, ansiedade, SM e alterações cognitivas. Entretanto, cabe destacar que não foi encontrada, no presente estudo, associação entre outras medidas de atividade do eixo HHA e a idade. Esse dado conduz a refletir que os sujeitos incluídos neste estudo eram de faixa etária mais jovem (média de idade de 57 anos) ou mesmo que alterações seletivas da secreção de cortisol na saliva precedam as alterações mais generalizadas do eixo HHA observadas com o avançar da idade.

6.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dois pacientes apresentaram rastreamento positivo para SC de acordo com as recomendações da Sociedade Endócrina Norte-Americana (9). No primeiro, a SC foi excluída com o teste de supressão com 2mg de dexametasona. O segundo paciente aguarda confirmação ou exclusão definitiva da SC. O último paciente não apresenta nenhum sinal preditivo de SC ao exame físico, tem DM2 de fácil controle e não preenche critérios para SM segundo Federação Internacional de Diabetes (60). Seu ACTH basal foi maior do que 20pg/mL, sugerindo a possibilidade de SC ACTH-dependente, mas a ressonância magnética de sela túrcica se mostrou normal. O paciente está sendo regularmente acompanhado. A frequência de SC subclínica em pacientes com DM2, descrita em estudos anteriores, variou de 0,7 a 9,4% (10,12-16). Se a SC for confirmada nesse paciente, resultará em prevalência de SC subclínica de 1,9%, coincidente com a dos demais estudos.

Verificou-se quanto às complicações crônicas do DM. Nesse quesito foi encontrado concentrações plasmáticas de ACTH mais elevadas em pacientes com

doença cardiovascular. Estudos prévios encontraram maiores concentrações de ACTH matinal em pacientes diabéticos com falência autonômica parassimpática (29) e com complicações crônicas do DM, tais como: nefropatia e retinopatia (1). Foi descrita também maior concentração de cortisol sérico após dexametasona em pacientes com nefropatia incipiente, neuropatia assintomática, retinopatia e macroangiopatia silenciosa (39).

Um dos pontos fortes do presente estudo foi a seleção dos pacientes. Houve o cuidado de não selecionar pacientes com sinais discriminatórios ou preditivos de SC ou que estivessem utilizando qualquer medicamento que pudesse interferir nos testes de supressão com dexametasona. Foram excluídos pacientes etilistas, com diagnóstico prévio de qualquer doença psiquiátrica ou que estivessem utilizando medicamento que sugerisse esse diagnóstico e em tratamento com insulina. Esses aspectos aumentaram a probabilidade de identificar a real frequência de alterações do eixo HHA relacionadas ao DM e não a outras condições ou a medicamentos. A exclusão de pacientes em uso de insulina permitiu também utilizar o HOMA-IR como marcador de resistência insulínica. Durante a coleta do cortisol salivar noturno, foi solicitado aos participantes que utilizavam sulfonilureias e estavam, portanto, sob risco de hipoglicemia, que realizassem a monitorização da glicemia capilar para descartá-la.

Outro ponto forte foi a utilização do cortisol salivar após supressão com dexametasona em uma população de pacientes com DM2, pois como foi discutido, poucos estudos utilizaram esse método de avaliação do eixo HHA. A dosagem do cortisol salivar é mais fácil e conveniente que a do cortisol sérico. É possível que futuramente sejam desenvolvidos estudos para avaliar o comportamento do cortisol salivar em resposta à supressão com dexametasona em uma população de indivíduos saudáveis, para assim, estabelecer um ponto de corte que permita utilizá-lo na prática clínica para avaliação de hipercortisolismo e comparação com os resultados do presente estudo.

Os cuidadosos critérios de inclusão, entretanto, dificultaram o aumento do número amostral. Esse aspecto, em conjunto com a ausência do grupo controle, foram limitações do estudo. Outra limitação foi a não determinação da concentração sérica de dexametasona nos testes de supressão com o glicocorticoide exógeno.

Isso é importante, uma vez que variações interindividuais na metabolização desse esteroide foram relatadas e apresentam potencial de interferir no resultado do teste (15,66). Deve-se considerar, ainda, a heterogeneidade da amostra em relação a algumas variáveis como limitação. Observa-se grande amplitude nos valores de peptídeo C, HOMA-IR, HbA1c e IMC apesar do cuidado na seleção dos pacientes. Isso sugere que pacientes com DM2 apresentem graus variados de disfunção secretória de célula β , resistência insulínica, controle glicêmico e obesidade.

Diferentes protocolos utilizados em estudos prévios, que à semelhança deste exploraram a atividade do eixo HHA em portadores de DM2, dificultam a comparação dos resultados e o estabelecimento de conclusões a respeito da atividade desse eixo no DM2 ou mesmo da eventual contribuição de fatores relacionados ao DM2 para alterações da atividade do eixo. Os resultados da pesquisa não demonstraram correlação entre atividade do eixo HHA e o controle glicêmico ou a presença de aumento da resistência insulínica, embora alguns estudos também tenham falhado em demonstrar tal correlação (10,17,20,27,35), outros estudos, envolvendo grande número de pacientes diabéticos, ainda permitem inferir que as alterações do eixo possam existir no DM2, e que essa sua associação com o controle glicêmico e resistência insulínica deve ser melhor investigada (12,45,46).

Embora não tenha sido observada correlação entre a atividade do eixo HHA e o controle glicêmico (avaliado pela HbA1c) ou resistência insulínica (avaliada pelo HOMA-IR), foi observada associação positiva entre ACTH plasmático matinal e RCQ e tendência de associação negativa da CA com cortisol sérico matinal. Além disso, o cortisol salivar noturno aumentou com a idade e as concentrações de ACTH plasmático foram maiores em pacientes com doença cardiovascular. Esses achados sugerem que alterações da atividade do eixo HHA possam, em concordância com o observado em estudos prévios, estar relacionadas à obesidade central (1,2,6,31,66), envelhecimento (32,37,94) e presença de complicações crônicas do DM (29,39).

7 CONCLUSÃO

No presente estudo foram avaliados 54 pacientes com diagnóstico de DM2, sendo 40 mulheres e 14 homens, 61% são obesos, com média de idade e de tempo de diagnóstico de, respectivamente, 54 e 10 anos. Os valores de CA, RCQ e IMC apresentaram tendência central de 98,8cm, 0,96 e 30,1kg/m², respectivamente. O IAC, CA e HOMA-IR (>2,7) estavam aumentados em 77,3%, 94,3% e 64,7%, respectivamente. Quanto ao controle glicêmico o grupo foi mais homogêneo, pois 53% apresentaram DM compensado.

Foram observadas medidas de tendência central normais dos resultados do cortisol sérico e ACTH às 8h e cortisol salivar às 23h. A mediana do cortisol sérico, às 8h após a administração de doses baixas de dexametasona (0,5mg, 1mg e 2mg), também foi normal.

Não houve diferenças significativas quanto às variáveis relacionadas à atividade do eixo HHA quando comparados indivíduos com DM bem controlado (HbA1c<7%) versus mal controlados (HbA1c>7%), obesos (IMC>30kg/m²) versus não obesos (IMC<30kg/m²), pacientes com CA aumentada versus não aumentada, sexo masculino versus sexo feminino. Quando comparados os cinco pacientes que não tinham SM com os 49 que tinham SM, os valores médios de cortisol salivar noturno e cortisol sérico após 1mg de dexametasona foram maiores no primeiro grupo. Não houve diferenças significativas quanto à IMC, CA, RCQ, Peptídeo C, HOMA-IR e HbA1c entre os grupos com SM e sem SM.

Quanto às variáveis relacionadas à SM e obesidade, por análise de regressão multivariada, foi demonstrada associação positiva entre ACTH às 8h e RCQ, associação negativa entre o cortisol sérico após 2mg de dexametasona e índice de adiposidade corporal e tendência de associação negativa do cortisol sérico matinal com CA.

O cortisol salivar noturno estava aumentado em de 13,5% dos pacientes (7/52). A idade dos pacientes apresentou associação positiva com cortisol salivar noturno.

A supressão do cortisol sérico para concentrações menores do que 1,8µg/dL após 0,5mg, 1mg e 2mg de dexametasona ocorreu em 20,5% ,7,5% e 1,9% dos pacientes, respectivamente. O cortisol sérico após 1mg de dexametasona apresentou associação positiva com concentração sérica de peptídeo C.

A falha de supressão do cortisol salivar para concentrações abaixo do p75 após 0,5mg, 1mg e 2mg ocorreu em 23,5%, 14,5% e 13,4%, respectivamente. Os pacientes com cortisol salivar após 0,5mg acima do p75 apresentaram IMC médio menor do que os que apresentaram cortisol salivar abaixo do p75 e os pacientes com cortisol salivar após 1mg de dexametasona acima do p75 apresentaram concentração sérica média do peptídeo C superior a daqueles com cortisol salivar após 1mg de dexametasona abaixo do p75.

Dois pacientes apresentaram rastreamento positivo para SC (cortisol salivar às 23h e cortisol sérico após supressão com 1 mg de dexametasona acima da referência). Em um deles a SC foi descartada pelo teste de supressão com 2mg de dexametasona normal. O outro está em investigação para SC, o ACTH é > 20pg/mL, sugerindo SC ACTH dependente, porém a RM de sela túrcica se apresentou normal e o paciente não tem nenhum sinal preditivo de SC ao exame físico.

Quanto às complicações crônicas do DM, 2 pacientes, com doença cardiovascular, apresentaram valor médio do ACTH às 8 h maior do que o dos 37 pacientes sem doença cardiovascular. Não houve diferenças significativas entre cortisol sérico às 8h, cortisol salivar noturno, ACTH às 8h, cortisol sérico e salivar após 0,5mg, 1mg e 2mg de dexametasona entre os 3 pacientes com retinopatia diabética versus os 36 sem, 3 pacientes com sintomas de neuropatia periférica e os 37 sem sintomas, assim como entre os 12 pacientes com nefropatia diabética e os 28 sem nefropatia.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Prpić-Križevac I, Canecki-Varžić S, Bilić-Ćurčić I. Hyperactivity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in patients with type 2 diabetes and relations with insulin resistance and chronic complications. *Wiener klinische Wochenschrift*. 2012;124(11-12):403-411.
2. Anagnostis P, Athyros V, Tziomalos K, Karagiannis A, Mikhailidis D. The Pathogenetic Role of Cortisol in the Metabolic Syndrome: A Hypothesis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2009;94(8):2692-2701.
3. Walker B. Cortisol - cause and cure for metabolic syndrome?. *Diabetic Medicine*. 2006;23(12):1281-1288.
4. Walker B, Phillips D, Noon J, Panarelli M, Andrew R, Edwards H et al. Increased Glucocorticoid Activity in Men With Cardiovascular Risk Factors. *Hypertension*. 1998;31(4):891-895.
5. Reynolds R, Syddall H, Walker B, Wood P, Phillips D. Predicting cardiovascular risk factors from plasma cortisol measured during oral glucose tolerance tests. *Metabolism*. 2003;52(5):524-527.
6. Walker B, Soderberg S, Lindahl B, Olsson T. Independent effects of obesity and cortisol in predicting cardiovascular risk factors in men and women. *J Intern Med*. 2000;247(2):198-204.
7. 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 Therapeutics*. 1998; 36: 501–505.
8. Andrew R, Phillips D, Walker B. Obesity and Gender Influence Cortisol Secretion and Metabolism in Man. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1998;83(5):1806-1806.
9. Nieman L, Biller B, Findling J, Newell-Price J, Savage M, Stewart P et al. The Diagnosis of Cushing's Syndrome: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2008;93(5):1526-1540.
10. Leibowitz G, Tsur A, Chayen S, Salameh M, Raz I, Cerasi E et al. Pre-clinical Cushing's syndrome: an unexpected frequent cause of poor glycaemic control in obese diabetic patients. *Clinical Endocrinology*. 1996;44(6):717-722
11. Gungunes A, Sahin M, Demirci T et al. Cushing's syndrome in type 2 diabetes patients with poor glycemic control. *Endocrine*. 2014;47(3): 895-900.

12. Terzolo M, Reimondo G, Chiodini I, Castello R, Giordano R, Ciccarelli E et al. Screening of Cushing's Syndrome in Outpatients with Type 2 Diabetes: Results of a Prospective Multicentric Study in Italy. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2012;97(10):3467-3475.
13. Mert M, Temizel M, Erol S, Arman Y, Arslan K, Alakus F et al. Screening for Cushing's syndrome in obese type 2 diabetic patients and the predictive factors on the degree of serum cortisol suppression. *International Journal of Diabetes in Developing Countries*. 2012;32(4):199-202.
14. Tanigushi T, Hamasaki A, Okamoto M. Subclinical Hypercortisolism in Hospitalized Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocr J*. 2008;55(2):429-432.
15. Caetano M, Silva R, Kater C. Increased diagnostic probability of subclinical cushing's syndrome in a population sample of overweight adult patients with type 2 diabetes mellitus. *Arq Bras EndocrinolMetab*. 2007;51(7):1118-1127.
16. Chiodini I. Association of subclinical hypercortisolism with type 2 diabetes mellitus: a case-control study in hospitalized patients. *European Journal of Endocrinology*. 2005;153(6):837-844.
17. Catargi B, Rigalleau V, Poussin A, Ronci-Chaix N, Bex V, Vergnot V et al. Occult Cushing's Syndrome in Type-2 Diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2003;88(12):5808-5813.
18. Arnetz L, Rajamand Ekberg N, Brismar K, Alvarsson M. Gender difference in adrenal sensitivity to ACTH is abolished in type 2 diabetes. *Endocrine Connections*. 2015;4(2):92-99.
19. Zhukouskaya V, Eller-Vainicher C, Gaudio A, Cairoli E, Ulivieri F, Palmieri S et al. In Postmenopausal Female Subjects With Type 2 Diabetes Mellitus, Vertebral Fractures Are Independently Associated With Cortisol Secretion and Sensitivity. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2015;100(4):1417-1425.
20. Tamada D, Otsuki M, Kashine S, Hirata A, Onodera T, Kitamura T et al. Obstructive sleep apnea syndrome causes a pseudo-Cushing's state in Japanese obese patients with type 2 diabetes mellitus. *Endocr J*. 2013;60(12):1289-1294.
21. Cardoso E, Arregger A, Monardes G, Contreras L. An accurate, non-invasive approach to diagnose Cushing's syndrome in at-risk populations. *Steroids*. 2013;78(5):476-482.
22. Ellis E, Chin P, Hunt P, Lunt H, Lewis J, Soul S. Is late-night salivary cortisol a better screening test for possible cortisol excess than standard screening tests in obese patients with Type 2 diabetes? *N Z Med J*. 2012; 125(1353):47-58.

