

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:

ENDOCRINOLOGIA, METABOLISMO E NUTRIÇÃO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**COMPARAÇÃO DOS TESTES DE ESTÍMULO COM BAIXA E ALTA
DOSE DE CORTROSINA PARA O DIAGNÓSTICO DE INSUFICIÊNCIA
ADRENAL EM PACIENTES COM CHOQUE SÉPTICO**

RAFAEL BARBERENA MORAES

ORIENTADOR: PROF. Dr. MAURO ANTONIO CZEPIELEWSKI

Porto Alegre, 2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS:

ENDOCRINOLOGIA, METABOLISMO E NUTRIÇÃO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**COMPARAÇÃO DOS TESTES DE ESTÍMULO COM BAIXA E ALTA
DOSE DE CORTROSINA PARA O DIAGNÓSTICO DE INSUFICIÊNCIA
ADRENAL EM PACIENTES COM CHOQUE SÉPTICO**

RAFAEL BARBERENA MORAES

ORIENTADOR: PROF. Dr. MAURO ANTONIO CZEPIELEWSKI

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de

Mestre em Ciência Médicas: Endocrinologia,

Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia,

Faculdade de Medicina,

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Porto Alegre, 2009

M827c Moraes, Rafael Barberena.

COMPARAÇÃO DOS TESTES DE ESTÍMULO COM BAIXA E ALTA DOSE DE CORTROSINA PARA O DIAGNÓSTICO DE INSUFICIÊNCIA ADRENAL EM PACIENTES COM CHOQUE SÉPTICO /Rafael Barberena Moraes orient.

Mauro Antonio Czepielewski. – 2009.

89 f. : Il. color.

Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de PósGraduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Metabolismo e Nutrição. . Porto Alegre, BR-RS, 2009.

1. Choque séptico 2. Insuficiência adrenal 3. Diagnóstico 4. Corticóides 4. Hormônio adrenocorticotrópico I. Czepielewski, Mauro Antonio II. Título.

NLM: WK 765

Esta Dissertação de Mestrado segue o formato proposto pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Metabolismo e Nutrição, da Faculdade de Medicina da UFRGS, sendo apresentada na forma de um artigo de revisão e um artigo original em português e inglês a serem submetidos para publicação em periódicos Qualis A Nacional e Internacional na Classificação da CAPES.

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes instituições:

- **Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Metabolismo e Nutrição**
- **Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, através de apoio na consultoria estatística e epidemiológica e apoio financeiro para compra de medicamentos e dosagens hormonais.**

Dedicatória:

Aos mestres:

- PAULO IVO HOMEM DE BITENCOURT JÚNIOR, que me ensinou o prazer de produzir ciência;

- PAULO RICARDO CERVEIRA CARDOSO, que me ensinou a fazer da dúvida ponto de partida para o conhecimento;

- GILBERTO FRIEDMAN que desde o começo da residência em medicina intensiva me deu suporte e incentivou a pesquisa nesta área incipiente da Medicina

- MAURO ANTONIO CZEPIELEWSKI, exemplo maior de conduta médica, que diariamente ensina o prazer de ser médico e a multiplicar este prazer;

Ao meu pai, AURÉLIO DA ROCHA MORAES, a pessoa mais forte que conheço, cujo maior ensinamento é que nenhum obstáculo na vida é maior que a nossa capacidade de superá-lo;

À minha mãe, MAGALI OLIVEIRA BARBERENA, professora, modelo para um médico que centra sua atividade no ensino médico e galga a condição de mestre;

À minha esposa, ANA CAROLINA VILAS BOAS SCHMITT, pilar de minha vida, parceira nessa viagem.

"Um homem precisa viajar. Por sua conta... Precisa viajar por si, com seus olhos e pés, para entender o que é seu. Para um dia plantar as suas árvores e dar-lhes valor... Conhecer o frio para desfrutar o calor. E o oposto... Um homem precisa viajar para lugares que não conhece para quebrar essa arrogância que nos faz ver o mundo como o imaginamos, e não simplesmente como é ou pode ser; que nos faz professores e doutores do que não vimos, quando deveríamos ser alunos, e simplesmente ir ver."

Amyr Klink, em "Mar sem Fim"

Agradecimentos:

Aos diversos médicos, enfermeiros e técnicos de enfermagem da UTI do HCPA, sempre solícitos e dispostos a ajudar na execução desta pesquisa, sem os quais seria impossível a realização desta.

Aos residentes de Medicina Intensiva do HCPA, particularmente Tiago Tonieto e Henrique Saltz, parceiros na execução deste trabalho.

Ao professor Henrique Canani pela indispensável contribuição na análise dos dados.

A Vânia Hirataka, pela paciência e disponibilidade intermináveis.

SUMÁRIO

página

Formato da dissertação.....	4
Dedicatória.....	5
Agradecimentos	6
Lista de Abreviaturas.....	8-9
Lista de tabelas e figuras	10-11
Introdução.....	12
Objetivos.....	13
Artigo de Revisão	14-32
Artigo Original em Português	33-51
Tabelas e Figuras do Artigo Original em Português	52-62
Artigo Original em Inglês	63-78
Tabelas e Figuras do Artigo Original em Inglês	79-89

LISTA DE ABREVIATURAS

1. Artigo em Língua Portuguesa

- **ACTH:** *adrenocorticotropic hormone*
- **AD:** alta dose
- **AUC ROC:** *area under curve ROC*;
- **AVP:** vasopressina, hormônio antidiurético
- **BD:** baixa dose
- **CBG:** *cortisol binding globulin*
- **CIRCI:** *critical illness- related corticosteroid insufficiency*
- **CRH:** *corticotropin releasing hormone*
- Δ : delta, variação
- **Δ cortisolAD:** variação de cortisol após teste de alta dose
- **Δ cortisolBD:** variação de cortisol após teste de baixa dose
- **HCPA:** Hospital de Clínicas de Porto Alegre
- **HDL:** *high density lipoprotein*
- **HHA:** hipotálamo- hipófise- adrenal
- **IAR:** insuficiência adrenal relativa
- r_s : coeficiente de correlação de Spearman
- **ROC curve:** *receiver operator characteristic curve*
- **SIDA:** Síndrome da imunodeficiência adquirida
- **SRIS:** síndrome da resposta inflamatória sistêmica

2. Artigo em Língua Inglesa

- **ACTH:** *adrenocorticotrophic hormone, corticotropin*
- **APACHE II score:** *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II score*
- **AUC ROC:** *area under receiver operating characteristic curve*
- **BC1:** *baseline cortisol before low dose test*
- **BC2:** *baseline cortisol before high dose test*
- **CBG:** *cortisol binding globulin*
- **CIRCI:** *critical illness- related corticosteroid insufficiency*
- **CRH:** *corticotropin releasing hormone; Δ : delta, variation*
- **Δ cortisolHD:** *cortisol variation induced by high dose test*
- **Δ cortisolLD:** *cortisol variation induced by low dose test*
- **HD test:** *high dose (250 ug) cosyntropin test*
- **HPA:** *hypothalamic- pituitary- adrenal*
- **ICU:** *intensive care unit*
- **LD test:** *low dose (1 ug) cosyntropin test*
- **ROC curve:** *receiver operating characteristic curve*

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

- **Artigo em Língua Portuguesa** **página**
 - **Figura 1..... 52**
 - Correlação da variação da cortisolemia induzida pelos testes de cortrosina em pacientes com choque séptico
 - **Figura 2..... 53**
 - Gráficos de Bland-Altman: comparação dos testes de cortrosina em pacientes com choque séptico conforme cortisol basal
 - **Figura 3..... 54-55**
 - Curva ROC para comparação do teste de cortrosina em baixa dose ao teste padrão de alta dose, conforme cortisol basal
 - **Tabela 1..... 56**
 - Variação da cortisolemia após testes de cortrosina em sobreviventes e não sobreviventes
 - **Figura 4..... 57-58**
 - Análise de mortalidade por curvas de Kaplan-Meier em todos pacientes e conforme variação da cortisolemia induzida pelos testes de cortrosina em alta e baixa dose.
 - **Figura 5..... 59-60**
 - Análise de mortalidade através de curvas ROC em todos pacientes e conforme cortisol basal
 - **Figura 6..... 61-62**

- Retirada de vasopressor conforme variação do cortisol após testes de cortrosina em alta e baixa dose
- **Artigo em Língua Inglesa**
 - **Figure 1..... 79**
 - Correlation of cortisol variation induced by cortrosyn tests in patients with septic shock
 - **Figure 2..... 80**
 - Bland-Altman graphics: comparison of cortrosyn tests in patients with septic shock according baseline cortisol
 - **Figure 3..... 81-82**
 - ROC curve comparing LD test to standard HD test, according baseline cortisol
 - **Table 1..... 83**
 - Cortisol variation after cortrosyn tests in survivors and non survivor
 - **Figure 4..... 84-85**
 - Mortality analysis through Kaplan-Meier curves in all patients and according cortisol variation after cortrosyn tests in high dose (HD) and low dose (LD).
 - **Figure 5..... 86-87**
 - Mortality analysis through ROC curves of cortrosyn tests in all patients and according baseline cortisol
 - **Figura 6..... 88-89**
 - Vasopressor withdrawal according cortisol variation after high dose (HD) and low dose (LD) cortrosyn tests

INTRODUÇÃO

O uso de corticóides em pacientes portadores de choque séptico é um tema debatido há mais de 50 anos. Esta discussão ganhou importância nos últimos 20 anos com a evolução do conhecimento sobre a fisiologia do sistema endócrino no paciente crítico, particularmente do sistema hipotálamo-hipófise-adrenal. Hoje sabemos que a resposta fisiológica perante situações de estresse, como choque séptico, é a ativação deste sistema. Sabemos também que alguns pacientes não conseguem ativar este sistema e incrementar cortisolémia perante tais situações e que estes pacientes apresentam pior prognóstico. À incapacidade de incrementar cortisolémia nestas situações atribui-se o termo insuficiência adrenal relativa (IAR), ou mais recentemente *CIRCI (critical illness related corticosteroid insufficiency)*. Apesar do reconhecimento desta situação ainda não há critérios diagnósticos estabelecidos. Desenvolvemos este projeto, o qual culmina com esta dissertação, com o objetivo de contribuir para definição diagnóstica de CIRCI, particularmente aferindo o papel dos testes de estímulo com cortrosina. Nesta dissertação constam artigo de revisão envolvendo atualização no diagnóstico de insuficiência adrenal no paciente crítico e artigo original, apresentado em língua portuguesa e inglesa, resultante de um trabalho prospectivo comparando duas doses de cortrosina no diagnóstico de insuficiência adrenal em pacientes com choque séptico.

OBJETIVOS

PRIMÁRIO:

Comparar a variação induzida pelo teste de cortrosina em baixa dose (1 μg) na cortisolemia de pacientes portadores de choque séptico com a variação induzida pelo teste de cortrosina em alta dose (250 μg).

SECUNDÁRIOS:

Comparar a capacidade da variação de cortisolemia induzida pelo teste de baixa dose com o teste de alta dose na predição de mortalidade e uso de drogas vasopressoras.

ARTIGO DE REVISÃO

ATUALIZAÇÃO NO DIAGNÓSTICO DE INSUFICIÊNCIA ADRENAL NO PACIENTE CRÍTICO

UP DATE ON DIAGNOSIS OF ADRENAL FAILURE IN CRITICALLY ILL
PATIENTS

RESUMO

Nos últimos 20 anos muito se evoluiu na compreensão da resposta do eixo hipotálamo- hipófise- adrenal em pacientes críticos. Na década de 1990 foi criado o termo Insuficiência Adrenal Relativa (IAR) para designar aquele grupo de pacientes que se mostra incapaz de aumentar a produção de cortisol perante estímulo estressor. Pacientes portadores de IAR tem maior morbimortalidade intra-hospitalar. Apesar disto não há ainda na literatura critério diagnóstico amplamente aceito para IAR. À valorização da cortisolemia basal, somam-se nos últimos anos estudos que investigam o papel de outros métodos diagnósticos tais como o teste de cortrosina em baixa dose (1 µg) e alta dose (250 µg); a medida de cortisol sérico livre, cortisol salivar, e outros testes como a hipoglicemia insulínica e a metirapona. Neste artigo analisamos e sintetizamos os resultados dos principais trabalhos que tentam definir critérios diagnósticos de IAR, sugerindo uma abordagem diagnóstica para este distúrbio bem como ressaltando que atualmente a decisão de corticoterapia em pacientes críticos independe do diagnóstico de IAR.

Palavras-chave: Insuficiência Adrenal, Sepsis, Cortrosina, Corticoterapia.

ABSTRACT

In the last two decades there was important evolution in the knowledge of the function of the hypothalamic- pituitary- adrenal axis. In the last decade it was created the expression “Relative Adrenal Insufficiency” (RAI) to designate those patients enables to increase the cortisol production in stress situations. Patients with RAI have elevated hospital morbidity and mortality. Until now there is not a diagnostic criteria widely accepted. Besides basal cortisol, some publications now research the role of other tests, like cortrosyn test, either in low dose (1 µg) or high dose (250 µg), free cortisol, salivary cortisol, metyrapone test and others.

We aim in this review to summarize the results of the most influent papers that intend to define diagnostic criteria to RAI. We also suggest an approach to diagnose RAI and become clear that the decision about steroid therapy in septic shock patients is matter apart from RAI.

Key-words: adrenal insufficiency, sepsis, cortrosyn, steroid therapy

INTRODUÇÃO

Alteração do trofismo das glândulas adrenais como reação a infecção já foi descrita na literatura há quase um século **(1)**.

Na década de 1960 estudos experimentais indicavam que o uso de corticóides em doses imunossupressoras diminuía mortalidade em cobaias após indução de endotoxemia **(2)**. Estes achados e outros suportaram o uso de corticosteróides em pacientes sépticos.

Diversos ensaios clínicos com resultados divergentes foram conduzidos até a década de 1990, com conclusões divergentes sobre o uso de corticóides em pacientes sépticos. Nestes ensaios, altas doses de corticóides eram empregadas, alcançando até 120 mg/kg/dia de metilprednisolona, em pacientes com infecções de baixa gravidade, tardiamente no curso da doença e por curto período de tempo (3-4 dias).

Assim, fundamentados no conceito de bloqueio da cascata inflamatória, evitando dano tecidual secundário e “inflamação excessiva” determinada pela sepse, o uso de corticóides em altas doses permaneceu como conduta de indicação discutível até a década de 1990, até que três metanálises sepultaram definitivamente esta prática **(3, 4, 5)**.

Em 1995 Lefering *et al* **(3)** publicam metanálise de 10 ensaios, mostrando ausência de benefício com o uso de corticóides em altas doses em portadores de choque séptico.

Neste mesmo ano Cronin *et al* **(4)** publicam outra metanálise incluindo 9 ensaios, igualmente concluindo por ausência de benefício desta intervenção em sepse.

Em 1997 Zeni *et al* **(5)** realizam metanálise que incluía 8 estudos (excluía um dos textos analisados por Cronin *et al*) concluindo por aumento de mortalidade com uso de corticóides em altas doses em pacientes com sepse.

A discussão a respeito do uso de corticóides em pacientes portadores de choque séptico parecia ter encerrado, mas neste momento tem início nova discussão a respeito do papel dos glicocorticóides em pacientes sépticos.

Tendo por base o conhecimento de que em situações críticas como choque séptico, cirurgias, traumatismos, entre outras, o nível endógeno de cortisol deva se elevar de forma rápida e substancial, e perante a observação de que alguns pacientes são

incapazes de elevar a cortisolemia perante tais estímulos surgiu a idéia de suplementar glicocorticóide nestes pacientes.

Surge então na literatura o termo “insuficiência adrenal relativa” (IAR), para descrever um subgrupo de pacientes que mediante estímulo estressor, sendo sepse o protótipo deste estímulo, mostrava-se incapaz de incrementar a produção de cortisol a níveis suficientemente altos para suprir a acréscimo de demanda metabólica ocasionada pela sepse.

Desde a década de 1990 diversos estudos tem empregado os corticóides de forma diversa daquela anteriormente preconizada. Usando doses menores (hidrocortisona, 200-300 mg/dia, divididos em 3 ou 4 doses), precocemente, em pacientes com choque séptico (e não em pacientes com sepse ou sepse grave), por períodos mais prolongados, obtendo resultados positivos sobretudo no perfil hemodinâmico dos pacientes.

Apesar da evolução no conhecimento do funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise- adrenal nos últimos 15 anos, a identificação do paciente portador de IAR permanece controversa.

Neste artigo revisamos a literatura no sentido de embasar o diagnóstico de insuficiência adrenal em pacientes críticos, em especial a chamada insuficiência adrenal relativa. A partir desta discussão são abordadas também as indicações de corticoterapia em pacientes com sepse.

FISIOPATOLOGIA DA INSUFICIÊNCIA ADRENAL NO PACIENTE CRÍTICO

Em situações de estresse a reação fisiológica adequada é a ativação do eixo hipotálamo- hipófise- adrenal (HHA). Sepse é um dos estímulos mais potentes para ativação deste eixo, sendo observada elevação dos níveis de CRH (*cortisol releasing hormone*, Hormônio Liberador de Corticotrofina), ACTH (*adrenocorticothrophic hormone*, hormônio adrenocorticotrófico ou corticotrofina), AVP (*arginine vasopressine*, hormônio antidiurético ou vasopressina) e cortisol em pacientes agudamente e criticamente enfermos. A incapacidade de incremento destes hormônios em situações agudas de estresse se relaciona com maior morbimortalidade **(6-8)**.

Similarmente em pacientes críticos em fase aguda há incremento da produção de mineralocorticóides, e embora renina e angiotensina tenham mais forte influencia sobre

a produção de aldosterona, também a incapacidade de incremento desta se relaciona com maior morbimortalidade (9).

Estas descobertas foram fundamentais para a compreensão que a incapacidade de incremento da atividade adrenal em situações ameaçadoras da vida é uma disfunção no cenário de doença crítica. A liberação do cortisol é a etapa final do processo de ativação do eixo HHA. Em portadores de choque séptico (sepse causando hipoperfusão tecidual que não é revertida por adequada ressuscitação volêmica) é esperado que o hipotálamo aumente a produção de CRH.

O CRH, através de estimulação do sistema simpático causa liberação de catecolaminas, adrenalina e noradrenalina, provocando vasoconstrição e inotropismo positivo. CRH é também responsável por estimulação da hipófise posterior, levando a liberação de AVP e conseqüente retenção hídrica e vasoconstrição. Retenção hídrica deve-se à ação da AVP sobre receptores V2 presentes em ductos coletores e conseqüente reabsorção de água livre. A ação da AVP sobre receptores V1, presentes em musculatura lisa vascular causa também vasoconstrição.

Principalmente o CRH, mas também AVP, são importantes estímulos para liberação de ACTH pela adenohipófise. O ACTH, atuando sobre a glândula adrenal é o principal estímulo a liberação de glicocorticóides, sendo o cortisol o principal glicocorticóide em humanos.