23. Duong M, Cohen J, Convit A. High cortisol levels are associated with low quality food choice in type 2 diabetes. *Endocrine*. 2011;41(1):76-81.
24. Muramaki H, Nigawara T, Sakihara S, Kageyama K, Yamashite M, Matsuki K et al. The Frequency of Type 2 Diabetic Patients who Meet the Endocrinological Screening Criteria of Subclinical Cushing's Disease. *Endocr J*. 2010;57(3):267-272.
25. Bruehl H, Wolf O, Sweat V, Tirsi A, Richardson S, Convit A. Modifiers of cognitive function and brain structure in middle-aged and elderly individuals with type 2 diabetes mellitus. *Brain Research*. 2009;1280:186-194.
26. Bruehl H, Rueger M, Dziobek I, Sweat V, Tirsi A, Javier E et al. Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Dysregulation and Memory Impairments in Type 2 Diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2007;92(7):2439-2445.
27. Newsome S, Chen K, Hoang J, Wilson J, Potter J, Hickman P. Cushing's syndrome in a clinic population with diabetes. *Internal Medicine Journal*. 2008; 38:178-182.
28. Mullan K, Black N, Thiraviaraj A, Bell P, Burgess C, Hunter S et al. Is There Value in Routine Screening for Cushing's Syndrome in Patients with Diabetes?. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2010;95(5):2262-2265.
29. Chiodini I, Di Lembo S, Morelli V, Epaminonda P, Coletti F, Masserini B et al. Hypothalamic-pituitary-adrenal activity in type 2 diabetes mellitus: role of autonomic imbalance. *Metabolism*. 2006;55(8):1135-1140.
30. Lindmark S, Burén J, Eriksson J. Insulin resistance, endocrine function and adipokines in type 2 diabetes patients at different glycaemic levels: potential impact for glucotoxicity in vivo. *Clinical Endocrinology*. 2006;65(3):301-309.
31. Targher G, Bertolini L, Zoppini G, Zenari L, Falezza G. Relationship of non-alcoholic hepatic steatosis to cortisol secretion in diet-controlled Type 2 diabetic patients. *Diabet Med*. 2005;22(9):1146-1150.
32. Liu H, Bravata D, Cabacchan J, Raff H, Ryzen E. Elevated late-night salivary cortisol levels in elderly male type 2 diabetic veterans. *Clinical Endocrinology*. 2005;63(6):642-649.
33. Andrews R, Herlihy O, Livingstone D, Andrew R, Walker B. Abnormal Cortisol Metabolism and Tissue Sensitivity to Cortisol in Patients with Glucose Intolerance. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2002;87(12):5587-5593.
34. Bano G, Rodin D, White A, O'rahilly S, Nussey S. Is the defect in pro-hormone processing in Type 2 diabetes mellitus restricted to the beta cell?. *Diabet Med*. 2001;18(1):17-21.

35. Kontoangelos K, Papageorgiou CC, Raptis AE, Tsiotra P, Lambadiari V, Papadimitriou G, Rabavilas A, Dimitriadis G, Raptis A. Homocysteine, cortisol, diabetes mellitus, and psychopathology. *J Diabetes Res.* 2015; 125(1353):47-58.
36. Carvalho L, Urbanova L, Hamer M, Hackett R, Lazzarino A, Steptoe A. Blunted glucocorticoid and mineralocorticoid sensitivity to stress in people with diabetes. *Psychoneuroendocrinology.* 2015;51:209-218.
37. Felšöci M, Schroner Z, Petrovičová J, Lazúrová I. Relationship between type 2 diabetes mellitus and hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Wiener klinischeWochenschrift.* 2010;123(1-2):28-33.
38. Lederbogen F, Hummel J, Fademrecht C, Krumm B, Kühner C, Deuschle M et al. Flattened Circadian Cortisol Rhythm in Type 2 Diabetes. *ExpClinEndocrinol Diabetes.* 2011;119(09):573-575.
39. Chiodini I, Adda G, Scillitani A, Coletti F, Morelli V, Di Lembo S et al. Cortisol Secretion in Patients With Type 2 Diabetes: Relationship with chronic complications. *Diabetes Care.* 2006;30(1):83-88.
40. Steptoe A, Hackett R, Lazzarino A, Bostock S, La Marca R, Carvalho L et al. Disruption of multisystem responses to stress in type 2 diabetes: Investigating the dynamics of allostatic load. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2014;111(44):15693-15698.
41. Champaneri S, Xu X, Carnethon M, Bertoni A, Seeman T, Roux A et al. Diurnal salivary cortisol and urinary catecholamines are associated with diabetes mellitus: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Metabolism.* 2012;61(7):986-995.
42. Gagliardi L, Chapman I, O'Loughlin P, Torpy D. Screening for Subclinical Cushing's Syndrome in Type 2 Diabetes Mellitus: Low False-Positive Rates with Nocturnal Salivary Cortisol. *Hormone and Metabolic Research.* 2010;42(04):280-284.
43. Bruehl H, Wolf O, Convit A. A blunted cortisol awakening response and hippocampal atrophy in type 2 diabetes mellitus. *Psychoneuroendocrinology.* 2009;34(6):815-821.
44. Carlsson A, Nixon Andreasson A, Wändell P. Poor self-rated health is not associated with a high total allostatic load in type 2 diabetic patients – But high blood pressure is. *Diabetes & Metabolism.* 2011;37(5):446-451.
45. Oltmanns K. Cortisol correlates with metabolic disturbances in a population study of type 2 diabetic patients. *European Journal of Endocrinology.* 2006;154(2):325-331.
46. Reynolds R, Labad J, Strachan M, Braun A, Fowkes F, Lee A et al. Elevated Fasting Plasma Cortisol Is Associated with Ischemic Heart Disease and Its Risk

Factors in People with Type 2 Diabetes: The Edinburgh Type 2 Diabetes Study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2010;95(4):1602-1608.

47. Reynolds R, Strachan M, Labad J, Lee A, Frier B, Fowkes F et al. Morning Cortisol Levels and Cognitive Abilities in People With Type 2 Diabetes: The Edinburgh Type 2 Diabetes Study. *Diabetes Care*. 2010;33(4):714-720.

48. Nascimento A, Chaves E, Grossi S. Depression, urinary cortisol and social demographics characteristics in subjects with type 2 diabetes mellitus . *Rev. Esc. Enferm. USP*. 2009;43(spe2):1272-1276.

49. Paredes S, Ribeiro L. Cortisol: the villain in Metabolic Syndrome? *Rev Assoc Med Bras* 2014;60(1):84-92.

50. Gathercole L, Stewart P. Targeting the pre-receptor metabolism of cortisol as a novel therapy in obesity and diabetes. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2010;122(1-3):21-27.

51. Castro M, Moreira A. Screening and Diagnoses of Cushing's Syndrome. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia&Metabologia*. 2007;51(8):1191-1198.

52. Gatti R, Antonelli G, Prearo M, Spinella P, Cappellin E, De Palo E. Cortisol assays and diagnostic laboratory procedures in human biological fluids. *Clinical Biochemistry*. 2009;42(12):1205-1217.

53. Raff H. Update on late-night salivary cortisol for the diagnosis of Cushing's syndrome: methodological considerations. *Endocrine*. 2013;44(2):346-349.

54. Castro M, Elias P, Quidute A, Halah F, Moreira A. Out-Patient Screening for Cushing's Syndrome: The Sensitivity of the Combination of Circadian Rhythm and Overnight Dexamethasone Suppression Salivary Cortisol Tests 1. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1999;84(3):878-882.

55. Inder W, Dimeski G, Russell A. Measurement of salivary cortisol in 2012 - laboratory techniques and clinical indications. *ClinEndocrinol*. 2012;77(5):645-651.

56. Lyra R, Santos R, Cavalcanti N. Diabetes mellitus e doenças cardiovasculares . *Grupo Gen - AC Farmacêutica*; 2014;1: 01-08.

57. Oliveira J, Vencio S, Diabetes S. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2013-2014. *Grupo Gen - AC Farmacêutica*; 2014.

58. Standards of Medical Care in Diabetes-2014. *Diabetes Care*. 2014;37(Supplement-1):S14-S80.

59. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 1988;37(12):1595-1607.

60. Alberti K, Eckel R, Grundy S, Zimmet P, Cleeman J, Donato K et al. Harmonizing the Metabolic Syndrome: A Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2009;120(16):1640-1645.
61. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a World Health Organization Consultation. Geneva: World Health Organization. 2000; 256 WHO Obesity Technical Report Series: 284
62. US NCEP issues ATP III guidelines. *Inpharma Weekly*. 2001;&NA;(1289):3.
63. Debono M, Newell-Price J. Subclinical hypercortisolism in adrenal incidentaloma. *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes and Obesity*. 2015;22(3):185-192.
64. Shimon I. Screening for Cushing's syndrome: Is it worthwhile? *Pituitary*. 2015;18(2):201-205.
65. Romanholi D, Salgado L. Estados de pseudo-Cushing. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. 2007;51(8):1303-1313.
66. Pasquali R, Ambrosi B, Armanini D, Cavagnini F, Uberti E, Del Rio G et al. Cortisol and ACTH Response to Oral Dexamethasone in Obesity and Effects of Sex, Body Fat Distribution, and Dexamethasone Concentrations: A Dose-Response Study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2002;87(1):166-175.
67. Misra M, Bredella M, Tsai P, Mendes N, Miller K, Klibanski A. Lower growth hormone and higher cortisol are associated with greater visceral adiposity, intramyocellular lipids, and insulin resistance in overweight girls. *AJP: Endocrinology and Metabolism*. 2008;295(2):E385-E392.
68. Gragnoli C. Depression and type 2 diabetes: Cortisol pathway implication and investigational needs. *J Cell Physiol*. 2012;227(6):2318-2322.
69. Chaumette B, Kebir O, Mam-Lam-Fook C, Morvan Y, Bourgin J, Godsil B et al. Salivary cortisol in early psychosis: New findings and meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*. 2016;63:262-270.
70. Ho J, Lewis J, O' Loughlin P, Bagley C, Romero R, Dekker G et al. Reduced maternal corticosteroid-binding globulin and cortisol levels in pre-eclampsia and gamete recipient pregnancies. *ClinEndocrinol*. 2007;66(6):869-877.
71. Kaye T, Rubin R, Goldfine A, Rajamani K, Kinsley B, Vischer U et al. Effect of glycemic control on the overnight dexamethasone suppression test in patients with diabetes mellitus. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1992;74(3):640-644.

72. Hackett R, Steptoe A, Kumari M. Association of Diurnal Patterns in Salivary Cortisol With Type 2 Diabetes in the Whitehall II Study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2014;99(12):4625-4631.
73. Valsamakis G, Anwar A, Tomlinson J, Shackleton C, McTernan P, Chetty R et al. 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 Activity in Lean and Obese Males with Type 2 Diabetes Mellitus. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2004;89(9):4755-4761.
74. Kerstens, Riemens, Sluiter, Pratt, Wolthers, Dullaart. Lack of relationship between 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase setpoint and insulin sensitivity in the basal state and after 24h of insulin infusion in healthy subjects and type 2 diabetic patients. *Clinical Endocrinology*. 2000;52(4):403-411.
75. Phillips G, Tuck C, Jing T, Boden-Albala B, Lin I, Dahodwala N et al. Association of hyperandrogenemia and hyperestrogenemia with type 2 diabetes in Hispanic postmenopausal women. *Diabetes Care*. 2000;23(1):74-79.
76. Lee Z, Chan J, Yeung V, Chow C, Lau M, Ko G et al. Plasma insulin, growth hormone, cortisol, and central obesity among young Chinese type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 1999;22(9):1450-1457.
77. Richardson A, Tayek J. Type 2 diabetic patients may have a mild form of an injury response: a clinical research center study. *American Journal of Physiology - Endocrinology And Metabolism*. 2002;282(6):E1286-E1290.
78. Kaye J, Corral R, Lightman S. A new test for autonomic cardiovascular and neuroendocrine responses in diabetes mellitus: evidence for early vagal dysfunction. *Diabetologia*. 2004;48(1):180-186.
79. Godoy-Matos A, Vieira A, Moreira R, Coutinho W, Carraro L, Moreira D et al. The potential role of increased adrenal volume in the pathophysiology of obesity-related Type 2 diabetes. *Journal of Endocrinological Investigation*. 2006;29(2):159-163.
80. Stomby A, Andrew R, Walker B, Olsson T. Tissue-specific dysregulation of cortisol regeneration by 11 β HSD1 in obesity: has it promised too much? *Diabetologia*. 2014;57(6):1100-1110.
81. Espíndola-Antunes D, Kater C. Adipose tissue expression of 11beta-Hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in cushing's syndrome and in obesity. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. 2007;51(8):1397-1403.
82. Basu R, Singh R, Basu A, Chittilapilly E, Johnson M, Toffolo G et al. Obesity and Type 2 Diabetes Do Not Alter Splanchnic Cortisol Production in Humans. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2005;90(7):3919-3926.