Embora o cortisol mantenha-se elevado durante toda a vigência de patologia crítica, hipotálamo e hipófise apresentam comportamentos diversos no paciente agudamente criticamente enfermo e no paciente cronicamente agudamente enfermo.

No paciente agudamente criticamente enfermo (até aproximadamente 7 dias da patologia ameaçadora de vida) há elevação no nível sérico destes hormônios. Este fenômeno é compreendido como estímulo de rotas que induzem catabolismo visando maior aporte energético na fase aguda de enfermidade crítica.

No paciente cronicamente enfermo, embora permaneçam elevados os níveis de cortisol, há diminuição dos níveis de CRH, AVP e ACTH. Muitos autores interpretam este fenômeno como exaustão hipotálamo-hipofisária decorrente da enfermidade crítica, a interpretando como manifestação de disfunção endocrinológica do paciente crítico. Outros, porém, rejeitam a hipótese de caracterizar este fenômeno como disfunção e sugerem que esteja ocorrendo um mecanismo adaptativo que objetivaria diminuir catabolismo.

A permanência de níveis de cortisol sérico elevados mesmo após diminuição de níveis séricos de ACTH parece ser mediada por rotas não-ACTH dependentes, como interleucinas, fator de necrose tumoral (FNT), endotelina, peptídeo natriurético atrial **(10)**.

O cortisol possui várias funções essenciais para manutenção da vida em situações de estresse. A incapacidade de incrementar sua produção e liberação se relaciona com maior morbidade e mortalidade. A síntese adrenal de cortisol pode ser afetada por várias intervenções em terapia intensiva, como o uso da droga vasopressora dopamina, do antifúngico cetoconazol ou do anestésico etomidato.

A meia vida do cortisol é de 60-120 minutos e sua eliminação ocorre principalmente por metabolização hepática e também filtração glomerular. Normalmente o cortisol é secretado em pulsos, com picos matinais, entretanto no paciente crítico o cortisol sérico permanece constantemente elevado, perdendo a ciclicidade circadiana. Cabe salientar ainda que a elevação nos níveis de cortisolémia se relaciona com a gravidade da sepse.

Entre as ações atribuídas ao cortisol devemos destacar modulação do processo inflamatório, estimulação sobre liberação e atuação de catecolaminas (derivando efeito vasopressor indireto) e ações no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos.

O cortisol é derivado do colesterol, que tem seu aporte intracelular limitado pelo receptor de HDL (*high density lipoprotein*). Aproximadamente 90% do cortisol circula ligado a proteínas, principalmente CBG (*cortisol binding- globulin*, globulina ligadora do cortisol) mas também à albumina.. Em situações de estresse observa-se diminuição das concentrações de CBG e albumina, aumentando portanto a fração livre (metabolicamente ativa) do cortisol.

De forma semelhante às proteínas ligadoras, observou-se que no paciente séptico, HDL decaí suas concentrações séricas cerca de 50% nos três primeiros dias do processo infeccioso, retomando seus valores iniciais em cerca de 4 semanas.

Pesquisas recentes têm avaliado o papel das enzimas 11 *B*- hidroxisteroide dehidrogenase (11*B*- HSD), as quais regulam a relação entre cortisol (forma ativa) e cortisona (forma inativa). Dados experimentais bem como em humanos sugerem que no choque séptico, via mediadores inflamatórios como FNT e ILs, ocorre ativação da isoenzima 11*B*- HSD1, aumentando a disponibilidade de cortisol **(11, 12)**.

MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

Cortisol Basal e Livre

Em decorrência de que a resposta fisiológica esperada em situação de estresse é a ativação do eixo HHA, com conseqüente elevação do cortisol, a primeira abordagem proposta para diagnosticar IAR foi aferir a cortisolemia total randômica, sem uso de testes de estímulo adrenal, pois a condição de patologia aguda e crítica já seria um estímulo suficientemente capaz de elevar o cortisol.

Em pacientes não submetidos a condição aguda de estresse, valores de cortisol total superiores a 18 µg/dL apresentam alto valor preditivo negativo para insuficiência adrenal. No paciente crítico o uso deste ponto de corte se mostrou inadequado **(13)** pois estudos evidenciaram níveis muito superiores a este em pacientes críticos sem evidência de disfunção adrenal.

Alguns estudos observacionais relatam que em situações como choque séptico, pós-operatório e trauma, ocorrem comumente níveis de cortisol superiores a 25 µg/dL **(14)** sugerindo este ponto de corte para diagnóstico de insuficiência adrenal em pacientes críticos.

Entretanto diversos autores criticam a adoção deste valor como diagnóstico de IAR. Um artigo importante, publicado em 2000, que tinha como objetivo aferir variáveis relacionadas com mortalidade em pacientes críticos, resultou em sensibilidade de apenas 0,55 e especificidade de apenas 0,58 para cortisolemia basal ≥ 26 µg/dL, ainda que este fosse o valor mais próximo do ponto de intersecção da curva ROC **(15)**. Neste mesmo trabalho, a variação da cortisolemia ≤ 9 µg/dL ($\Delta \leq 9$ µg/dL) pós teste de cortrosina com 250 µg apresentou sensibilidade de 0,68 e especificidade de 0,65, mostrando-se portanto mais acurada que a cortisolemia basal na relação com mortalidade hospitalar. Esta observação fundamentou ensaios posteriores que passaram a usar este critério ($\Delta \leq 9$ µg/dL após estímulo com 250 µg de cortrosina) para definir que pacientes receberiam corticoterapia.

A evidência acumulada na última década nos permite ter como consensual a afirmação que valores muito baixos de cortisolemia basal em pacientes sob estresse indicam IAR, bem como valores muito elevados excluem IAR. O que não é de forma alguma consensual é que valores seriam estes. A maioria dos autores aceita como valores indicativos de IAR, cortisolemia inferior a 10 a 15 µg/dL e valores superiores a

34-44 µg/dL como excludentes de IAR. Entretanto não há na literatura ensaios controlados cuja adoção de valores de cortisolemia basal para indicação de corticoterapia resultou em melhora de sobrevida nesta população.

Como descrito anteriormente cerca de 80 - 90% do cortisol total circulante encontra-se ligado a proteínas plasmáticas (albumina e CBG) e apenas 10 - 20% na forma livre. Alguns fenômenos peculiares ao paciente crítico levantaram ainda mais dúvidas a respeito da confiabilidade e aplicabilidade do uso de cortisol total basal como critério diagnóstico de IAR.

No paciente crítico também observamos, agudamente, hipoalbuminemia, decorrente do desvio da síntese protéica para proteínas de fase aguda. Diversos autores afirmam que este fenômeno altera ou mesmo invalida a utilização da cortisolemia total neste cenário clínico **(16, 17)**.

Com base nisto foram conduzidos estudos que aferiram a cortisolemia livre, ao invés de cortisolemia total, em pacientes críticos, tanto em condições basais como após testes de estímulo. O nível sérico de cortisol livre pode ser medido diretamente ou inferido através da relação entre cortisolemia total e CBG, embora este cálculo apresente alguma imprecisão por desconsiderar o efeito da hipoalbuminemia.

Devemos salientar que não há nível sérico de cortisol livre adequadamente testado que defina diagnóstico de IAR. Estudo publicado em 2004 **(18)** sugeriu cortisol basal livre < 2,0 µg/dL ou < 3,1 µg/dL após teste com cortrosina, e esse valor tem sido aceito como referência, mas são necessários estudos que relacionem níveis de cortisol livre, basal ou pós-estímulo, com mortalidade em pacientes críticos – a fim de caracterizar disfunção adrenal- ou com melhora em desfechos significativos quando corticoterapia for guiada por este critério.

Este mesmo estudo **(18)** demonstrou que em pacientes críticos hipoalbuminêmicos (albumina < 2,5 g/dL) tanto cortisol total basal quanto sua variação após testes de estímulo apresentam níveis inferiores aos pacientes normoalbuminêmicos. Esta diferença faz com que sejam classificados como portadores de IAR pacientes sem disfunção adrenal, uma vez que os níveis de cortisolemia livre basal bem como o incremento da fração livre após testes de estímulo não dependam dos níveis de proteína circulante.

A medição do cortisol livre bem como de CBG são técnicas indisponíveis na maioria dos laboratórios, portanto ainda que a aferição de cortisol livre em substituição a cortisol total seja fisiologicamente racional, sua aplicabilidade atualmente é bastante

restrita. Além disto entendemos que mais estudos são necessários para validar valores de cortisol livre que diferenciem resposta fisiológica ao estresse bem como que indiquem que pacientes se beneficiam de corticoterapia, a exemplo do conhecimento que vem sendo construído com a aferição de cortisol total.

Teste de Estímulo com Cortrosina- 1 micrograma (Baixa Dose)

O emprego de cortrosina, análogo sintético do ACTH, como teste de estímulo ao cortisol é relativamente validado e amplamente empregado no diagnóstico de Insuficiência Adrenal em pacientes não críticos, especialmente no diagnóstico diferencial entre insuficiência adrenal primária e secundária (19, 20). Poucos estudos, entretanto, utilizaram esta dose de cortrosina para identificar insuficiência adrenal em pacientes críticos.

Teoricamente este teste oferece uma série de vantagens sobre o teste de 250 ug de cortrosina, mas estas devem ser ainda testadas. Entre elas está o fato desta dose de cortrosina- 1 ug- simular níveis de ACTH semelhantes àqueles observados no choque séptico (aproximadamente 100 pg/ml) (21) e ser capaz de aferir a integridade do eixo HHA, contrariamente ao teste de 250 ug, que simula níveis extremamente elevados de ACTH, estimulando diretamente adrenais.

Um dos primeiros estudos a descrever o emprego do teste de 1 ug de cortrosina em pacientes críticos, em 1999, observou que pacientes “não-respondedores” elevavam a pressão arterial após emprego de hidrocortisona (22)

Geralmente os estudos adotam $\Delta < 9 \mu\text{g/dL}$ para definir os pacientes não-respondedores ao teste de 1 μg . Ao contrário do que acontece com o teste de 250 μg , esta variação foi arbitrariamente definida como ponto de corte. Estudo publicado em 2005 identificou $\Delta = 10,5 \mu\text{g/dL}$ como ponto de melhor acurácia para identificação de IAR (sensibilidade= 0,68, especificidade= 0,64, tendo o teste de 250 μg como padrão ouro). Um achado interessante deste estudo foi a identificação de um subgrupo de pacientes classificados como não respondedores ao teste de 1 ug, mas classificados como respondedores no teste de 250 μg , que apresentou pior desfecho, sugerindo que o teste de 1 ug seja capaz de identificar pacientes com disfunção adrenal relacionada a doença crítica que não são identificados no teste de 250 μg . (23). No momento em nosso centro estamos desenvolvendo estudo comparando os teste de cortrosina na dose de 250 e 1 μg . Resultados parciais, apresentados preliminarmente em eventos e

congressos, demonstraram que o pico de cortisol ocorre invariavelmente no tempo 30' após teste de 1 µg, enquanto o pico pós-teste de 250 µg geralmente ocorre após 60 minutos da infusão de cortrosina. Nossa amostra evidencia também que a variação da cortisolemia após 1 µg de cortrosina é menor que a variação no mesmo paciente após infusão de 250 µg, explicando a maior sensibilidade diagnóstica atribuída ao teste de 1 µg (23, 24).

A popularização do teste de 250 µg de cortrosina como teste diagnóstico de escolha para identificação de IAR deveu-se a estudos que associaram a resposta a este teste o pior prognóstico em pacientes críticos e usaram o resultado do teste para identificar que pacientes em choque séptico deveriam receber corticoterapia. Embora a decisão quanto ao emprego de corticoterapia hoje esteja dissociada da resposta ao teste da cortrosina, nos parece que a adoção do teste de 1 µg para diagnóstico de IAR somente poderá ser defendida após maiores estudos mostrarem ser este teste capaz de identificar pacientes críticos com resposta adrenal inapropriada ao estresse.

Teste de Estímulo com Cortrosina 250 microgramas (Alta Dose)

Uma das primeiras referências ao teste de cortrosina com emprego de 250 µg em pacientes críticos data de 1991 (25). Apesar do pequeno número de pacientes, os autores observaram que nos pacientes críticos com $\Delta \leq 9$ µg/dL a mortalidade foi de 100% (13 pacientes) enquanto a mortalidade daqueles pacientes com $\Delta > 9$ µg/dL foi de 30% (6/19), sugerindo pela primeira vez que este teste é capaz de identificar pacientes portadores de disfunção adrenal.

Somente no ano de 2000 é publicado um estudo que embasa mais fortemente a hipótese levantada naquele estudo prévio (15). Este estudo tinha como objetivo identificar fatores relacionados com mortalidade em pacientes críticos. Neste estudo o teste de cortrosina mostrou maior capacidade de identificar mortalidade em pacientes críticos, sendo a partir deste momento usado para identificar disfunção adrenal. Devemos lembrar que até este momento era tema de discussão se variações da cortisolemia representavam disfunção ou resposta fisiológica. A associação de níveis de cortisol basal e variação desta após teste de cortrosina com maior mortalidade foram resultados fundamentais para aceitação no meio médico que alguns pacientes apresentam disfunção adrenal que pode corroborar para desfechos indesejados em pacientes críticos. Neste estudo a variação do cortisol apresentou área sob a curva ROC

de 0,68, sendo $\Delta = 9 \mu\text{g/dL}$ o ponto de maior acurácia, com sensibilidade de 0,68 e especificidade de 0,65. Embora estes sejam valores de acurácia intermediária, foram estas as variáveis relacionadas a função adrenal com maior associação com morbimortalidade em pacientes críticos.

O resultado acima mencionado levou este mesmo grupo a publicação do ensaio que fez ressurgir o uso de esteróides em choque séptico. Em 2002 Annane *et al* publicam **(26)** ensaio clínico realizado em 19 UTIs da França, que alocou 299 pacientes de forma randômica, com cegamento dos participantes. Os pacientes alocados recebiam hidrocortisona (50 mg, EV, 6/6 h) + fludocortisona (500 μg , VO, 1 x dia) ou placebo, sendo a terapia descontinuada naqueles pacientes com $\Delta > 9 \mu\text{g/dL}$ após teste de cortrosina. Os pacientes com $\Delta \leq 9 \mu\text{g/dL}$ recebiam o tratamento por 7 dias. Este estudo mostrou redução de mortalidade em 28 dias nos pacientes não-respondedores, após ajuste de diversas variáveis: 63% no grupo placebo contra 53% no grupo da hidrocortisona. Houve também menor tempo de necessidade de vasopressor no grupo que usou esteróides.

A partir desta publicação, os centros de referência passaram a usar a resposta ao teste de cortrosina com 250 $\mu\text{g/dL}$ para indicar ou suspender corticoterapia em pacientes com choque séptico. Devemos lembrar que diferentemente da conduta adotada até a década de 1990, onde esteróides eram usados em altas doses (visando imunossupressão), em pacientes portadores de sepse, tardiamente no curso da patologia, a conduta adotada atualmente limita o uso de hidrocortisona em doses menores (200-300 mg/dia, divididos em 3-4 doses ou em infusão contínua), em pacientes com choque séptico em uso de droga vasoativa, precocemente no curso da doença.

Neste período surgiram muitas dúvidas e críticas ao emprego do teste de 250 μg de cortrosina. Como já mencionado, a alta dose empregada de cortrosina não simula uma situação semelhante a observada no choque séptico, gerando o receio que respondedores ao teste possam ser incapazes de incrementar a cortisolemia, perante estímulo menos vigoroso, o que pode prejudicar a sensibilidade do teste. Embora poucos estudos comparem testes de estímulo adrenal, estes estudos concordam que o teste de 250 μg apresenta alta especificidade e baixa sensibilidade quando comparado com os demais testes **(24, 27)**.

Também deve ser observado que o teste de 250 μg de cortrosina testa a capacidade da adrenal de aumentar a produção de cortisol em resposta a alta dose de cortrosina não servindo para aferir a resposta adrenal a outros estímulos, como choque

ou hipoglicemia. Esta dose estimula diretamente a glândula adrenal, não testando portanto a integridade do funcionamento do eixo HHA, não diagnosticando portanto pacientes que apresentam insuficiência adrenal de origem central.

Embora estas críticas sejam feitas à forma como o resultado do teste é atualmente interpretado, este é o teste de estímulo adrenal com maior experiência em pacientes críticos e aquele que mostrou até o momento mais fortemente se relacionar com desfecho nestes pacientes, embora o consenso atual é de que a decisão de corticoterapia no paciente crítico não esteja vinculada ao resultado do teste

Teste da Metirapona

Através da inibição da atividade da enzima 11-*B*- hidroxilase, a metirapona impede a conversão de 11- deoxicortisol à cortisol. Como resposta ao teste de metirapona observamos rápido decréscimo no nível sérico de cortisol e elevação dos níveis séricos de 11- deoxicortisol e ACTH.

Até recentemente não havia estudos com metirapona para avaliar IAR. Isto deveu-se ao receio de seu emprego em pacientes críticos, uma vez que a síntese de cortisol fica bloqueada mesmo em pacientes sem disfunção adrenal.

Entretanto *Annane et al (27)* publicam, em 2006, estudo empregando metirapona para avaliar IAR, usando este teste como padrão de referência. Neste estudo a combinação de cortisol total basal $< 10 \mu\text{g/dL}$ ou variação $> 9 \mu\text{g/dL}$ de cortisolemia pós-teste de 250 μg de cortrosina foi o melhor preditor de IAR. Todos os pacientes receberam corticóide nas 24 horas que se seguiram ao teste.

Embora o teste da metirapona seja considerado teste de referência para diagnóstico de insuficiência adrenal em pacientes não-críticos, acreditamos que é necessária maior experiência com seu emprego em pacientes críticos, para que sejam feitas recomendações a respeito do diagnóstico de IAR. A pouca disponibilidade de metirapona em diversas partes do mundo pode tornar difícil a realização de ensaios que avaliem seu papel em pacientes críticos, bem como seu emprego posterior de forma disseminada.

Cortisol Salivar

A aferição de cortisol através da saliva oferece a vantagem de prescindirmos da punção e coleta sanguínea. Contrariamente aos níveis séricos, o cortisol na saliva encontra-se predominantemente – cerca de 85%- na forma livre e se relaciona fielmente com a cortisolemia livre. Elevações em níveis séricos de cortisol geram, dentro de 2-3 minutos, elevações nos níveis salivares de cortisol.

A maior disponibilidade de realização da aferição do cortisol salivar que da aferição de cortisolemia livre tornam este um método atrativo para a medida do cortisol livre. Entretanto deve ser observado que a coleta de saliva em paciente crítico não foi padronizada e é menos exequível que no paciente ambulatorial. A incapacidade do paciente crítico, por coma, ventilação mecânica, etc, em colaborar com a coleta da saliva geralmente torna esta mais trabalhosa e mais sujeita a viéses que a coleta sanguínea. Além disso, anemia, sangramentos em cavidade oral, candidíase oral e o uso de clorexidine para higiene oral (todas situações comuns em terapia intensiva) interferem no método, limitando a população em UTIs no qual o teste pode ser realizado.