83. Stimson R, Andrew R, McAvoy N, Tripathi D, Hayes P, Walker B. Increased Whole-Body and Sustained Liver Cortisol Regeneration by 11-Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 in Obese Men With Type 2 Diabetes Provides a Target for Enzyme Inhibition. *Diabetes*. 2011;60(3):720-725.
84. Dube S, Norby B, Pattan V, Lingineni R, Singh R, Carter R et al. Hepatic 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 activity in obesity and type 2 diabetes using a novel triple tracer cortisol technique. *Diabetologia*. 2014;57(7):1446-1455.
85. Dube S, Norby B, Pattan V, Carter R, Basu A, Basu R. 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Types 1 and 2 Activity in Subcutaneous Adipose Tissue in Humans: Implications in Obesity and Diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2015;100(1):E70-E76.
86. Beaudry J, Dunford E, Teich T, Zaharieva D, Hunt H, Belanoff J et al. Effects of Selective and Non-Selective Glucocorticoid Receptor II Antagonists on Rapid-Onset Diabetes in Young Rats. *PLoS ONE*. 2014;9(3):912-48.
87. Xavier H, Izar M, Faria Neto J, Assad M, Rocha V, Sposito A et al. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2013;101(4):01-22.
88. Geloneze B, Vasques A, Stabe C, Pareja J, Rosado L, Queiroz E et al. HOMA1-IR and HOMA2-IR indexes in identifying insulin resistance and metabolic syndrome: Brazilian Metabolic Syndrome Study (BRAMS). *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. 2009;53(2):281-287.
89. Bergman R, Stefanovski D, Buchanan T, Sumner A, Reynolds J, Sebring N et al. A Better Index of Body Adiposity. *Obesity*. 2011;19(5):1083-1089.
90. Joseph J, Wang X, Spanakis E, Seeman T, Wand G, Needham B et al. Diurnal salivary cortisol, glycemia and insulin resistance: The multi-ethnic study of atherosclerosis. *Psychoneuroendocrinology*. 2015;62:327-335.
91. Stranahan A, Arumugam T, Cutler R, Lee K, Egan J, Mattson M. Diabetes impairs hippocampal function through glucocorticoid-mediated effects on new and mature neurons. *Nature Neuroscience*. 2008;11(3):309-317.
92. Duclos M, Gatta B, Corcuff J, 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. *ClinEndocrinol*. 2001;55(4):447-454.
93. Castro M, Moreira A. Salivary cortisol on the evaluation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2003; 47 (4): 358-367.

94. Gupta D, Morley J. Hypothalamic-Pituitary-Adrenal (HPA) Axis and Aging. *Compr Physiol*. 2014; 1495-1510

ANEXO I – PARECER DE APROVAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS DA FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação do Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal em Pacientes com Diabetes Mellitus tipo 2

Pesquisador: Ana Paula Meireles de Melo

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 22812314.6.0000.0030

Instituição Proponente: Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio
DIAGNOSTICOS DA AMERICA S.A .

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 892.947

Data da Relatoria: 23/11/2014

Apresentação do Projeto:

"É conhecido que pacientes com Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), em investigação de hipercortisolismo, podem apresentar resultados falso-positivos no teste de supressão do cortisol com 1 mg de dexametasona, levando a erros de diagnóstico. O motivo da falta de supressão não está esclarecido na literatura. A maioria dos estudos demonstrou hiperatividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) na síndrome metabólica e obesidade. É possível, contudo, que o comprometimento da tolerância à glicose seja um fator que isoladamente determina alterações do eixo HHA, uma vez que já foi demonstrado que pacientes com DM2 e intolerância a glicose apresentam anormalidades na ação do cortisol mesmo na ausência de hipertensão arterial e obesidade. Estes achados favorecem a hipótese de que as anormalidades na ação do cortisol possam ser um mecanismo comum relacionando resistência insulínica, hipertensão arterial, intolerância a glicose e obesidade. A melhor caracterização do eixo HHA em portadores de DM2 poderia esclarecer os fatores associados à falha da retroalimentação negativa do eixo nesta condição, facilitando a interpretação de testes diagnósticos empregados na investigação de hipercortisolismo."

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.910-900
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3107-1947 **E-mail:** cepfsunb@gmail.com



Continuação do Parecer: 892.947

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a resposta do eixo HHA em pacientes com DM2 (obesos e não obesos) a testes sucessivos de supressão com baixas doses de dexametasona oral.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os pesquisadores relatam risco mínimo relacionado ao desconforto da coleta de exame de sangue comum, coleta de saliva, uso de medicação Dexametasona para exames e na perda de alguns minutos do tempo do paciente. Sendo relatado pelo pesquisador como não interveniente na patologia de base do paciente (diabetes) ou nas patologias correlatas (obesidade e pressão arterial).

Relata como benefícios três consultas em três semanas e acesso, orientações com relação a sua doença de base, o DM2, e a oportunidade de realizar exames, como peptídeo C e ACTH, de difícil acesso a usuários do SUS.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante e oportuna. Metodologia bem descrita com critérios amostrais e de tratamento de dados adequada.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Documentos analisados para emissão deste parecer:

- Modelo de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - "cepconsentmodeloTCLE.doc" postado em 20/10/2014;
- Informações Básicas do Projeto - "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_228123.pdf" postado em 20/10/2014.

O TCLE está redigido na forma de convite e está com linguagem e conteúdo adequados. o termo de concordância da instituição coparticipante, o termo de responsabilidade e a folha de rosto estão devidamente anexados e assinados.

Recomendações:

Termo de responsabilidade e compromisso do pesquisador deverá apresentar cabeçalho institucional do pesquisador responsável e não do CEP/FS deverá referir-se Res. CNS 466/2012, e não à Res. CNS 196/96 já revogada - "termoresponsabilidade.jpg" postada em 05/03/2014.

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.910-900
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3107-1947 **E-mail:** cepfsunb@gmail.com



Continuação do Parecer: 892.947

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O pesquisador realizou todas as alterações solicitadas no TCLE.

Não há pendências.

Protocolo de pesquisa em conformidade com a Res. CNs 466/2012 e complementares.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

A realização das atividades do projeto nas instituições co-participantes está condicionada à aprovação pelo CEP responsável, o CEP da Universidade Federal de Goiás - UFG e ao CEP do Hospital Alberto Rassi - HGG.

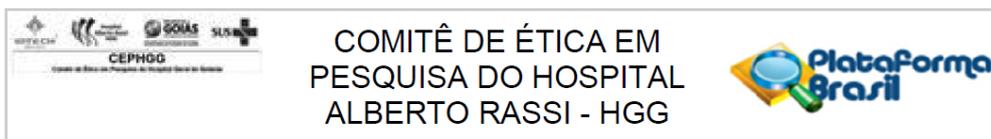
Em acordo com a Resolução 466/12 CNS, itens X.1.- 3.b. e XI.2.d, os pesquisadores responsáveis deverão apresentar relatórios parcial semestral e final do projeto de pesquisa, contados a partir da data de aprovação do protocolo de pesquisa.

BRASILIA, 04 de Dezembro de 2014

Assinado por:
Marie Togashi
(Coordenador)

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.910-900
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3107-1947 **E-mail:** cepfsunb@gmail.com

**ANEXO II- PARECER DE APROVAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA PELO COMITÊ
DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS DO HOSPITAL GERAL DE
GOIÂNIA**



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação do Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal em Pacientes com Diabetes Mellitus tipo 2

Pesquisador: Ana Paula Meireles de Melo

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 22812314.6.3002.0035

Instituição Proponente: Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio
DIAGNOSTICOS DA AMERICA S.A .

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.025.746

Data da Relatoria: 09/04/2015

Apresentação do Projeto:

Nº DO PROTOCOLO NO CEPHGG: 773/14

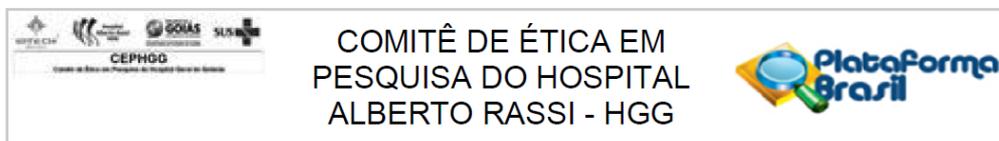
Apresentação do projeto conforme informações do Pesquisador Responsável:

ÁREA TEMÁTICA: Trata-se de um Protocolo nacional, unicêntrico, pertencente à Área do Conhecimento Ciências da Saúde.

PROPÓSITO DO ESTUDO: Objetivo acadêmico: mestrado.

DESENHO DO ESTUDO: Intervenção/Experimental. Os pacientes serão selecionados durante consultas ambulatoriais no Hospital das Clínicas de Universidade Federal de Goiás, e Hospital Geral de Goiânia, quando receberão explicações sobre o projeto de pesquisa e convite para participação. Será agendada consulta médica no HC-UFG para aqueles que aceitarem participar. Na primeira visita, após esclarecimento e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, serão verificados pressão arterial, peso, altura, circunferência abdominal e de quadril. Os pacientes serão submetidos também a avaliação do perfil lipídico; peptídeo C; HbA1c; glicemia de jejum;

Endereço: Avenida Anhanguera nº 6.479 - 5º Andar
Bairro: Setor Oeste **CEP:** 74.110-010
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3209-9917 **Fax:** (62)3209-9982 **E-mail:** hgg.cep@idtech.org.br

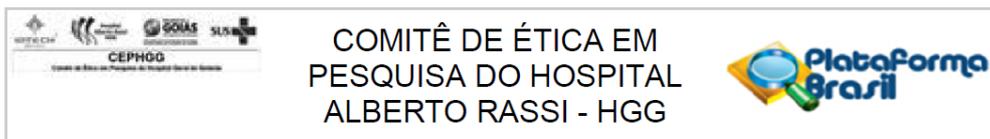


Continuação do Parecer: 1.025.746

insulinemia, ACTH, e cortisol sérico às 8h. O paciente será orientado a coletar cortisol salivar às 23h no mesmo dia. No dia posterior ao da primeira visita, deverá ingerir 0,5 mg de dexametasona às 23h e coletar cortisol salivar e sérico e ACTH às 8h no dia seguinte. Na segunda visita, 8 dias após a primeira, serão solicitados cortisol salivar e sérico e ACTH pós-supressão com 1mg overnight de dexametasona às 23h. Na terceira visita, 7 dias após a segunda, serão solicitados os mesmos exames anteriores após supressão com 2 mg de dexametasona. Valores superiores a 1,8 mg/dL no teste de supressão do cortisol sérico serão considerados positivos e para o cortisol salivar, será avaliada a taxa de supressão do cortisol em relação aos valores basais. Os pacientes que apresentarem resultados positivos nesta avaliação (cortisol salivar e sérico pós 2 mg de dexametasona) serão submetidos à investigação adicional de síndrome de Cushing, de acordo com protocolo estabelecido na literatura.

INTRODUÇÃO: Desde a descrição original da Síndrome X por Gerald Reaven em 1988, a síndrome metabólica tem sido associada a alterações do eixo hipotálamohipofise-adrenal (HHA), à semelhança da síndrome de Cushing. Vários estudos têm demonstrado hiperatividade do eixo HHA em indivíduos com fatores de risco para doença cardiovascular, tais como resistência insulínica, hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia e apneia do sono, particularmente se associados à obesidade visceral. A hiperatividade do eixo HHA pode ser traduzida por elevação das concentrações séricas matinais do ACTH e da sua pulsatilidade; hiperresponsividade do eixo a peptídeos exógenos (CRH e DDAVP); aumento da produção de cortisol medida por radioisótopos e, finalmente, por diminuição da retroalimentação negativa da secreção de cortisol em resposta a baixas doses de dexametasona. Apesar das evidências de hiperatividade do eixo HHA, paradoxalmente, as concentrações séricas de cortisol são normais ou até mesmo baixas na síndrome metabólica, graças ao aumento da excreção urinária de cortisol e do seu clearance periférico. Certas condições tais como depressão, ansiedade, transtorno obsessivo compulsivo, obesidade mórbida, alcoolismo e diabetes mellitus podem ser caracterizadas por hiperativação do eixo HHA, mas sem Síndrome de Cushing verdadeira. Nestas condições, frequentemente, há resultado falso positivo do teste de supressão do cortisol com 1 mg overnight de dexametasona, sendo motivo de confusão na investigação de hipercortisolismo na prática clínica. A dosagem de cortisol livre urinário é menos útil nestes casos e tem sido proposto utilização do teste com dose de 2 mg de dexametasona por dia, por 48 h. Contudo, não está claro na literatura se existe hiperatividade do eixo HHA no DM2 e quais seriam os fatores responsáveis pelos testes falsos positivos. Há controvérsias sobre o papel do mau controle glicêmico; trabalhos recentemente

Endereço: Avenida Anhanguera nº 6.479 - 5º Andar
Bairro: Setor Oeste **CEP:** 74.110-010
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3209-9917 **Fax:** (62)3209-9982 **E-mail:** hgg.cep@idtech.org.br



Continuação do Parecer: 1.025.746

publicados não encontraram relação entre alterações do eixo HHA e parâmetros indicativos de controle glicêmico. É possível que a ativação do HHA e a falha em suprimir a produção do cortisol no teste com 1 mg de dexametasona decorram de outros fatores frequentemente associados ao DM2, tais como a distribuição de gordura central, resistência insulínica, distúrbio do metabolismo lipídico e outros fatores de risco cardiovascular.

HIPÓTESE: A hiperatividade do eixo HHA em pacientes com DM2 (obesos e não obesos) a testes sucessivos de supressão com baixas doses de dexametasona oral pode estar correlacionado a obesidade, ou ao aumento da cintura abdominal, ou resistência insulínica, ou outros fatores de risco cardiovasculares tais como: Hipertensão arterial Sistêmica e Dislipidemia.

JUSTIFICATIVA PARA O ESTUDO: A melhor caracterização do eixo HHA em portadores de DM2 poderia esclarecer os fatores associados à falha da retroalimentação negativa do eixo nesta condição, facilitando a interpretação de testes diagnósticos empregados na investigação de hipercortisolismo.

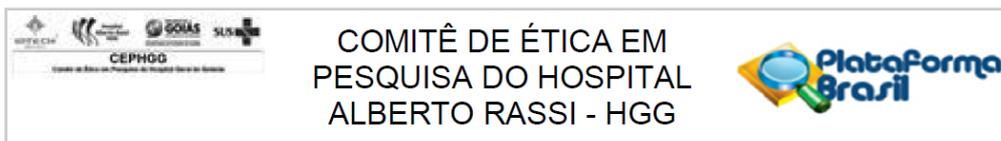
POPULAÇÃO DO ESTUDO: Pacientes com Diabetes Mellitus tipo 2.

NÚMERO DE PARTICIPANTES: Está prevista para esta pesquisa a participação de 100 indivíduos neste Centro de Pesquisas, sendo 50 (cinquenta) pacientes com DM2 e obesidade (índice de massa corporal (IMC) maior ou igual a 30 kg/m²) e 50 (cinquenta) pacientes com DM2 não obesos (IMC menor que 30 kg/m²).

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO: Critérios de inclusão para ambos os grupos (obesos e não obesos): Serão incluídos pacientes do sexo masculino e feminino com diagnóstico prévio de DM2, de acordo com os critérios diagnósticos atuais da Sociedade Brasileira de Diabetes, e com idade superior a 25 anos ao diagnóstico, e que estejam em acompanhamento ambulatorial no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás.

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO: Pacientes em insulino terapia; Pacientes com diagnóstico prévio de síndrome de Cushing endógena ou exógena; depressão e outras condições psiquiátricas; insuficiência renal crônica; insuficiência hepática; gestação, alcoolismo e doença neoplásica; Pacientes em uso de drogas tais como rifampicina, cetoconazol, itraconazol, fenitoína,

Endereço: Avenida Anhanguera nº 6.479 - 5º Andar
Bairro: Setor Oeste **CEP:** 74.110-010
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3209-9917 **Fax:** (62)3209-9982 **E-mail:** hgg.cep@idtech.org.br



Continuação do Parecer: 1.025.746

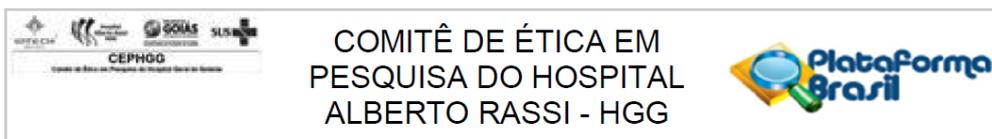
fenobarbital, fluoxetina, diltiazem, ritonavir, carbamazepina, pioglitazona e estrogênios, que interferem no teste de supressão com dexametasona.

FORMA DE RECRUTAMENTO: Os pacientes serão selecionados durante consultas ambulatoriais no Hospital das Clínicas de Universidade Federal de Goiás e Hospital Geral de Goiânia, quando receberão explicações sobre o projeto de pesquisa e convite para participação. Será agendada consulta médica no HC -UFG para aqueles que aceitarem participar.

METODOLOGIA: Serão selecionados 50 (cinquenta) pacientes com DM2 e obesidade (índice de massa corporal (IMC) maior ou igual a 30 kg/m²) e 50 (cinquenta) pacientes com DM2 não obesos (IMC menor que 30 kg/m²), em acompanhamento no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás e Hospital Geral de Goiânia. O tamanho amostra foi calculado ao nível de significância de 5% e poder de teste de 80%, utilizando-se margem de erro de 7%. Na primeira visita, após esclarecimento e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, serão verificados pressão arterial, peso, altura, circunferência abdominal e de quadril. Os pacientes serão encaminhados ao Laboratório Atalaia - Unidade Catedral, na Rua 10 do Setor Sul em Goiânia - Goiás, onde serão submetidos aos exames laboratoriais: avaliação do perfil lipídico; peptídeo C; HbA1c; glicemia de jejum; insulinemia, ACTH, e cortisol sérico às 8h. O paciente será orientado a coletar cortisol salivar às 23h no mesmo dia. No dia posterior ao da primeira visita, deverá ingerir 0,5 mg de dexametasona às 23h e coletar no laboratório especificado cortisol salivar e sérico e ACTH às 8h no dia seguinte. Na segunda visita, 8 dias após a primeira, serão solicitados cortisol salivar e sérico e ACTH pós-supressão com 1mg overnight de dexametasona às 23h. Na terceira visita, 7 dias após a segunda, serão solicitados os mesmos exames anteriores após supressão com 2 mg de dexametasona. Valores superiores a 1,8 mg/dL no teste de supressão do cortisol sérico serão considerados positivos e para o cortisol salivar, será avaliada a taxa de supressão do cortisol em relação aos valores basais. Os pacientes que apresentarem resultados positivos nesta avaliação (cortisol salivar e sérico pós 2 mg de dexametasona) serão submetidos à investigação adicional de síndrome de Cushing, de acordo com protocolo estabelecido na literatura. Análise estatística: Serão usados testes paramétricos (Spearman) e não-paramétricos (teste de Perason) para verificar correlações entre as variáveis em estudo, após aplicação de testes para avaliação de normalidade. Valores p 0,05 serão considerados estatisticamente significativos.

CRONOGRAMA: Previsão de início:01/05/2014; previsão de término 31/07/2015.

Endereço: Avenida Anhanguera nº 6.479 - 5º Andar
Bairro: Setor Oeste CEP: 74.110-010
UF: GO Município: GOIANIA
Telefone: (62)3209-9917 Fax: (62)3209-9982 E-mail: hgg.cep@idtech.org.br



Continuação do Parecer: 1.025.746

ORÇAMENTO: Total previsto: R\$ 94.736,19.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivos apresentados pelo Pesquisador Responsável:

OBJETIVOS PRIMÁRIOS: O propósito deste trabalho é avaliar a resposta do eixo HHA em pacientes com DM2 (obesos e não obesos) a testes sucessivos de supressão com baixas doses de dexametasona oral.

OBJETIVOS SECUNDÁRIOS: Correlacionar parâmetros de controle glicêmico, de resistência à insulina e a presença de fatores de risco cardiovascular com concentrações circulantes ACTH, e cortisol e com a concentração salivar de cortisol pós supressão com dexametasona, como se segue: Correlacionar parâmetros de obesidade (IMC e circunferência abdominal) com a resposta do cortisol salivar e sérico a testes de supressão com baixas doses de dexametasona; Correlacionar parâmetros de controle glicêmico (hemoglobina glicosilada, HbA1c) e de resistência insulínica (HOMA IR) com a resposta do cortisol salivar e sérico a testes de supressão com baixas doses de dexametasona; Correlacionar fatores de risco de doença cardiovascular (hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia, obesidade visceral) com a resposta do cortisol salivar e sérico a testes de supressão com baixas doses de dexametasona.

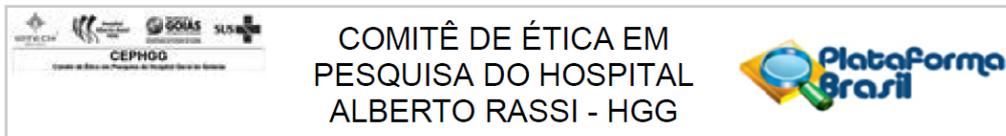
Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Considerações apresentadas pelo Pesquisador Responsável acerca dos possíveis riscos e benefícios resultantes da participação na pesquisa:

RISCOS: Os riscos ou desconfortos relacionados a esta pesquisa serão mínimos. Resumindo-se a um possível desconforto da coleta de exame de sangue comum, coleta de saliva, uso de medicação para exames e na perda de alguns minutos do tempo do paciente. A medicação utilizada será a dexametasona um corticoesteróide que em baixas doses, como a usada nesses exames, não oferece riscos para o controle do diabetes, tão pouco do peso e da pressão arterial.

BENEFÍCIOS: O paciente será submetido a três consultas semanais, em três semanas consecutivas, quando serão realizadas as coletas das amostras de sangue e saliva, além disso, será aferido

Endereço: Avenida Anhanguera nº 6.479 - 5º Andar	
Bairro: Setor Oeste	CEP: 74.110-010
UF: GO	Município: GOIANIA
Telefone: (62)3209-9917	Fax: (62)3209-9982 E-mail: hgg.cep@idtech.org.br



Continuação do Parecer: 1.025.746

pressão arterial e realizado pesagem do paciente na primeira consulta. Durante estas consultas auxiliarei o paciente com orientações com relação a sua doença de base: Diabetes Mellitus. O paciente terá oportunidade de realizar exames tais como: peptídeo C e ACTH, que são de difícil acesso a usuários do SUS.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Comentários e considerações do Comitê de Ética:

CONEP: O projeto em questão é um estudo local sem cooperação estrangeira. O Brasil é o país de origem. Não necessita de avaliação da CONEP, por se tratar de estudo que não pertence a Área Temática Especial.

EQUIPE DE PESQUISA: A equipe de pesquisa está devidamente descrita, dela fazendo parte: Dra. Ana Paula Meireles de Melo, Dra. Angélica Amorim Amato, Dra. Daniela Espíndola Antunes, Dra. Cecília Elias Pacheco, Dr. Sérgio Alberto da Cunha Vêncio, Dr. Nelson Rassi e Dra Sílvia Leda F. M. Paula. tendo sido disponibilizados os respectivos links para acesso ao Curriculum Lattes.

NÚMERO DE PARTICIPANTES: Está prevista a participação de 100 indivíduos no Brasil, neste Centro de Pesquisas.

OBJETIVO DO ESTUDO: O objetivo tem relevância e foi apresentado com clareza.

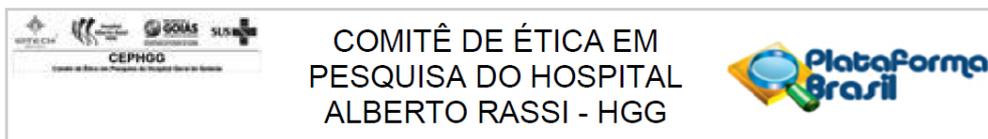
CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO: Os critérios de inclusão e exclusão estão claramente definidos e não apresentam restrições éticas.

METODOLOGIA: A metodologia está claramente descrita e adequada ao que se pretende avaliar.

AValiação DOS RISCOS E BENEFÍCIOS: Os riscos foram descritos e considerados mínimos, sendo aceitos em função dos benefícios esperados para esta pesquisa.

VALOR CIENTÍFICO: O estudo é pertinente e possui valor científico uma vez que a melhor caracterização do eixo HHA em portadores de DM2 poderia esclarecer ps fatores associados à falha da retroalimentação negativa do eixo nesta condição, facilitando a interpretação de testes

Endereço: Avenida Anhanguera nº 6.479 - 5º Andar
Bairro: Setor Oeste **CEP:** 74.110-010
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3209-9917 **Fax:** (62)3209-9982 **E-mail:** hgg.cep@idtech.org.br



Continuação do Parecer: 1.025.746

diagnósticos empregados na investigação de hipercortisolismo.

GARANTIAS ÉTICAS: Estão anexados os termos de responsabilidade e autorizações da instituição. Está garantido o direito ao participante de retirar-se da pesquisa a qualquer momento. Está garantido o sigilo, privacidade, anonimato e confidencialidade dos dados coletados, bem como a garantia de que os dados obtidos serão utilizados somente para esta pesquisa, não sendo armazenados para estudos futuros. Está identificado onde serão atendidos os pacientes no caso de alguma intercorrência relacionada ao estudo.

ORÇAMENTO: O orçamento detalhado da pesquisa foi apresentado, indicando custo total do estudo em R\$ 97.426,19, sendo R\$ 3.140,00 custeados pela Investigadora Responsável e R\$ 94.286,19 pela Instituição Diagnósticos da América S.A.

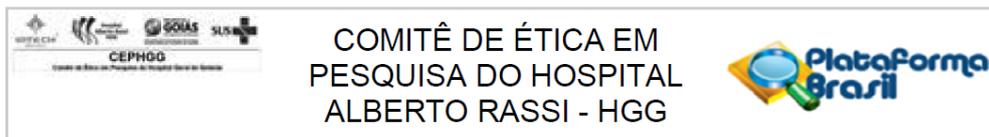
CONOGRAMA: Foi apresentado o cronograma do estudo, informando que o projeto envolverá 24 meses de execução, tendo a tramitação se iniciado no primeiro semestre de 2014, com previsão de término do estudo no segundo semestre de 2015.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Constam no Protocolo os Documentos e Declarações pertinentes em concordância com as normas vigentes, conforme listados abaixo:

- PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_228123
- PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_825973.pdf
- PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_772375.pdf
- PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_632586.pdf
- Folha de rosto assinada;
- Novo TCLE adaptado HGG;
- Nova versão do projeto;
- Declaração sobre atendimento de intercorrências;
- Declaração do Setor Endocrinologia HC;
- Declaração de ausência de encargos SUS;
- Declaração da orientadora;
- Currículo Lattes Ana Paula Meirelles;

Endereço: Avenida Anhanguera nº 6.479 - 5º Andar
Bairro: Setor Oeste **CEP:** 74.110-010
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3209-9917 **Fax:** (62)3209-9982 **E-mail:** hgg.cep@jdtech.org.br



Continuação do Parecer: 1.025.746

- Carta SAMIS HC;
- Carta coparticipante HC;
- Aprovação do núcleo de Ensino e Pesquisa do HC;
- Carta aprovação Setor Clínica Médica HC;
- Termo de responsabilidade;
- Declaração sobre recrutamento;
- Declaração obtenção do TCLE;
- Declaração infraestrutura HGG;
- Declaração de vínculo;
- Declaração Resultados na PB;
- Autorização da coparticipante HGG;
- Autorização Ensino e Pesquisa HGG;
- Autorização chefia endócrino HGG;
- Termo Responsabilidade;
- Carta coordenador CEP;
- Planilha;
- Autorização do Dr. Nelson Rassi;
- Novo orçamento.