Quando testado em pacientes críticos, o cortisol salivar mostrou relação forte com cortisolemia livre (28). Apesar disto são necessários mais estudos para validar níveis de cortisol salivar que definam IAR.

Hipoglicemia Insulínica

A hipoglicemia é um dos estímulos mais potentes para ativação do eixo HHA, sendo, juntamente com o teste da metirapona, considerados os exames diagnósticos de escolha em pacientes não críticos. Entretanto a indução de hipoglicemia é considerada atualmente irreprodutível no ambiente de terapia intensiva. Primeiramente por haver receio de se induzir hipoglicemia em paciente que se encontra instável, mas sobretudo porque o controle glicêmico tornou-se uma medida no cuidado de pacientes críticos nos últimos anos.

Desta forma, até o momento, não há estudos que avaliem este teste em pacientes críticos para o diagnóstico de IAR e é pouco provável que sejam aprovadas pesquisas neste sentido sendo ainda mais improvável sua reprodutibilidade em terapia intensiva.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES

Conforme exposto anteriormente, não há consenso sobre as estratégias diagnósticas da IAR em pacientes críticos. Hipoglicemia insulínica, embora seja um teste acurado, é impraticável nestes pacientes. O teste da metirapona carece até o momento de maior experiência em pacientes críticos e a pouca disponibilidade da metirapona torna pouco provável que venha a ser um teste rotineira e difusamente empregado.

Embora a aferição de cortisolemia livre pareça mais fidedigna e promissora, até o momento seu emprego está restrito a poucos centros de pesquisa, não sendo universalmente defensável que o critério de IAR se fundamente neste exame. A inferência da cortisolemia sérica pode ser feita a partir do cortisol salivar. Embora esta técnica seja promissora, para gerar recomendações a partir da mesma são necessárias tanto a padronização da técnica em ambiente de UTI quanto uma maior experiência em terapia intensiva.

Apesar de mostrar alguns vieses, sobretudo em pacientes hipoalbuminêmicos, a aferição do cortisol sérico total segue sendo o método mais corriqueiro para o diagnóstico de IAR, seja pela valorização do seu nível basal, seja pela resposta ao teste de cortrosina em alta dose.

Recente publicação apresenta uma definição consensual de importantes pesquisadores do tema **(29)**. Neste artigo os autores sugerem que IAR seja diagnosticada na presença de delta de cortisol $< 9 \mu\text{g/dL}$ (após teste de $250 \mu\text{g}$ de cortrosina) ou cortisol basal $< 10 \mu\text{g/dL}$. A partir desta publicação, muitas críticas e questionamentos têm sido feitos a respeito destas definições **(30, 31)**.

Quanto ao delta de cortisol $< 9 \mu\text{g/dL}$ pós-teste, concordamos que haja na literatura evidência suficiente para relacionar este dado com disfunção adrenal em pacientes críticos. Entretanto entendemos que este dado somente pode ser valorizado quando o cortisol basal for baixo. Não acreditamos haver embasamento suficiente para caracterizar disfunção adrenal por um delta pequeno após este estímulo, se o paciente for capaz de incrementar o cortisol basal em decorrência da situação crítica à qual está exposto.

Quanto ao cortisol basal, concordamos que valores “baixos” são evidência de IAR, entretanto o valor de $10 \mu\text{g/dL}$ é valor de alta especificidade e baixa sensibilidade. Alguns autores, como nós, propõem que IAR seja diagnosticada quando cortisol basal

for inadequadamente baixo ($< 10 \mu\text{g/dL}$) e que IAR seja excluída quando cortisol basal for alto ($> 34- 44 \mu\text{g/dL}$) **(32)**. Nos pacientes cujo cortisol basal encontra-se neste intervalo (entre 10 e 34 $\mu\text{g/dL}$), acreditamos que o teste de cortrosina em alta dose possa ser útil na definição de disfunção adrenal, ou seja, neste grupo de pacientes podemos utilizar $\Delta < 9 \mu\text{g/dL}$ para definir IAR, como exposto na figura 1.

Embora o foco desta revisão seja o papel dos testes no diagnóstico de IAR, gostaríamos de salientar que recentemente têm se dissociado a definição de IAR da decisão pela corticoterapia em pacientes com choque séptico. Há dúvida quanto a capacidade do teste de cortrosina em identificar pacientes que se beneficiem de corticoterapia em choque séptico. Portanto, atualmente a conduta preconizada é o uso de hidrocortisona em pacientes em choque séptico independente da cortisolemia basal ou resposta ao teste de cortrosina.

Diversos textos concordam que corticoterapia no paciente em choque séptico diminui necessidade de droga vasopressora. Quanto ao efeito sobre mortalidade há divergência **(33, 34, 35)**, entretanto a maioria dos autores, bem como algumas diretrizes **(36)** indicam o uso de hidrocortisona na dose de 200- 300 mg por dia em pacientes com choque séptico com pobre resposta a ressuscitação volêmica e com necessidade de vasopressor. Estas diretrizes recomendam também que hidrocortisona seja usada dividida em 2 ou 3 doses diárias ou em infusão contínua e que sua retirada seja gradual.

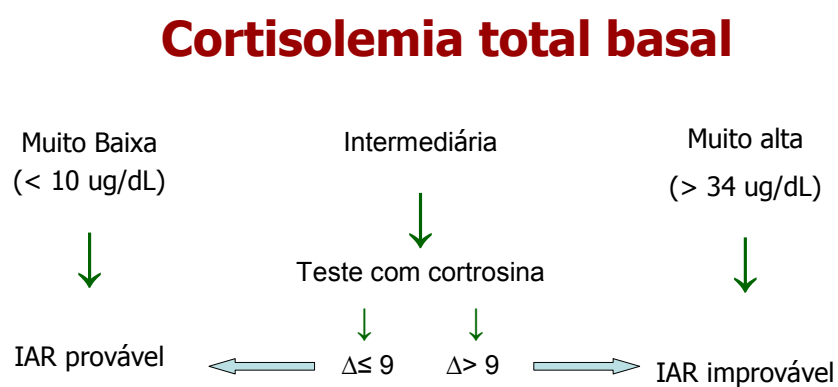
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Scott, WJM; The Influence of the adrenal glands on resistance. *J Exp Méd* 1924. 39, 427
2. Hinshaw LB, Coalson JJ, Benjamin BA, Archer LT, Beller BK, Kling OR. Escherichia coli shock in the baboon and the response to adrenocorticosteroid treatment. *Surg Gynecol Obstet* 1978. 147:545-57.
3. Lefering R, Neugebauer EA. Steroid controversy in sepsis and septic shock: a meta-analysis. *Crit Care Med* 1995. 23:1294-303
4. Cronin L, Cook DJ, Carlet J, Heyland DK, King D, Lansang MA. Corticosteroid treatment for sepsis: a critical appraisal and meta-analysis of the literature. *Crit Care Med* 1995. 23:1430-9.
5. Zeni F, Freeman B, Natanson C. Anti-inflammatory therapies to treat sepsis and septic shock: a reassessment. *Crit Care Med* 1997. 25:1095-100.
6. Sakharova OV, Inzucchi SE. Endocrine Assessments During Critical Illness. *Crit Care Clin* 2007. 23, 467–490
7. E. Fliers. The hypothalamic-pituitary-thyroid axis in critical illness. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology and Metabolism* 2001.15. 4, 453-464.
8. Nylen ES, Muller B. Endocrine Changes in Critical Illness. *Intensive Care Med* 2004.19:67-82.
9. Zipser RD; Davenport MW; Martin KL: Hyperreninemic hypoaldosteronism in critically ill: a new entity. *JCEM* 1981; 53: 867-73.
10. Beshuizen A, Thijs LG. Relative adrenal failure in intensive care: an identifiable problem requiring treatment? *Best Practice & Research Clinical Endocrinology and Metabolism* 2001. 15, 4. 513-531.
11. Vogeser M; Zachoval R; Felbinger TW; Jacob K. Increased ratio of serum cortisol to cortisone in acute phase response. *Horm Research* 2002. 58: 172-75.
12. Venkatesh B, Cohen J, Hickman I, Nisbet J, Thomas P, Ward G, Hall J, Prins J. Evidence of altered cortisol metabolism in critically ill patient: a prospective study. *Intensive Care Medicine* 2007. 33: 1746-53.
13. Streeten DHP: What test for hypothalamic-pituitary adrenocortical insufficiency? *Lancet* 1999; 354:179 –180.
14. Zaloga GP; Marik, P: Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Insufficiency: *Critical Care Clinics* 2001. 17, 1, 25-41.

15. Annane D; Sébille V; Troché, G. A 3 level prognostic classification in septic shock based on cortisol levels and cortisol response to corticotropin. *JAMA* 2000. 283(8): 1038-1045
16. LE Roux, CW Chapman, GA Kong, WM Dhillon, WS Jones, Alaghband-Zadeh J. Free Cortisol Index Is Better Than Serum Total Cortisol in Determining Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Status in Patients Undergoing Surgery. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2003. 88(5):2045–2048.
17. Thijs A. Vermes LG. Patterns of CBG and free cortisol index during septic shock and multitrauma. *Int Care Medicine* 2001. 27: 1584-91.
18. Hamrahian AH, Oseni TS, Arafah BM. Measurements of Serum Free Cortisol in Critically Ill Patients. *N Engl J Med* 2004.350:1629-38.
19. Alaniz C, Arbor A, Hyzy R. Diagnosing adrenal insufficiency. *Crit Care Med* 2008.36(12):3281-3282 .
20. Dickstein G, Saiegh L. Low-dose and high-dose adrenocorticotropin testing: indications and shortcomings. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2008. 15(3):244-9.
21. Dickstein G, Arad E, Shechner C. Low-dose ACTH stimulation test. *Endocrinologist* 1997.7:285-293
22. Beishuizen A; Vermes I; Hylkema BS; Haanen C. Relative eosinophilia and functional adrenal insufficiency in critical ill patients. *Lancet* 1999. 353:1675–1676.
23. Siraux V, De Backer D, Yalavatti G, Mélot C, Gervy C, Mockel J, Vincent JL. Relative adrenal insufficiency in patients with septic shock: Comparison of low-dose and conventional corticotropin tests. *Crit Care Med* 2005. 33, 11; 2479- 2486.
24. Marik PE; Zaloga GP. Adrenal insufficiency during septic shock. *Crit Care Med* 2003. 31; 1: 141- 145.
25. Rothwell PM, Udawadia ZF, Lawler PG. Cortisol response to corticotropin and survival in septic shock. *Lancet* 1991. 337:582–583.
26. Annane D; Sébille V; Charpentier C; Bollaert BE; François B; Korach JM; Capellier G; Cohen Y; Azoulay E; Troché G; Riffaut P; Bellissant E. Effect of Treatment With Low Doses of Hydrocortisone and Fludrocortisone on Mortality in Patients With Septic Shock. *JAMA* 2002. 288(7); 862-71.
27. Annane D. Maxime V. Ibrahim F. Alvarez JC. Abe E. Boudou P. Diagnosis of Adrenal Insufficiency in Severe Sepsis and Septic Shock. *Am J Respir Crit Care Med* 2006. 174.1319–1326.

28. Arafah BM, Nishiyama FJ, Tlaygeh H, Hejal R. Measurement of Salivary Cortisol Concentration in the Assessment of Adrenal Function in Critically Ill Subjects: A Surrogate Marker of the Circulating Free Cortisol. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2007. 92(8):2965–2971.
29. Marik PE, Pastores SM, Annane D, Meduri GU, Sprung CL, Arlt W, Keh D, Briegel J, Beishuizen A, Dimopoulou I, Tsagarakis S, Singer M, Chrousos GP, Zaloga G, Bokhari F, Vogeser M. Recommendations for the diagnosis and management of corticosteroid insufficiency in critically ill adult patients: Consensus statements from an international task force by the American College of Critical Care Medicine. *Crit Care Med* 2008. 36:1937–1949.
30. Alaniz Cesar; Arbor Ann; Hyzy Robert. Diagnosing adrenal insufficiency. *Crit Care Med* 2008. 36.12. 3281-3282.
31. Moraes RB, Czepielewski MA, Friedman G. Is the cortrosyn test necessary in high basal corticoid patients with septic shock? *Crit Care Med* 2009. 37,1: 385-387.
32. Richardson L, Hunter S. Is steroid therapy ever of benefit to patients in the intensive care unit going into septic shock. *Interact CardioVasc Thorac Surg* 2008;7:898-905.
33. Marik PE. Critical Illness-Related Corticosteroid Insufficiency. *CHEST* 2009. 135:181–193.
34. Máxime V, Lesur O, Annane D. Adrenal Insufficiency in Septic Shock. *Clin Chest Med* 2009.30 17–27.
35. Annane D, Bellissant E, Bollaert PE, Briegel J, Confalonieri M, De Gaudio R, Keh D, Kupfer Y, Oppert M, Meduri GU. Corticosteroids in the treatment of severe sepsis and septic shock in adults: a systematic review. *JAMA* 2009.301(22):2362-2375.
36. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R, Reinhart K, Angus DC, Brun-Buisson C, Beale R, Calandra T, Dhainaut JF, Gerlach H, Harvey M, Marini JJ, Marshall J, Ranieri M, Ramsay G, Sevransky J, Thompson BT, Townsend S, Vender JS, Zimmerman JL, Vincent JL. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Crit CareMed*.2008Jan;36(1):296-327.

Figura 1: Fluxograma sugerido para o diagnóstico da insuficiência adrenal em pacientes críticos



ARTIGO ORIGINAL EM LÍNGUA PORTUGUESA

COMPARAÇÃO DOS TESTES DE ESTÍMULO COM BAIXA E ALTA DOSE DE CORTROSINA PARA O DIAGNÓSTICO DE INSUFICIÊNCIA ADRENAL EM PACIENTES COM CHOQUE SÉPTICO

RESUMO

Introdução

Perante situações de estresse, como choque séptico, deve haver ativação do sistema hipotálamo- hipófise- adrenal. Alguns pacientes não apresentam esta resposta. A esta condição atribui-se o termo insuficiência adrenal relativa. Apesar do seu reconhecimento há quase duas décadas ainda não há na literatura critérios diagnósticos definidos. O teste de cortrosina em alta dose (250 µg) é atualmente a principal ferramenta para o diagnóstico desta condição. Pouca é a experiência com o teste de cortrosina em baixa dose (1 µg) em pacientes críticos, embora este tenha se mostrado superior ao teste de alta dose em pacientes não críticos. Conduzimos este estudo com objetivo de aferir o desempenho do teste de cortrosina em baixa dose em pacientes críticos.

Materiais e métodos

Prospectivamente alocamos 74 portadores de choque séptico que realizaram sequencialmente os testes de cortrosina em baixa e alta dose, com intervalo de 4 horas e avaliamos a variação de cortisolemia induzida pelos testes, bem como sua relação com mortalidade e tempo de choque.

Resultados

A variação de cortisolemia induzida pelos testes apresentou relação regular quando avaliada toda população ($r_s = 0,55$; IC 0,37-0,69). Esta correlação permanece apenas regular em pacientes com cortisol basal elevado ($CB > 34 \mu\text{g/dL}$, $r_s = 0,45$; IC 0,04-0,70) e torna-se forte quando avaliamos o subgrupo de pacientes com cortisol basal intermediário ($CB 10-34 \mu\text{g/dL}$, $r_s = 0,67$; IC 0,49-0,8). O desempenho de ambos testes foi semelhante em prever mortalidade e tempo de choque.

Conclusões

Os testes de cortrosina em alta e baixa dose apresentam forte correlação em pacientes com choque séptico com cortisolemia basal intermediária (CB 10-34 µg/dL). Ambos testes são equivalentes na identificação de sobreviventes e tempo e choque. Estes dados sugerem que ambos testes podem ser usados para identificar insuficiência adrenal no paciente crítico.

Descritores: insuficiência adrenal, insuficiência adrenal relativa, choque séptico, cortrosina, análise de incidência cumulativa

INTRODUÇÃO

Perante situações de estresse, como choque séptico, há ativação do eixo hipotálmo- hipófise- adrenal (HHA), com elevação marcada nos níveis de CRH (*corticotropin releasing hormone*), ACTH (*adrenorticotropic hormone*) e cortisolemia. Nestas situações o cortisol é responsável por ações como gliconeogênese, efeitos antiinflamatórios, manutenção de tônus vascular, integridade endotelial, aumento de sensibilidade e estímulo a síntese de vasopressores e modulação de síntese de angiotensinogênio**(1)**. Estas funções visam ofertar estabilidade hemodinâmica e combater o processo de SRIS em instalação. Um subgrupo de pacientes mostra-se incapaz de incrementar a produção de cortisol quando submetidos a estresse. Estes pacientes apresentam pior prognóstico e esta observação levou à caracterização do termo insuficiência adrenal relativa (IAR) **(2)** e mais atualmente CIRCI (*critical illness-related corticosteroid insufficiency*) **(3)**.

Apesar do reconhecimento de CIRCI como disfunção **(4-8)**, o tratamento desta condição tem mostrado resultados divergentes em diferentes ensaios **(9-18)**. Um dos motivos que pode explicar a heterogeneidade de resposta à reposição de corticosteróides é a indefinição de que pacientes realmente apresentam CIRCI, ou seja, não há na literatura um critério diagnóstico desta síndrome que seja universalmente aceito e que indubitavelmente identifique pacientes que se beneficiem de reposição hormonal.

Em pacientes não submetidos a condições críticas, os testes de hipoglicemia insulínica e da metirapona costumam ser considerados os mais acurados para identificação de insuficiência adrenal. Em ambiente de terapia intensiva, porém, o teste de hipoglicemia insulínica é considerado impraticável, tanto pelos riscos acrescidos em paciente instável como pelo fato do controle glicêmico fazer parte do cuidado ao paciente portador de choque séptico **(19)**. O teste da metirapona até recentemente era considerado também um teste que poderia oferecer risco demasiado ao paciente crítico **(20)**, uma vez que a inibição da enzima 11 β - hidroxilase causa bloqueio da síntese de cortisol, tendo como consequência o risco de insuficiência adrenal. Apesar destes riscos, o mesmo foi utilizado em um estudo como padrão de referência para definição de CIRCI **(21)**. A pouca disponibilidade de metirapona e a escassez de mais estudos que validem seu uso em pacientes críticos torna improvável que esta metodologia seja universalmente praticada para diagnosticar IAR **(22)**.