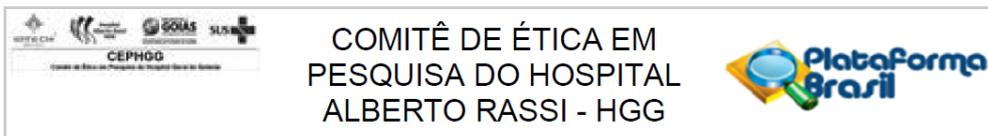
FOLHA DE ROSTO: A folha de rosto encontra-se corretamente preenchida e devidamente assinada pelo Pesquisador Responsável, Dra. Ana Paula Meireles de Melo, e pelo responsável institucional, Prof. Edgar Marchen Hemman, nos respectivos termos de compromisso.

COPARTICIPANTE: Foram anexados os seguintes documentos das coparticipantes: Termo de Concordância da Chefia da Seção de Endocrinologia do HGG; Autorização da Diretoria de Ensino e Pesquisa do HGG e Autorização da Direção da Instituição/ IDTECH; Termo de Concordância da Chefia da Seção de Endocrinologia do Hospital das Clínicas, Autorização da Diretoria de Ensino e Pesquisa e da Diretoria do Hospital das Clínicas (Declaração de coparticipante).

DECLARAÇÃO DO SUS: Foi anexada a Declaração de que o SUS não terá nenhum ônus proveniente da realização da pesquisa.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO: O TCLE proposto está descrito em linguagem

Endereço: Avenida Anhanguera nº 6.479 - 5º Andar
Bairro: Setor Oeste **CEP:** 74.110-010
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3209-9917 **Fax:** (62)3209-9982 **E-mail:** hgg.cep@idtech.org.br



Continuação do Parecer: 1.025.746

clara e acessível, de fácil entendimento. Os objetivos foram claramente informados, bem como a garantia de participação voluntária e da retirada de consentimento a qualquer momento, sem prejuízo para o participante. Os procedimentos a serem realizados estão descritos. Há garantia de confidencialidade da participação, informando que os dados obtidos não serão divulgados nem utilizados para outras finalidades que não o estudo em questão. Consta informação sobre o ressarcimento de despesas (ex.: transporte) do participante. Apresenta as formas de contato com o CEP responsável pelo acompanhamento do estudo e com o Investigador Responsável. Está informado que o participante receberá uma via do TCLE contendo sua assinatura e de uma pessoa autorizada da equipe de pesquisa. Contém o campo para assinatura e data para o participante e o Investigador. Não se aplicam campos para rubrica, visto que o TCLE apresenta somente uma página.

CRONOGRAMA: Cronograma adequado.

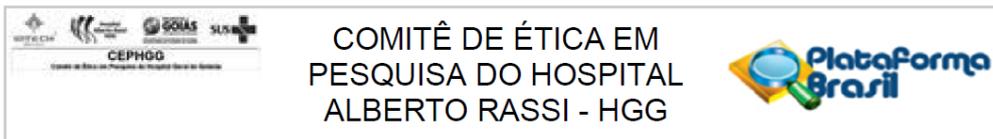
ORÇAMENTO FINANCEIRO: O orçamento detalhado da pesquisa foi apresentado, indicando o custo total do estudo em R\$ 94.736,19. A investigadora arcará com parte da despesa e a Instituição Diagnóstico da América S.A arcará com as despesas referentes à parte laboratorial. Refere que as despesas de transporte correrão por conta do paciente.

CURRÍCULO: Foi apresentada a equipe de Pesquisa informando que a pesquisadora possui graduação em Medicina pela Universidade Federal de Goiás (2005). Concluiu Residência Médica em Clínica Médica pelo Hospital das Clínicas - Universidade Federal de Goiás (2008) e especialização em Endocrinologia e Metabologia pelo Hospital das Clínicas - UFG(2010). Possui título de especialista em Endocrinologia e Metabologia pela Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia(2010). Atualmente é médica do corpo clínico da Clínica CENDI, professora convidada da Faculdade de Medicina - PUC/Goiás e professora substituta no Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da UFG. Tem experiência na área de Medicina, com ênfase em Endocrinologia, possuindo formação adequada para a condução da pesquisa. Foram disponibilizados ainda os links para acesso ao Curriculum na Plataforma Lattes dos demais membros da equipe.

Recomendações:

Nada a recomendar.

Endereço: Avenida Anhanguera nº 6.479 - 5º Andar
Bairro: Setor Oeste **CEP:** 74.110-010
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3209-9917 **Fax:** (62)3209-9982 **E-mail:** hgg.cep@idtech.org.br



Continuação do Parecer: 1.025.746

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não foram encontradas inadequações ou pendências éticas.

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Alberto Rassi - HGG, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/2012 e na Norma Operacional Nº 001/2013 do CNS, manifesta -se pela aprovação do projeto de pesquisa nos termos que está proposto.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Em acordo com a Resolução 466/12 CNS, itens X.1.-3.b e XI.2.d, solicitamos ao pesquisador responsável que nos encaminhe os Relatórios Parciais semestralmente, contados a partir da data de aprovação, e o Relatório Final / Encerramento ou Relatório de Suspensão do Estudo. Solicitamos que nos envie possíveis Emendas, Adendos, novos Termos de Consentimento Livre e Esclarecido ou qualquer modificação relevante para que possamos fazer o devido acompanhamento deste estudo.

O CEPHGG pode, a qualquer momento, fazer escolha aleatória de estudo em desenvolvimento para avaliação e verificação do cumprimento das normas da Resolução 466/12 e suas complementares.

GOIANIA, 16 de Abril de 2015

Assinado por:
Andréa Inês Spadeto Aires
(Coordenador)

Endereço: Avenida Anhanguera nº 6.479 - 5º Andar
Bairro: Setor Oeste **CEP:** 74.110-010
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3209-9917 **Fax:** (62)3209-9982 **E-mail:** hgg.cep@idtech.org.br

ANEXO III– PARECER DE APROVAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS - GO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação do Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal em Pacientes com Diabetes Mellitus tipo 2

Pesquisador: Ana Paula Meireles de Melo

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 22812314.6.3003.5078

Instituição Proponente: Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília

Patrocinador Principal: DIAGNOSTICOS DA AMERICA S.A .
Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.311.176

Apresentação do Projeto:

É conhecido que pacientes com DM2, em investigação de hipercortisolismo, podem apresentar resultados falso-positivos no teste de supressão do cortisol com 1 mg de dexametasona, levando a erros de diagnóstico. O motivo da falta de supressão não está esclarecido na literatura. A maioria dos estudos demonstrou hiperatividade do HHA na síndrome metabólica e obesidade. É possível, contudo, que o comprometimento da tolerância à glicose seja um fator que isoladamente determina alterações do eixo HHA, uma vez que já foi demonstrado que pacientes com DM2 e intolerância a glicose apresentam anormalidades na ação do cortisol mesmo na ausência de hipertensão arterial e obesidade. Estes achados favorecem a hipótese de que as anormalidades na ação do cortisol possam ser um mecanismo comum relacionando resistência insulínica, hipertensão arterial, intolerância a glicose e obesidade. A melhor caracterização do eixo HHA em portadores de DM2 poderia esclarecer os fatores associados à falha da retroalimentação negativa do eixo nesta condição, facilitando a interpretação de testes diagnósticos empregados na investigação de hipercortisolismo.

Objetivo da Pesquisa:

O propósito deste trabalho é avaliar a resposta do eixo HHA em pacientes com DM2 (obesos e não

Endereço: 1ª Avenida s/nº - Unidade de Pesquisa Clínica
Bairro: St. Leste Universitário **CEP:** 74.605-020
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3269-8338 **Fax:** (62)3269-8426 **E-mail:** cephcufig@yahoo.com.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS - GO



Continuação do Parecer: 1.311.176

obesos) a testes sucessivos de supressão com baixas doses de dexametasona oral.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os pesquisadores relatam risco mínimo relacionado ao desconforto da coleta de exame de sangue comum, coleta de saliva, uso de medicação Dexametasona para exames e na perda de alguns minutos do tempo do paciente. Sendo relatado pelo pesquisador como não interveniente na patologia de base do paciente (diabetes) ou nas patologias correlatas (obesidade e pressão arterial).

Relatam como benefícios, três consultas em três semanas e acesso, orientações com relação a sua doença de base, o DM2, e a oportunidade de realizar exames, como peptídeo C e ACTH, de difícil acesso a usuários do SUS.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisadora submete esta emenda para atender solicitação do CEP/FS para anexar uma carta de pendência comunicando que um novo TCLE para o HC foi anexado contemplando as alterações solicitada por este mesmo CEP.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos de apresentação obrigatória encontram-se anexados e adequados.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

CONCLUSÃO:

As informações constantes na presente emenda atendem aos aspectos fundamentais da Resolução CNS 466/12, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos não apresentando nenhum óbice ético, razão pela qual manifestamos pela sua aprovação.

Considerações Finais a critério do CEP:

Em razão de não existir nenhum óbice ético, a Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas/UFG - CEP/HC/UFG, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12, manifesta-se pela APROVAÇÃO deste projeto de pesquisa proposto.

De acordo com a Resolução 466/12 CNS, itens X.1.- 3.b. e XI.2.d, os pesquisadores responsáveis deverão apresentar relatórios parcial semestral e final do projeto de pesquisa, contados a partir da data de aprovação do protocolo de pesquisa.

Endereço: 1ª Avenida s/nº - Unidade de Pesquisa Clínica
Bairro: St. Leste Universitario **CEP:** 74.605-020
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3269-8338 **Fax:** (62)3269-8426 **E-mail:** cephcufg@yahoo.com.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS - GO



Continuação do Parecer: 1.311.176

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_456326 E1.pdf	30/06/2015 15:27:19		Aceito
Outros	carta de pendência 30 de junho.pdf	30/06/2015 15:24:41		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_456326 E1.pdf	15/06/2015 08:46:47		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO HC.pdf	15/06/2015 08:45:30		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_456326 E1.pdf	11/05/2015 09:50:57		Aceito
Outros	Projeto atualizado.pdf	11/05/2015 09:47:48		Aceito
Outros	carta de pendência scan.pdf	11/05/2015 09:47:25		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_456326 E1.pdf	04/05/2015 09:50:11		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_456326 E1.pdf	28/04/2015 18:56:10		Aceito
Outros	doc recrutamento scan.pdf	28/04/2015 15:39:49		Aceito
Outros	declaração da pesquisadora responsavel scan.pdf	28/04/2015 15:39:10		Aceito
Outros	carta de encaminhamento scan.pdf	28/04/2015 15:38:24		Aceito
Outros	Doc Daniela scan.pdf	28/04/2015 15:36:19		Aceito
Outros	Doc Angelica scan.pdf	28/04/2015 15:36:01		Aceito
Outros	Doc nucleo de pesquisa scan.pdf	28/04/2015 15:35:30		Aceito
Outros	nucleo de pesquisa scan.pdf	28/04/2015 15:34:00		Aceito
Outros	doc dra Silvia scan.pdf	28/04/2015 15:33:37		Aceito
Outros	Carta Pesquisa Dra Ana Paula - Assinada Diretor DASA pdf.pdf	28/04/2015 15:33:09		Aceito
Outros	carta samis scan.pdf	28/04/2015 15:32:25		Aceito
Outros	certidão de ata.pdf	28/04/2015 15:32:04		Aceito
Outros	carta diretor scan.pdf	28/04/2015 15:31:40		Aceito

Endereço: 1ª Avenida s/nº - Unidade de Pesquisa Clínica
Bairro: St. Leste Universitario **CEP:** 74.605-020
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3269-8338 **Fax:** (62)3269-8426 **E-mail:** cephcufig@yahoo.com.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS - GO



Continuação do Parecer: 1.311.176

Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_456326_E1.pdf	29/01/2015 15:30:00		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_228123.pdf	20/10/2014 12:01:08		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	cepconsentmodeloTCLE.doc	20/10/2014 12:00:11		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_228123.pdf	17/09/2014 20:51:52		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_228123.pdf	28/07/2014 19:30:04		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_228123.pdf	07/07/2014 21:05:03		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_228123.pdf	30/06/2014 09:51:37		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_228123.pdf	07/05/2014 18:10:16		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_228123.pdf	05/03/2014 21:38:09		Aceito
Outros	termoresponsabilidade.jpg	05/03/2014 21:35:20		Aceito
Outros	cartacoordenadorcep.jpg	05/03/2014 21:34:48		Aceito
Outros	cepmodplanilha (1).doc	05/03/2014 21:33:53		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	drasilvia.jpg	05/03/2014 21:33:17		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	dr.nelson.jpg	05/03/2014 21:32:57		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto emitido.docx	05/03/2014 21:31:31		Aceito
Folha de Rosto	folha de rosto assinada.pdf	25/10/2013 08:30:01		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: 1ª Avenida s/nº - Unidade de Pesquisa Clínica
Bairro: St. Leste Universitario **CEP:** 74.605-020
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3269-8338 **Fax:** (62)3269-8426 **E-mail:** cepcufg@yahoo.com.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS - GO



Continuação do Parecer: 1.311.176

GOIANIA, 05 de Novembro de 2015

Assinado por:
JOSE MARIO COELHO MORAES
(Coordenador)

Endereço: 1ª Avenida s/nº - Unidade de Pesquisa Clínica
Bairro: St. Leste Universitario **CEP:** 74.605-020
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3269-8338 **Fax:** (62)3269-8426 **E-mail:** cephcufg@yahoo.com.br

ANEXO IV - Análise comparativa de variáveis clínicas dos portadores de *diabetes mellitus* tipo 2 estudados, de acordo com o valor da Hemoglobina glicada

Variável	Hemoglobina glicada aumentada ^a				Hemoglobina glicada normal				p
	N	Média ± DP	Mediana (IQ)	IC 95%	N	Média ± DP	Mediana (IQ)	IC 95%	
Idade (anos)	25	59,6±9,4	59 (54-70)	55,7-63,5	29	58,0 ±7,4	59 (53,2-63,5)	58,3-60,8	0,470*
Tempo de diagnóstico (anos)	22	11,3 ±9,1	10 (5,0-14,5)	7,2-15,3	29	10,7 ±7,1	9,0 (3,5-15,5)	7,3-12,7	0,732**
Índice de massa corporal (Kg/m ²)	25	31,0±7,4	28,3(26,a-33,4)	28,0-34,1	29	29,2±6,5	27,6 (23,6-33,5)	26,7-31,7	0,263**
Relação CA/CQ	24	1,00 ±0,17	0,97 (0,91-1,0)	0,92-1,07	29	0,92 ±0,08	0,94 (0,90-0,97)	0,89-0,95	0,064**
Índice de Adiposidade Corporal	25	33,6±7,6	30,9 (28,4-37,7)	30,5-36,8	29	34,18±8,5	33,8 (26,7-39,1)	30,9-37,4	0,820*
Pressão arterial sistólica (mmHg)	25	135,8 ±15,8	135 (127-140)	129,3-142,4	27	128,2 ±15,3	130 (115-140)	122,1-134,2	0,093**
Pressão arterial diastólica (mmHg)	25	84,6 ±9,0	80 (80-90)	80,9-88,3	27	78,8±9,2	80 (72-80)	75,2-82,5	0,232**
HOMA-IR ^b	25	6,7 ±4,4	4,7 (3,8-9,9)	4,8-8,6	29	3,0 ±1,5	2,6 (1,6-4,1)	2,41-3,6	0,000**
Glicemia de jejum (mg/dL)	24	188,0 ±58,5	174 (146-230)	163,2-212,8	28	111,4 ±23,5	112 (90,7-132,2)	102,3-120,5	0,000*
Circunferência abdominal (cm)	24	101,9±13,7	102,7 (93-106)	96,0-107,7	29	96,5±11,9	93,7 (87,5-104)	91,9-101,9	0,135*
Peptídeo C (ng/mL)	25	2,76 ±1,05	2,8 (1,9-3,4)	2,3-3,2	29	2,29±0,9	2,2 (1,5-3,1)	1,05-2,6	0,088*
Insulina (µU/mL)	25	14,8 ±13,7	12,6 (5,5-18,0)	9,1-20,4	29	10,7±5,5	10,9 (6,5-13,8)	8,6-12,8	0,376**
Colesterol total (mg/dL)	25	171,8 ±41,6	167 (136-200)	154,4-183,7	29	153,9 ±26,3	146 (136-170)	143,9-163,9	0,099**
LDL ^c (mg/dL)	25	97,8 ±41,9	95 (64-123,5)	80,5-115,1	29	83,8 ±24,5	80 (69-93,5)	74,5-93,2	0,135*
HDL ^d (mg/dL)	25	45,7 ±9,8	43 (38,5-52,5)	41,6-49,8	29	48,6 ±8,4	48 (42,0-55,5)	45,4-51,90	0,240*
Triglicérides (mg/dL)	25	185,0±122,2	146(114,5-188)	134,5-235,4	29	107,7 ±43,1	111,5 (74-127,5)	90,6-123,5	0,004**

^aHemoglobina glicada aumentada ≥7%; CA/CQ: circunferência abdominal/circunferência do quadril; ^bHomeostatic model assesment; ^cLipoproteína de baixa densidade; ^dLipoproteína de alta densidade;

Anexo V- Análise comparativa de variáveis relativas à atividade do eixo hipotálamo-hipófise adrenal, entre os portadores de *diabetes mellitus* do tipo 2 estudados, de acordo com o valor da hemoglobina glicada

Variável	Hemoglobina glicada aumentada ^d				Hemoglobina glicada normal				p
	N	Média±DP	Mediana (IQ)	IC 95%	N	Média ± DP	Mediana (IQ)	IC 95%	
Cortisol salivar noturno (µg/dL)	24	0,24±0,12	0,20(0,16-0,27)	0,18-0,29	28	0,22±0,11	0,17(0,15-0,29)	0,17-0,26	0,435**
Cortisol sérico às 8h(µg/dL)	23	12,0 ±4,6	11,6 (9,5-15,5)	10,1-14,0	28	12,3 ±4,7	10,8 (8,80-14,8)	10,3-13,3	0,130**
ACTH às 8h ^a (pg/dL)	24	20,5±11,4	20,1(15,0-26,1)	15,7-25,4	29	23,7±9,2	15,3 (12,9-22,3)	20,2-27,3	0,071**
Cortisol sérico após 0,5 mg ^b(µg/dL)	25	1,44 ±1,5	1,0 (0,50-1,5)	0,79-2,1	29	1,59 ±1,68	1,0 (0,66-1,63)	0,9-2,2	0,543**
Cortisol salivar após 0,5 mg ^b(µg/dL)	25	0,19 ±0,08	0,19(0,12-0,22)	0,15-0,23	28	0,24 ±0,12	0,20 (0,16-0,20)	0,19-0,29	0,320**
Cortisol sérico após 1 mg ^b(µg/dL)	25	0,90 ±0,49	0,65(0,55-1,22)	0,69-1,10	29	0,95 ±0,20	0,80 (0,65-1,10)	0,62-1,28	0,481**
Cortisol salivar após 1 mg ^b(µg/dL)	24	0,21 ±0,10	0,19(0,14-0,29)	0,1-0,25	28	0,21 ±0,10	0,21 (0,16-0,26)	0,17-0,25	0,679**
Cortisol sérico após 2 mg ^b(µg/dL)	24	0,71 ±0,40	0,60(0,42-0,87)	0,54-0,88	29	0,63 ±0,42	0,60 (0,41-0,80)	0,47-0,79	0,430**
Cortisol salivar após 2 mg ^b(µg/dL)	23	0,19 ±0,08	0,17(0,13-0,25)	0,17-0,23	26	0,21 ±0,08	0,19 (0,14-0,30)	0,18-0,25	0,365*

* variáveis com distribuição normal – Teste t; ** variáveis com distribuição não normal – teste U de Mann Whitney ;^a ACTH: hormônio adrenocorticotrófico, ^b 0,5mg, 1,0mg e 2,0 mg: doses de dexametasona utilizadas durante o teste de supressão; IQ: intervalo interquartil.^d hemoglobina glicada aumentada quando ≥7,0%

ANEXO VI - Análise comparativa de variáveis clínicas dos portadores de *diabetes mellitus* tipo 2 estudados, de acordo com o valor da circunferência abdominal.

Variável	CA aumentada ^a				CA normal				P
	N	Média ± DP	Mediana (IQ)	IC 95%	N	Média ± DP	Mediana (IQ)	IC 95%	
Idade (anos)	50	58,9± 8,3	59 (54-64,5)	56,5-61,3	3	53,7 ±7,6	52 (47-52)	56,5-61,3	0,287**
Tempo de diagnóstico (anos)	47	10,7 ±8,1	10 (4,0-15,)	8,0-13,8	3	11,0 ±4,3	9,0 (8,0-9,0)	6,5-18	0,963*
Índice de massa corporal (Kg/m ²)	50	30,3±7,0	28,5(25,2-33,4)	28,3-32,3	3	25,4±0,87	25,0 (24,4-26,0)	23,8-26,5	0,248*
Relação CA/CQ	50	0,96 ±0,14	0,96 (0,91-1,0)	0,92-1,00	3	0,93 ±0,04	0,91 (0,90-0,91)	0,87-0,99	0,689*
Índice de Adiposidade Corporal	50	34,0±7,8	32,6 (28,4-38,6)	32,0-36,5	3	26,0±7,5	25,7 (25,5-25,7)	24,7-27,0	0,086*
Pressão arterial sistólica (mmHg)	48	132,8 ±16,1	130 (120-140)	128,1-137,5	3	1118,7 ±8,5	115(110-115)	105,1-132,3	0,093**
Pressão arterial diastólica (mmHg)	48	82,1 ±8,6	80 (80-90)	76,0-84,8	3	68,3 ± 10,4	65 (60-65)	54,8-87,6	0,031**
HOMA-IR ^b	48	4,5 ±3,4	3,8 (2,1-5,5)	3,5-5,5	3	6,0 ±7,7	1,9 (1,2-1,9)	-13,1-25,2	0,548**
Glicemia de jejum (mg/dL)	48	146,4 ±57,5	132(101-172,5)	129,7-163,1	3	148,3 ±86,0	133 (71-133)	-65,3-362,0	0,873*
Hemoglobina glicada (%)	50	7,38±1,46	6,8 (6,1 -8,7)	6,9-7,8	3	7,3±1,7	6,8 (5,9-6,8)	4,5-11,9	0,890*
Peptídeo C (ng/mL)	50	2,44 ±0,97	2,2 (1,7-3,1)	2,1-2,7	3	2,9 ±1,5	3,5 (1,8-3,5)	1,1-5,5	0,453**
Insulina (µUi/mL)	50	12,3 ±10,5	11,9 (6,4-16,0)	9,3-15,3	3	13,3±10,9	13,5 (5,5-22,8)	-0,40-28,1	0,939**
Colesterol total (mg/dL)	50	162,8 ±34,7	152(136-182,5)	152,1-173,9	3	148 ±24,3	161 (120,2-161)	151,6-171,9	0,538**
LDL ^c (mg/dL)	50	90,6±34,7	82 (66,5-109,5)	79,7-99,2	3	73,0±18,3	77 (50-64)	27,5-156,0	0,389*
HDL ^d (mg/dL)	50	46,9 ±8,5	45,3 (40,0-53,0)	44,5-49,3	3	61,3 ±10,2	64 (50-64)	23,3-82,6	0,025**
Triglicérides (mg/dL)	50	146,5±98,0	123(82,2-175,7)	114,9-165,1	3	67,5 ±16,6	70 (50-70)	-152,5-498,0	0,173*

^aCircunferência abdominal aumentada na mulher > 80cm e no homem > 90cm (ref. 60); CA/CQ: circunferência abdominal/circunferência do quadril; ^bHomeostatic model assesment; ^cLipoproteína de baixa densidade; ^dLipoproteína de alta densidade;

Anexo VII - Análise comparativa de variáveis relativas à atividade do eixo hipotálamo-hipófise adrenal, entre os portadores de *diabetes mellitus* do tipo 2 estudados, de acordo com o valor da circunferência abdominal.

Variável	CA aumentada				CA normal				P
	N	Média±DP	Mediana (IQ)	IC 95%	N	Média ± DP	Mediana (IQ)	IC 95%	
Cortisol salivar noturno (µg/dL)	48	0,22± 0,11	0,19(0,15-0,27)	0,13-0,28	3	0,19±0,06	0,17 (0,15-0,17)	0,11-0,28	0,810**
Cortisol sérico às 8h (µg/dL)	48	11,6 ±4,4	10,8 (9,0-14,7)	10,3-12,9	3	16,5 ±5,5	13,5 (11,6-15,5)	7,1-23,4	0,096**
ACTH às 8h ^a (pg/mL)	49	22,5±10,4	19,6(14,8-26,1)	19,4-25,5	3	18,3±5,3	15,5 (12,9-15,5)	8,4-25,4	0,531*
Cortisol sérico após 0,5 mg ^b (µg/dL)	50	1,58 ±1,6	0,99(0,60-1,63)	1,09-2,06	3	1,29 ±0,20	1,27 (1,10-1,27)	0,60-1,67	0,365**
Cortisol salivar após 0,5 mg ^b (µg/dL)	49	0,22 ±0,11	0,20(0,16-0,25)	0,18-0,25	2	0,14 ±0,14	0,14 (0,13-0,14)	-0,19-0,67	0,298*
Cortisol sérico após 1 mg ^b (µg/dL)	50	1,03 ±1,12	0,73(0,60-1,10)	0,67-1,34	3	1,05 ±0,05	1,06 (1,00-1,06)	0,62-1,28	0,979*
Cortisol salivar após 1 mg ^b (µg/dL)	48	0,22 ±0,11	0,19(0,15-0,26)	0,1-0,25	3	0,18 ±0,09	0,16 (0,11-0,16)	0,02-0,4	0,527*
Cortisol sérico após 2 mg ^b (µg/dL)	49	0,66 ±0,42	0,60(0,40-0,80)	0,54-,79	3	0,82 ±0,14	0,80 (0,60-0,80)	0,632-0,99	0,549*
Cortisol salivar após 2 mg ^b (µg/dL)	45	0,20 ±0,08	0,18(0,14-0,29)	0,17-0,23	3	0,18 ±0,09	0,12(0,12-0,14)	0,050- 0,37	0,659*

* variáveis com distribuição normal – Teste t; ** variáveis com distribuição não normal – teste U de Mann Whitney ;^a ACTH: hormônio adrenocorticotrófico, ^b 0,5mg, 1,0mg e 2,0 mg: doses de dexametasona utilizadas durante o teste de supressão; IQ: intervalo interquartil.

Anexo VIII – Análise comparativa das características clínicas e laboratoriais, entre os pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2 estudados, de acordo com a presença ou ausência de critérios para SM:

Variável	Com Síndrome Metabólica				Sem Síndrome Metabólica				p
	N	Média±DP	Mediana (IQ)	IC 95%	N	Média ± DP	Mediana (IQ)	IC 95%	
Índice de massa corporal (Kg/m²)	49	30,5±7,0	28,4(25,5-33,0)	28,2-31,7	5	26,2±5,1	24,4 (22,8-30,6)	19,8-32,6	0,109**
Circunferência abdominal (cm)	48	98,6 ±13,7	99,0 (90-106)	95,5-102,1	5	92,4 ±11,2	90,0(83,7-102,0)	78,5-106,0	0,240*
Relação CA/CQ	48	0,96 ±0,14	0,96 (0,91-0,99)	0,91-1,00	5	0,94 ±0,03	0,94 (0,91-0,97)	0,90-0,98	0,690**
HOMA-IR^a	48	4,6 ±3,5	3,8 (2,1-5,2)	3,4-5,5	4	6,1 ±5,9	3,8 (2,3-12,3)	-3,3-15,6	0,804**
Hemoglobina glicada (%)	49	7,4±3,4	6,9 (6,2 -8,7)	6,8-7,6	5	6,9±5,9	6,6 (6,0-8,0)	5,2-8,6	0,523**
Peptídeo C (ng/mL)	49	2,46 ±0,96	2,3 (1,6-3,1)	0,9-2,2	5	3,1 ±1,2	3,5(2,0-3,9)	1,6-4,6	0,164*

*variáveis com distribuição normal - utilizado Teste t; ** variáveis com distribuição não normal - utilizado o teste U de Mann Whitney; CA/CQ: circunferência abdominal/circunferência do quadril; IQ: intervalo interquartil; ^aHomeostatic model assesment;

Anexo IX - Análise comparativa das características clínicas e laboratoriais, entre os portadores de *diabetes mellitus* do tipo 2 estudados, de acordo com o sexo.