Outra maneira proposta para identificação de portadores de CIRCI foi avaliação de níveis séricos de cortisol basal, ou seja, sem testes exógenos de estímulo, uma vez que o estresse ao qual o paciente crítico está submetido (hipotensão, sepse, etc) são potentes estimuladores da liberação de cortisol (23,24). Entretanto nenhum estudo conseguiu evidenciar um ponto de corte de cortisolemia total capaz de identificar os portadores de CIRCI ou de guiar a terapêutica. A maioria dos pesquisadores concorda que valores muito baixos ($< 10 \mu\text{g/dL}$) são bastante específicos para diagnosticar CIRCI e que valores muito altos ($> 34 \mu\text{g/dL}$) (21, 25) excluem CIRCI, restando dúvida sobre como avaliar os pacientes que apresentam cortisolemia total basal entre $10 \mu\text{g/dL}$ e $34 \mu\text{g/dL}$.

Usualmente 90% do cortisol circulante encontra-se ligado a proteínas como albumina e CBG (*cortisol binding globulin*), entretanto a patologia aguda crítica leva à hipoproteinemia e alteração da afinidade do cortisol por estas proteínas, elevando fração livre (biologicamente ativa) do hormônio, ainda que ocorra diminuição de níveis séricos totais (26, 27). Esta observação gerou a hipótese que a aferição de cortisol livre, sérico (28) ou salivar (29), seja mais acurado para identificar CIRCI que a aferição do cortisol total, como geralmente realizado. Apesar desta premissa parecer correta, estes testes não estão amplamente disponíveis, carecem de mais estudos nesta população e, assim como acontece com a análise da cortisolemia total, não devem conseguir identificar um valor que discrimine CIRCI.

Devido às dificuldades na aplicabilidade ou baixa acurácia diagnóstica dos métodos previamente descritos, o teste de estímulo com cortrosina em alta dose (AD) tornou-se o método diagnóstico mais empregado para identificação de CIRCI em adultos. A variação após estímulo com 250 μg de cortrosina inferior ou igual a $9 \mu\text{g/dL}$ ($\Delta \leq 9 \mu\text{g/dL}$) mostrou ser a variável relacionada a função adrenal com maior capacidade de diferenciar sobreviventes de não-sobreviventes em choque séptico. Este achado, porém, foi divergente em relação a capacidade de identificar pacientes que se beneficiem de corticoterapia em doses de estresse. Alguns autores criticam a escolha deste teste para definição de CIRCI, enfatizando que a dose de cortrosina utilizada é muitas vezes superior à concentração de corticotrofina observada no choque séptico, e o fato de que o teste estimula diretamente as adrenais, sem envolvimento hipotálamo-hipofisário, gerando critério diagnóstico com alta especificidade, mas baixa sensibilidade.

O teste de cortrosina empregando dose de 1 µg parece mais fisiológico, uma vez que pressupõe a existência de ativação e integridade do eixo HHA, não testando apenas a resposta das glândulas adrenais. Por estes motivos, vem sendo usado atualmente em detrimento ao teste com 250 µg de cortrosina em pacientes não críticos (30) para diagnóstico de insuficiência adrenal. Há poucos estudos que comparam os testes de cortrosina no diagnóstico de CIRCI (31-35), entretanto estes sugerem que o teste de 1 µg seja mais sensível. O pequeno número de estudos e o tipo de pacientes nos quais foi empregado o teste de 1 µg em terapia intensiva tornam, até o momento, impossível fazer recomendações a respeito do uso deste teste para diagnosticar CIRCI (20, 22).

Recente consenso (36) sugeriu como critérios diagnósticos de CIRCI, $\Delta \leq 9$ µg/dL após teste de AD ou cortisol randômico < 10 µg/dL. Diversos pesquisadores criticam estes critérios (37, 38). Os critérios propostos apresentam alta especificidade e baixa sensibilidade diagnóstica, permitindo vários resultados falsos negativos, excluindo deste conceito pacientes com disfunção adrenal. Além disto, alguns autores entendem que a cortisolemia basal deva sempre ser considerada no diagnóstico de CIRCI (21, 25, 39, 40). Estes autores sugerem que níveis baixos de cortisolemia basal (< 10 µg/dL) são diagnósticos de CIRCI e que níveis elevados (> 34 µg/dL) excluem esta condição. Conforme estes autores, entre os quais nos incluímos, os testes de estímulo provavelmente contribuirão para o diagnóstico de CIRCI naquele grupo de pacientes que apresenta cortisolemia basal intermediária, de forma análoga a forma como é diagnosticada insuficiência adrenal em pacientes não críticos.

Com o objetivo de contribuir ao diagnóstico de CIRCI, desenvolvemos este estudo prospectivo comparando os testes de 1 µg e 250 µg de cortrosina em pacientes com choque séptico, observando a variação de cortisolemia induzida pelos testes e sua relação com mortalidade e retirada de vasopressor.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA, sendo o consentimento informado autorizado por familiar do paciente. Prospectivamente, em UTI clínica-cirúrgica de hospital universitário de nível terciário, foram alocados, entre novembro de 2006 e fevereiro de 2009, 74 adultos que preenchiam critérios de choque séptico conforme definição do *American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Conference Consensus Committee* (41), em uso de droga vasoativa a

despeito de reposição volêmica adequada, internados na UTI a menos de 96 horas e em ventilação mecânica. Foram considerados critérios de exclusão: uso prévio (crônico ou agudo) de corticóide, uso de drogas que interferem no eixo HHA, como espironolactona, anticoncepcionais orais ou antifúngicos, síndrome da imunodeficiência adquirida, história prévia de insuficiência adrenal, doença do eixo HHA, gravidez, idade inferior a 18 anos e choque de outra etiologia.

O mesmo paciente foi submetido seqüencialmente ao teste de cortrosina (tétracosactide, Synacthène®, NOVARTIS, França) em baixa dose (1 µg) e alta dose (249 µg) nesta ordem, com intervalo de 4 horas entre a dose de 1 µg e 249 µg. A ampola de cortrosina (250 µg) foi diluída em 250 ml de salina, com seringa de insulina, sendo então retirado 1 ml da solução (1 µg). Após coleta de cortisol basal (CB1), realizávamos a infusão de 1 u µg de cortrosina e coleta de cortisol após 30 e 60 minutos. Quatro horas após, coletávamos novo cortisol basal (CB2), infundíamos rapidamente o restante da diluição (249 ug) e novamente coletávamos cortisol nos tempos 30 e 60 minutos. Todas as coletas e infusões foram feitas em cateter venoso central. A variação da cortisolemia (Δ cortisol) era definido pela subtração do pico de cortisolemia ao cortisol basal. A decisão sobre uso de corticóide em doses de estresse após os testes de cortrosina e demais intervenções terapêuticas ficavam a critério da equipe assistente do paciente, sem influência da equipe de pesquisa.

Foram considerados não respondedores ao teste de cortrosina em alta dose aqueles pacientes com variação de cortisol igual ou inferior a 9 µg/dL ($\Delta \leq 9$ µg/dL).

O paciente foi acompanhado até 28 dias após o teste. As seguintes variáveis eram aferidas: idade, sexo, tipo de internação (clínica ou cirúrgica), foco infeccioso, escore APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II) (42) tempo de uso de droga vasopressora e desfecho (óbito ou sobrevivente) no 28º dia. Tempo até retirada de droga vasoativa foi definido como não emprego de vasopressor por pelo menos 24 horas.

Cortisol sérico total foi aferido pelo método de quimiluminescência. (Modular E-170, Roche®)

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada através do programa SPSS 11.0 (*statistical package software*, SPSS Incorporation, Chicago, IL, USA)

As variáveis quantitativas estão apresentadas como média \pm desvio padrão. O teste χ^2 foi usado para avaliar variáveis categóricas e o teste t de Student para as variáveis contínuas paramétricas. A correlação entre variáveis contínuas foi aferida através do coeficiente de Spearman (r_s) e gráfico de Bland-Altman. A avaliação de mortalidade foi feita pela análise de Kaplan-Meier e grupos foram comparados através do teste de *log-rank*. Mortalidade também foi comparada através de curvas ROC. Retirada de droga vasoativa foi aferida através do método de análise de incidência cumulativa (45) e grupos comparados através de risco proporcional de COX para eventos concorrentes (46). Diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. No sentido de orientar o cálculo amostral, empregando intervalo de confiança de 95%, poder de 90% para teste bi-caudal, para um coeficiente de correlação estimado de 0,4 seria necessária a análise de 62 pacientes. Assim, optamos por ultrapassar este número no sentido de fortalecer os achados.

RESULTADOS

Entre os 74 pacientes alocados, 57% eram do sexo masculino e 43% do feminino. A idade média da população foi 62 ± 16 anos. APACHE médio foi $25,7 \pm 8,5$. Cinquenta e três por cento (53%) eram pacientes clínicos e 47% eram pacientes cirúrgicos. Quanto ao foco infeccioso, 46% dos casos foram identificados como sepse respiratória, 42% como foco abdominal, e 12% dos casos como outros focos. Apenas 6 pacientes (8%) não receberam hidrocortisona e esta decisão não foi embasada na cortisolemia ou testes de cortrosina. A albumina média foi $2,0 \pm 0,5$ g/d, não diferindo entre não-respondedores ou respondedores aos testes de cortrosina.

O cortisol basal antes do teste de 1 μg (CB1) foi em média $31,8 \pm 20,3$ $\mu\text{g/dL}$. O cortisol basal antes do teste de 249 μg (CB2) foi em média $30,3 \pm 18,5$ $\mu\text{g/dL}$, sendo semelhantes ($p=0,08$).

Neste estudo apenas 24% (18/74) dos pacientes apresentaram $\Delta\text{cortisolAD} \leq 9$ $\mu\text{g/dL}$, enquanto 49% (36/74) apresentaram $\Delta\text{cortisolBD} \leq 9$ $\mu\text{g/dL}$.