Variável	Sexo feminino				Sexo masculino				p
	N	Média±DP	Mediana (IQ)	IC 95%	N	Média ± DP	Mediana (IQ)	IC 95%	
Idade(anos)	40	59,1± 8,6	59 (55-65)	56,3-61,8	14	57,8 ±7,9	56(52,7-63,2)	53,2-62,4	0,639**
Tempo de diagnóstico (anos)	40	10,9 ±8,7	10 (4,0-17,5)	8,0-13,8	14	9,7 ±5,4	9,5 (5,2-14,2)	6,5-18	0,874*
Índice de massa corporal (Kg/m²)	40	30,6±7,5	29,7(25-34)	28,2-33,0	14	28,5±5,08	27,7 (25,1-29,9)	25,5-31,4	0,327**
Circunferência abdominal (cm)	39	98,6 ±13,7	95 (88-106)	94,2-103,1	14	99,8 ±11,0	99,7(92,2-106,5)	93,4-103,1	0,785**
Relação CA/CQ	39	0,93 ±0,07	0,94 (0,91-0,99)	0,91-0,96	14	1,03 ±0,22	0,99 (0,94-1,01)	0,90-1,16	0,067*
Índice de Adiposidade Corporal	40	36,1±7,9	36,4 (29,8-41,4)	33,6-38,7	14	27,5±4,19	26,4 (25,2-28,8)	25,1-29,9	0,000**
Pressão arterial sistólica (mmHg)	38	133,6 ±16,5	136,5 (120-140)	128,1-139,0	14	127,2 ±13,5	130 (118,7-130)	128,1-139,0	0,975**
Pressão arterial diastólica (mmHg)	38	81,3 ±16	80 (80-90)	75,9-86,8	14	76,6 ± 7,5	80 (70-80)	72,3-80,9	0,309**
HOMA-IR^a	39	4,5 ±3,6	3,7 (2,0-5,6)	3,3-5,7	13	5,2 ±3,8	4,2 (2,6-6,9,3)	2,9-7,5	0,780*
Glicemia de jejum (mg/dL)	39	144,1 ±51,9	135 (105-171)	127,3-161,0	13	154,6 ±74,4	128 (100-210)	109,6-199,7	0,992*
Hemoglobina glicada (%)	40	7,25±1,33	6,8 (6,1 -8,6)	6,8-7,6	13	8,0±1,9	7,8 (6,4-9,5)	6,9-9,1	0,221*
Peptídeo C (ng/mL)	40	2,46 ±0,99	2,2 (1,8-3,2)	2,1-2,7	14	2,63 ±1,04	2,9 (1,5-3,5)	2,0-3,2	0,582**
Insulina (µUi/mL)	40	13,1 ±11,2	11,9 (6,7-17,2)	9,5-16,7	14	11,2±6,9	11,7 (5,6-14,2)	7,1-15,2	0,790*
Colesterol total (mg/dL)	40	162,5 ±35,7	152,5(137-177)	152,1-173,9	14	160,9 ±34,3	157 (130,7-190,2)	141,0-180,7	0,883**
LDL^b(mg/dL)	40	90,5 ±34,0	83 (66,2-108,2)	79,6-101,4	14	89,7 ±35,7	78 (65-121,2)	69,0-110,3	0,938**
HDL^c(mg/dL)	40	47,7 ±7,9	46 (40,5-53,7)	45,1-50,2	14	46,2 ±12,2	43 (37-53,2)	39,1-53,3	0,607**
Triglicérides (mg/dL)	40	140,5±91,7	123,5(77,2-148)	1112-169,9	14	150,5 ±111	105 (77,5-209,2)	85,8-215,12	0,961*

* variáveis com distribuição normal - utilizado Teste t; ** variáveis com distribuição não normal - utilizado o teste U de Mann Whitney; CA/CQ: circunferência abdominal/circunferência do quadril; IQ: intervalo interquartil; ^aHomeostatic model assesment; ^blipoproteína de baixa densidade; ^clipoproteína de alta densidade.

Anexo X- Análise comparativa de variáveis relativas à atividade do eixo hipotálamo-hipófise adrenal, entre os portadores de *diabetes mellitus* do tipo 2 estudados, de acordo o sexo.

Variável	Sexo Feminino				Sexo Masculino				p
	N	Média±DP	Mediana (IQ)	IC 95%	N	Média ± DP	Mediana (IQ)	IC 95%	
Cortisol salivar noturno (µg/dL)	39	0,22±0,10	0,19 (0,15-0,27)	0,18-0,25	13	0,25±0,1	0,20 (0,16-0,30)	0,16-0,34	0,553*
Cortisol sérico às 8h (µg/dL)	39	11,8 ±4,8	10,8 (9,2-149)	10,2-13,4	13	12,7 ±4,2	120 (9,7-15,1)	10,2-15,3	0,485*
ACTH às 8h^a (pg/mL)	40	20,6±8,4	18,7(14,6-25,5)	18,0-23,3	13	23,7±14,0	23,9 (17,1-33,1)	18,9-35,8	0,111*
Cortisol sérico após 0,5mg^b (µg/dL)	40	1,60 ±1,7	0,99 (0,60-1,64)	1,03-2,17	14	1,31±1,0	1,05 (0,60-1,57)	0,70-1,92	0,992*
Cortisol salivar após 0,5mg^b (µg/dL)	39	0,22 ±0,1	0,20 (0,16-0,26)	0,18-0,26	12	0,22 ±0,13	1,18 (0,-13-0,32)	0,14-0,31	0,835*
Cortisol sérico após 1mg^b (µg/dL)	40	1,03 ±1,2	0,78 (0,60-1,10)	0,64-1,44	14	0,89 ±0,7	0,75 (0,60-1,07)	0,14-0,31	0,681*
Cortisol salivar após 1mg^b (µg/dL)	38	0,22 ±0,11	0,20 (0,14-0,26)	0,18-0,25	14	0,21 ±0,09	0,18 (0,14-0,29)	0,15-0,26	0,757*
Cortisol sérico após 2mg^b (µg/dL)	39	0,60 ±0,31	0,60 (0,40-0,80)	0,50-0,70	14	0,85 ±0,60	0,64 (0,50-0,98)	0,50-1,20	0,121*
Cortisol salivar após 2mg^b (µg/dL)	39	0,20 ±0,08	0,18 (0,14-0,29)	0,17-0,23	12	0,20 ±0,10	0,19 (0,12-0,27)	0,13-0,26	0,861*

* variáveis com distribuição normal – Teste t; ** variáveis com distribuição não normal – teste U de Mann Whitney ;^aACTH: hormônio adrenocorticotrófico, ^b 0,5mg, 1,0mg e 2,0 mg: doses de dexametasona utilizadas durante o teste de supressão; IQ: intervalo interquartil.

ANEXO XI- Análise comparativa de variáveis clínicas e laboratoriais dos portadores de *diabetes mellitus* tipo 2 estudados, de acordo com o valor do cortisol sérico após 1 mg de dexametasona

Variável	Cortisol < 1,8 µg/dL				Cortisol ≥ 1,8 µg/dL				p
	N	Média±DP	Mediana (IQ)	IC 95%	N	Média ± DP	Mediana (IQ)	IC 95%	
Idade(anos)	49	58,4± 8,4	59 (53,5-64,0)	55,9-60,8	4	62,2 ±7,6	60 (56,2-69,5)	52,6-71,7	0,345**
Tempo de diagnóstico (anos)	47	10,4 ±8,0	9,0 (4,0-15,)	8,0-12,7	4	12,7 ±8,4	14,5 (4,2-19,5)	-0,65-26,1	0,505*
Índice de massa corporal (kg/m²)	49	30,3±7,2	28,5(25,1-33,6)	28,2-32,4	4	27,5±2,4	27,2 (25,6-29,5)	24,4-3,5	0,388**
Relação CA/CQ	48	0,96 ±0,14	0,96(0,91-0,99)	0,92-1,00	4	0,97 ±0,06	0,97 (0,91-1,03)	0,89-1,04	0,573*
Circunferência abdominal	48	98,8±13,4	95,7(88,2-106)	94,9-102,7	4	100,5±7,7	103 (92,3-107,5)	90,8-110,1	0,780**
Pressão arterial sistólica (mmHg)	47	132,1 ±16,6	130 (120-140)	127,2-136,9	4	130,0±7,0	130 (125-135)	121,2-138,7	0,801*
Pressão arterial diastólica (mmHg)	47	82,1 ±9,6	80 (80-90)	79,2-84,9	4	77,2 ± 7,0	80 (70-83)	68,4-85,9	0,275**
HOMA-IR^a	47	4,7 ±3,8	3,6 (2,08-5,8)	3,5-5,8	4	4,9 ±1,5	4,4 (3,9-6,1)	3,04-6,8	0,257*
Glicemia de jejum (mg/dL)	47	149 ±59,6	135 (105-176)	131,5-166,5	5	126,2 ±33,2	126 (94,5-158)	84,8-167,5	0,504*
Hemoglobina glicada (%)	49	7,38±1,47	6,8 (6,1 -8,7)	6,9-7,8	4	8,12±1,9	8,3 (6,3-9,8)	5,6-10,6	0,464*
Peptídeo C (ng/mL)	49	2,45 ±0,99	2,2 (1,7-3,1)	2,1-2,7	4	3,07 ±0,94	3,1 (2,2-3,8)	1,8-4,2	0,190**
Insulina (µUi/mL)	49	12,7 ±10,6	11,9 (6,4-17,0)	9,7-15,8	4	11,0±5,5	12,5 (6,5-14,7)	4,1-17,9	0,893*
Colesterol total (mg/dL)	49	162,2 ±35,8	153 (137-182)	151,9-172,5	4	161,4 ±29,7	171 (130-187,5)	124,43-198,3	0,917*
LDL^b(mg/dL)	49	90,2 ±34,6	81 (66,5-109,5)	80,3-100,2	4	91,0 ±32,4	95 (60-120)	50,7-131,2	0,811*
HDL^c(mg/dL)	49	47,0 ±9,1	45 (40,0-53,0)	44,3-49,6	4	50,2 ±9,7	50 (41,5- 59)	38,1-62,2	0,466**
Triglicérides (mg/dL)	49	145,9±98,3	123(81,5-172)	117,5-174,3	4	115,8 ±69,5	83,0 (62,5-185,5)	29,4-202,1	0,541*

* variáveis com distribuição normal - utilizado Teste t; ** variáveis com distribuição não normal - utilizado teste U de Mann Whitney; IQ: intervalo interquartil; CA: circunferência abdominal; CQ: circunferência do quadril; supressão normal: cortisol <1,8 µg/dL após 1mg de dexametasona; ^aHomeostatic model assessment, insulin resistance; ^blipoproteína de baixa densidade; ^clipoproteína de alta densidade.

ANEXO XII. Análise comparativa de variáveis clínicas dos portadores de *diabetes mellitus* tipo 2 estudados, de acordo com o valor do cortisol salivar em resposta à supressão com 2 mg de dexametasona.

Variável	Cortisol salivar ≤ 0,29µg/dL				Cortisol salivar > 0,29µg/dL				p
	N	Média±DP	Mediana (IQ)	IC 95%	N	Média ± DP	Mediana (IQ)	IC 95%	
Idade(anos)	36	59,3± 8,5	59 (54,0-65,0)	56,4-62,2	13	56,6 ±7,8	57,0 (53,5-60,5)	51,8-61,3	0,327**
Tempo de diagnóstico (anos)	33	10,2 ±7,1	10,0 (4,0-15,5)	7,7-12,7	13	10,8 ±10,8	8,0 (4,0-15,5)	4,3-17,4	0,817*
Índice de massa corporal (Kg/m ²)	36	31,0±7,6	29,7 (25,4-33,7)	28,4-33,6	13	28,7±5,8	27,4 (23,9-32,5)	25,2-32,2	0,365*
Relação circunferência/quadril	35	0,93 ±0,08	0,96 (0,90-1,0)	0,90-0,96	13	0,95 ±0,04	0,96 (0,92-0,99)	0,93-0,98	0,601*
Pressão arterial sistólica (mmHg)	34	133,0 ±16,5	130 (120-140)	127,2-138,8	13	128,0 ±17,1	126 (115-140)	117,6-138,3	0,421*
Pressão arterial diastólica (mmHg)	34	81,7 ±10,0	80 (80-88,5)	78,2-85,3	13	75,7 ±24,6	80 (77,5-90)	60,8-90,6	0,899**
HOMA-IR ^a	36	4,6 ±3,9	3,4 (2,0-6,1)	3,3-6,0	11	5,4 ± 3,7	4,7 (2,1-6,0)	2,8-7,9	0,315*
Glicemia de jejum (mg/dL)	36	148,9 ±60,1	138 (100-185,7)	128,5-169,3	11	136,9 ±40,6	130 (111-154)	109,6-164,1	0,539**
Hemoglobina glicada (%)	36	7,55±1,54	7,0 (6,1-8,8)	7,0-8,0	13	7,21±1,61	6,7 (5,9-8,1)	6,2-8,1	0,395*
Peptídeo C (ng/mL)	36	2,45 ±1,0	2,3 (1,8-3,8)	2,1-2,7	13	2,6 ±1,0	3,1 (1,6-3,)	2,0-3,3	0,487**
Insulina (µUi/mL)	36	12,5 ±11,8	10,7 (4,8-16,3)	8,5-16,5	13	13,7±5,2	13,6 (7,2-19,2)	9,3-18,0	0,239*
Colesterol total (mg/dL)	36	154,6 ±25,1	162(137,5-185,5)	139,4-169,8	13	154,6 ±25,1	148 (138,5-161)	139,4-169,8	0,319**
LDL ^b (mg/dL)	36	95,4 ±35,8	87,5 (71,2-115)	83,3-107,6	13	79,3 ±28,2	71 (62-84)	62,2-96,4	0,151**
HDL ^c (mg/dL)	36	47,4 ±8,9	46 (40-53)	44,4-50,5	13	46,6 ±10,9	45 (38,5-58,5)	39,9-53,2	0,782**
Triglicérides (mg/dL)	3	140,7±96,2	116,5(76,2-173)	108,2-173,3	13	159,6 ±110,9	127 (79,5-217)	92,5-22,6	0,154**

* variáveis com distribuição normal - utilizado Teste t; ** variáveis com distribuição não normal - utilizado teste U de Mann Whitney; IQ: intervalo interquartil; CA: circunferência abdominal; CQ: circunferência do quadril; ^aHomeostatic model assessment. insulin resistance; ^blipoproteína de baixa densidade; ^clipoproteína de alta densidade

ANEXO XIII. Análise das concentrações medianas de Hemoglobina glicada, IMC, CA e Peptídeo C nos quatro quartis de cortisol salivar após baixas doses de dexametasona.

Cortisol salivar após 0,5mg de dexametasona	1^o Quartil (≤0,15µg/dL)		2^o Quartil (0,16-0,20µg/dL)		3^o Quartil (0,21-0,26µg/dL)		4^o Quartil (>0,26µg/dL)		P^a
	N	Mediana(IQ)	N	Mediana(IQ)	N	Mediana(IQ)	N	Mediana(IQ)	
Hemoglobina glicada (%)	13	7,1 (6,2-9,3)	15	6,6 (6,2-8,6)	12	7,3 (6,1-8,7)	11	6,6 (5,8-8,0)	0,698
Índice de Massa Corporal (kg/m ²)	13	27,2 (24,5-34,3)	15	29,6 (26,0-33,1)	12	30,8 (24,5-34,0)	11	27,1 (23-32,3)	0,414
Circunferência Abdominal (cm)	13	102,4(86,5-113)	15	96,5 (88,0-105)	12	104 (87,5-112)	11	93,7 (88-103)	0,899
Peptídeo C (ng/mL)	13	1,9 (1,2-3,3)	15	2,2 (1,2-2,8)	12	3,0 (2,0-3,6)	11	2,5 (1,5-3,3)	0,740
Cortisol salivar após 1 mg de dexametasona	1^o Quartil (≤0,15µg/dL)		2^o Quartil (0,16-0,19µg/dL)		3^o Quartil (0,20-0,26µg/dL)		4^o Quartil (>0,26µg/dL)		P
N	Mediana(IQ)	N	Mediana(IQ)	N	Mediana(IQ)	N	Mediana(IQ)		
Hemoglobina glicada (%)	14	7,8 (6,5-9,6)	11	6,6 (6,1-8,3)	14	6,3 (5,8-7,6)	12	7,8 (6,8-8,7)	0,041
Índice de Massa Corporal (kg/m ²)	14	28,1 (25,5-33,3)	11	30,9 (23,4-35,0)	14	24,5 (22,5-32,5)	12	28,3 (26,9-32,7)	0,166
Circunferência Abdominal (cm)	14	104 (87,5-112)	11	98 (92,5-111)	13	93,0 (85,9-100)	12	101,7 (91,1-105)	0,309
Peptídeo C (ng/mL)	14	1,9 (1,2-2,9)	11	3,1 (2,3-3,5)	14	2,0 (1,6-2,4)	12	3,1 (2,5-3,8)	0,013
Cortisol salivar após 2 mg de dexametasona	1^o Quartil (≤0,14µg/dL)		2^o Quartil (0,15-0,18µg/dL)		3^o Quartil (0,19-0,29µg/dL)		4^o Quartil (>0,29µg/dL)		P
N	Mediana(IQ)	N	Mediana(IQ)	N	Mediana(IQ)	N	Mediana(IQ)		
Hemoglobina glicada (%)	15	8,1 (6,15-9,6)	10	7,8 (6,5-9,6)	14	7,8 (6,5-9,6)	10	6,5 (5,8-8,0)	0,497
Índice de Massa Corporal (kg/m ²)	15	24,4 (24,5-33,3)	10	28,1 (25,5-33,3)	14	28,1 (25,5-33,3)	10	27,0 (23-32,3)	0,156
Circunferência Abdominal (cm)	15	93 (88,5-103)	10	104 (87,5-112)	13	104 (87,5-112)	10	96,7 (88-103)	0,561
Peptídeo C (ng/mL)	15	2,0 (1,2-3,9)	10	1,9 (1,2-2,9)	14	1,9 (1,2-2,9)	10	2,5 (1,5-3,3)	0,124

^a p calculado através do teste H de Kruskal-Wallis; IQ= Intervalo interquartil

Anexo XIV - Análise comparativa de variáveis relativas à atividade do eixo hipotálamo-hipófise adrenal, entre os portadores de *diabetes mellitus* do tipo 2 estudados, de acordo com a presença ou ausência de retinopatia diabética.

Variável	Presença de retinopatia diabética				Ausência de retinopatia diabética				p
	N	Média±DP	Mediana (IQ)	IC 95%	N	Média ± DP	Mediana (IQ)	IC 95%	
Cortisol salivar noturno (µg/dL)	3	0,37± 0,22	0,30 (0,20-0,30)	-,18-0,93	35	0,21±0,09	0,18 (0,15-0,27)	0,18-0,24	0,082*
Cortisol sérico às 8h (µg/dL)	3	9,93 ±1,06	9,7 (9,0-9,7)	7,2-12,5	36	12,1 ±4,8	11,7 (8,7-14,8)	10,4-13,7	0,452**
ACTH às 8h^a (pg/mL)	3	19,9±5,4	19,2(14,8-19,2)	6,27-33,5	36	21,8±9,5	20,1 (15,2-24,6)	18,6-25,1	1,00*
Cortisol sérico após 0,5 mg^b(µg/dL)	3	1,23 ±1,2	0,60 (0,40-0,60)	-1,9-4,3	37	1,73 ±1,8	1,00 (0,66-1,63)	1,11-2,34	0,411*
Cortisol salivar após 0,5 mg^b(µg/dL)	3	0,32 ±0,15	0,26 (0,21-0,26)	-0,06-0,70	36	0,22 ±0,12	0,19 (0,15-0,27)	0,18-0,26	0,133*
Cortisol sérico após 1 mg^b(µg/dL)	3	1,25 ±0,90	0,76 (0,70-0,76)	-0,9-3,5	37	1,05 ±1,2	0,80 (0,60-1,08)	0,63-1,48	0,440*
Cortisol salivar após 1 mg^b(µg/dL)	3	0,22 ±0,06	0,20 (0,18-0,20)	0,06-0,38	36	0,21 ±0,11	0,19 (0,14-0,25)	0,17-0,25	0,509*
Cortisol sérico após 2 mg^b(µg/dL)	3	1,10 ±1,2	0,60 (0,20-0,60)	-1,9-4,1	36	0,64 ±0,32	0,57 (0,40-0,80)	0,52-0,75	0,853*
Cortisol salivar após 2 mg^b(µg/dL)	2	0,19 ±0,02	0,19 (0,17-0,19)	-0,06-0,44	33	0,20 ±0,09	0,17 (0,13-0,30)	0,17-0,24	0,749*

* variáveis com distribuição normal – Teste t; ** variáveis com distribuição não normal – teste U de Mann Whitney ;^aACTH: hormônio adrenocorticotrófico, ^b 0,5mg, 1,0mg e 2,0 mg: doses de dexametasona utilizadas durante o teste de supressão; IQ: intervalo interquartil.

Anexo XV - Análise comparativa de variáveis relativas à atividade do eixo hipotálamo-hipófise adrenal, entre os portadores de *diabetes mellitus* do tipo 2 estudados, de acordo com a presença ou ausência de sintomas de neuropatia periférica.

Variável	Sintomas de neuropatia periférica presentes				Sintomas de neuropatia periférica ausentes				p
	N	Média±DP	Mediana (IQ)	IC 95%	N	Média ± DP	Mediana (IQ)	IC 95%	
Cortisol salivar noturno (µg/dL)	3	0,17± 0,04	0,19 (0,12-0,19)	0,06-0,27	35	0,22±0,11	0,18 (0,15-0,27)	0,18-0,26	0,587*
Cortisol sérico às 8h (µg/dL)	3	9,00 ±3,01	9,7 (5,7-9,7)	1,51-16,4	36	12,0 ±4,7	11,3 (9,0-14,8)	10,4-13,6	0,286**
ACTH às 8h^a (pg/mL)	3	19,4±8,7	16,9 (12,2-16,9)	-2,3-41,2	36	21,5±9,3	19,4 (14,9-24,6)	18,3-24,7	0,693*
Cortisol sérico após 0,5 mg^b (µg/dL)	3	0,66 ±0,05	0,68 (0,60-0,68)	0,52-0,79	38	1,5 ±1,5	1,00 (0,61-1,63)	1,04-2,04	0,456*
Cortisol salivar após 0,5 mg^b (µg/dL)	3	0,20 ±0,02	0,14 (0,13-0,14)	-0,20-0,67	36	0,22 ±0,12	0,19 (0,15-0,26)	0,18-0,26	0,732*
Cortisol sérico após 1 mg^b (µg/dL)	3	0,65±0,04	0,65 (0,61-0,65)	0,54-0,76	37	1,10 ±1,2	0,80 (0,60-1,10)	0,67-1,53	0,411*
Cortisol salivar após 1 mg^b (µg/dL)	3	0,27 ±0,10	0,24 (0,19-0,24)	0,04-0,54	35	0,20 ±0,11	0,18 (0,14-0,25)	0,16-0,24	0,167*
Cortisol sérico após 2 mg^b (µg/dL)	3	0,49 ±0,27	0,40 (0,28-0,40)	-0,18-1,16	36	0,69 ±0,44	0,60 (0,42-0,80)	0,54-0,84	0,327*
Cortisol salivar após 2 mg^b (µg/dL)	3	0,24 ±0,07	0,26 (0,16-0,26)	0,05-0,43	33	0,20 ±0,09	0,17 (0,13-0,29)	0,17-0,23	0,289*

* variáveis com distribuição normal – Teste t; ** variáveis com distribuição não normal – teste U de Mann Whitney; ^aACTH: hormônio adrenocorticotrófico, ^b 0,5mg, 1,0mg e 2,0 mg: doses de dexametasona utilizadas durante o teste de supressão; IQ: intervalo interquartil.

Anexo XVI - Análise comparativa de variáveis relativas à atividade do eixo hipotálamo-hipófise adrenal, entre os portadores de *diabetes mellitus* do tipo 2 estudados, de acordo com a presença ou ausência de microalbuminúria/proteinúria.

Variável	Presença de microalbuminúria/proteinúria				Ausência de microalbuminúria/proteinúria				p
	N	Média ± DP	Mediana (IQ)	IC 95%	N	Média ± DP	Mediana (IQ)	IC 95%	
Cortisol salivar noturno (µg/dL)	12	0,22 ± 0,14	0,19 (0,14-0,28)	0,12-0,31	26	0,22±0,10	0,18 (0,15-0,27)	0,18-0,26	0,694*
Cortisol sérico às 8h (µg/dL)	12	10,1 ±5,24	9,7 (8,1-10,8)	10,9-14,4	27	12,6 ±4,3	12,4 (9,2-14,9)	10,9-14,4	0,120**
ACTH às 8h ^a (pg/mL)	12	18,8± 6,49	17,2 (13,9-25,0)	14,6-22,9	27	22,8±10,1	20,6 (15,6-24,6)	18,8-26,8	0,213*
Cortisol sérico após 0,5 mg ^b(µg/dL)	12	1,20 ±0,94	0,71 (0,52-1,87)	0,61-1,80	28	1,90 ±2,0	1,05 (0,72-1,60)	1,11-2,69	0,231*
Cortisol salivar após 0,5 mg ^b(µg/dL)	12	0,19 ±0,12	0,16(0,09-0,26)	0,11-0,27	27	0,23 ±0,12	0,19 (0,16-0,28)	0,18-0,28	0,229*
Cortisol sérico após 1 mg ^b(µg/dL)	12	0,88 ±0,50	0,73 (0,58-1,02)	0,56-1,20	28	1,15 ±1,44	0,80 (0,60-1,10)	0,59-1,71	0,756*
Cortisol salivar após 1 mg ^b(µg/dL)	11	0,17 ±0,06	0,18 (0,14-0,20)	0,13-0,21	28	0,23 ±0,12	0,20 (0,16-0,28)	0,18-0,28	0,138*
Cortisol sérico após 2 mg ^b(µg/dL)	12	0,71 ±0,61	0,60 (0,40-0,69)	0,33-1,10	27	0,66 ±0,34	0,60 (0,45-0,80)	0,52-0,80	0,807*
Cortisol salivar após 2 mg ^b(µg/dL)	11	0,16 ±0,06	0,15 (0,14-0,17)	0,12 -0,21	24	0,22 ±0,09	0,19 (0,13-0,30)	0,17-0,26	0,122**

* variáveis com distribuição normal – teste t; ** variáveis com distribuição não normal – teste U de Mann Whitney ; ^aACTH: hormônio adrenocorticotrófico, ^b 0,5mg, 1,0mg e 2,0 mg: doses de dexametasona utilizadas durante o teste de supressão; IQ: intervalo interquartil