A variação de cortisolemia após teste de baixa dose foi em média $10,6 \pm 7,5$ $\mu\text{g/dL}$, enquanto a variação de cortisolemia pós teste de alta dose foi de $16,3 \pm 10,1$ $\mu\text{g/dL}$ ($p < 0,05$). A variação de cortisolemia induzida pelo teste foi independente da cortisolemia basal.

A relação entre Δ cortisolemia induzida pelo teste AD e BD é regular, sendo evidenciado através do índice de correlação de Spearman (r_s) = 0,55 (IC 0,37-0,69) quando avaliada toda população. Quando comparamos Δ cortisolemia na subpopulação de pacientes com CB > 34 $\mu\text{g/dL}$, a correlação diminui para r_s = 0,45 (IC 0,04-0,7). Na população que apresenta CB entre 10 $\mu\text{g/dL}$ e 34 $\mu\text{g/dL}$ (n=50) a correlação torna-se forte, r_s =0,67 (IC 0,49-0,8) (**FIGURA 1**)

O gráfico de Bland-Altman possibilita aferir a concordância entre o resultado dos testes, sobretudo na população com CB entre 10 $\mu\text{g/dL}$ e 34 $\mu\text{g/dL}$. (**FIGURA 2**)

Quando fazemos a comparação entre os testes, usando Δ cortisolAD \leq 9 $\mu\text{g/dL}$ como padrão ouro, em toda a população, obtemos área sob curva ROC= 0,72 (IC 0,59-0,86), sendo o ponto de maior acurácia Δ cortisolBD= 7,3 $\mu\text{g/dL}$ (sensibilidade de 0,67 e especificidade de 0,71). Há razoável acurácia diagnóstica desde o ponto Δ cortisolBD= 5,9 $\mu\text{g/dL}$ (especificidade de 0,8) até o ponto Δ cortisolBD= 10,8 $\mu\text{g/dL}$ (sensibilidade de 0,89).

Quando a análise limita-se a pacientes com CB entre 10-34 $\mu\text{g/dL}$, a área sob a curva ROC alcança o valor de 0,81 (IC 0,68-0,94), tendo Δ cortisolBD= 7,5 $\mu\text{g/dL}$ como ponto de maior acurácia. Quando selecionamos apenas pacientes com CB > 34 $\mu\text{g/dL}$, A área sob a curva ROC é de apenas 0,5 (IC 0,33-0,82). (**FIGURA 3**)

Não foi possível fazer comparação dos testes nos pacientes com CB \leq 10 $\mu\text{g/dL}$ pois apenas 2,7% (2/74) dos pacientes apresentaram CB \leq 10 $\mu\text{g/dL}$.

A diferença nos valores de Δ cortisolBD ou Δ cortisolAD entre sobreviventes e não sobreviventes não alcançou significância estatística. (**TABELA 1**)

A mortalidade ao longo dos 28 dias de acompanhamento foi de 57%. A mortalidade entre pacientes não-respondedores ao teste de cortrosina em alta dose ($\Delta \leq 9$ $\mu\text{g/dL}$) foi de 61% enquanto os respondedores apresentaram mortalidade de 55% (log-Rank P= 0,39). Resultado muito semelhante foi observado quando avaliamos o teste de baixa dose. Quando adotamos o ponto de corte de 9 $\mu\text{g/dL}$ como variação da cortisolemia induzida pelo teste (Δ cortisolBD ≤ 9 $\mu\text{g/dL}$) a mortalidade dos não respondedores é 61% *versus* 53% dos respondedores (log-rank P= 0,24). Quando usamos como ponto de corte Δ 7,5 $\mu\text{g/dL}$, a mortalidade do grupo Δ cortisolBD $\leq 7,5$ $\mu\text{g/dL}$ é 61% *versus* 54% no grupo Δ cortisolBD > 7,5 $\mu\text{g/dL}$ (log-rank P= 0,28) (**FIGURA 4**)

A área sob a curva ROC para análise da variação de cortisolemia para identificar mortalidade em 28 dias foi de apenas 0,40-0,44 tanto para o teste BD quanto para o

teste AD quando avaliados pacientes com CB entre 10 e 34 μ g/dL, CB >34 μ g/dL ou toda a população. (FIGURA 5)

Empregando a técnica de análise de incidência cumulativa para analisar a influência da variação da cortisolemia após testes de cortrosina na retirada de droga vasoativa, não observamos diferença estatística na retirada de droga vasoativa, independentemente do teste (BD ou AD) ou ponto de corte empregados. Ainda assim, o grupo de paciente com variação de cortisol menor apresentou saída de droga vasoativa entre 47,1% à 48,2%, enquanto o grupo de pacientes com delta de cortisol elevado apresentou saída de droga vasoativa entre 63,7% à 65,8%. (FIGURA 6)

DISCUSSÃO

Esta vem somar-se as maiores coortes de pacientes com choque séptico submetida ao teste de cortrosina em baixa e alta dose sequencialmente, de forma a permitir a comparação da variação da cortisolemia induzida pelos testes. Alguns trabalhos (31, 32), embora empregassem ambos testes, usaram intervalo de apenas uma hora entre o teste de 1 μ g e o teste de 249 μ g, não permitindo retorno da cortisolemia a níveis basais pré-teste, avaliando o pico de cortisolemia induzido pelo teste, mas impossibilitando avaliar sua variação, a qual é considerada a variável que mais se relaciona com disfunção adrenal no paciente crítico. A semelhança entre a cortisolemia pré teste BD e pré teste AD confirma que o intervalo de 4 horas entre os testes permite o retorno da cortisolemia a valores pré 1 μ g de cortrosina sendo um bom modelo para comparação dos testes (34).

A comparação dos testes mostra que a variação absoluta de cortisolemia é diferente independentemente da cortisolemia basal do paciente, sendo maior após o teste AD. Estes dados reforçam a afirmação que doses maiores de cortrosina geram variação maior da cortisolemia.

A comparação da Δ de cortisolemia induzida pelos testes (figuras 1) evidencia haver forte correlação dos testes entre os pacientes que apresentam CB intermediário (CB 10-34 μ g/dL) ($r_s= 0,67$). Em pacientes com CB > 34 μ g/dL a correlação dos teste é regular ($r_s = 0,45$). De maneira análoga, a área sob a Curva ROC aumenta à medida que excluímos da análise pacientes com CB altos. A regular correlação dos testes na população que apresenta níveis de cortisol basal elevado (adequados à doença crítica) corrobora a idéia que a valorização de variação de cortisolemia deve ser interpretada

com cautela em pacientes com CB elevado. Da mesma forma, estes dados sugerem que tanto o teste BD quanto o teste AD se comportam de forma análoga entre pacientes com CB intermediário (CB 10-34 µg/dL), população esta onde acreditamos que os testes de estímulo sejam mais importantes na definição do diagnóstico de CIRCI, uma vez que $CB \leq 10$ µg/dL apresenta alto valor preditivo positivo para CIRCI enquanto $CB > 34$ µg/dL apresenta alto valor preditivo negativo para CIRCI.

O teste ideal para aferição de CIRCI deveria propiciar avaliação da integridade do funcionamento de todo eixo HHA bem como resistência periférica ao cortisol. A avaliação do papel da resistência periférica é um campo onde as pesquisas são incipientes e cuja avaliação ainda é uma incógnita.

Supostamente o teste de BD é superior ao teste de AD para avaliar a integridade do eixo HHA, embora seja necessária maior compreensão do papel dos demais componentes do eixo HHA (ACTH, AVP, HDL, enzimas responsáveis pela esteroidogênese, etc) para que esta deixe de ser apenas suposição.

A dissociação de variação de cortisolemia observada nos pacientes com $CB > 34$ µg/dL potencialmente pode ser explicada pela inferência que pacientes com CB elevado já estão submetidos a potente estimulação endógena hipofisária. Desta maneira, o teste de 1 µg poderia não induzir estimulação adicional a síntese de cortisol, mas o teste AD, por simular dose supra-fisiológica de ACTH e estimular diretamente glândulas adrenais, poderia nesta população incrementar cortisolemia.

De forma oposta, a baixa prevalência de insuficiência adrenal de origem central pode explicar porque potencial maior acurácia do teste de BD não fica evidente na comparação dos testes, uma vez que ambos parecem ter acurácia semelhante na estimulação das adrenais, ou seja, os testes são semelhantes na identificação de IAR quando a disfunção no incremento da cortisolemia deve-se a disfunção da glândula adrenal, o que parece ocorrer na maioria dos casos **(34, 43)**.

Embora a diferença de mortalidade observada entre respondedores e não-respondedores não tenha alcançado diferença estatística, a diferença observada em nosso estudo é clinicamente relevante e semelhante aquela observada em outros estudos **(9, 10, 14)**, os quais evidenciam que disfunção adrenal se relaciona com maior mortalidade em pacientes críticos.

Diversos textos usam o teste de AD para identificar os pacientes portadores desta disfunção. Nosso ensaio evidencia que o teste de BD possui desempenho semelhante ao teste de AD na identificação de pacientes com maior risco de óbito, tanto

quando usamos o ponto de corte de $\Delta = 7,5 \mu\text{g/dL}$ como $\Delta = 9,0 \mu\text{g/dL}$. A adoção do ponto de corte $\Delta = 9,0 \mu\text{g/dL}$ para caracterizar respondedores e não-respondedores ao teste de cortrosina identificou 49% de não-respondedores ao teste de BD *versus* 24% de não-respondedores ao teste AD, evidenciando que o ponto de corte $\Delta_{\text{cortisolBD}} \leq 9,0 \mu\text{g/dL}$ identifica um grupo maior de pacientes cuja mortalidade está elevada. Seria interessante aferir se estes pacientes apresentam diminuição da mortalidade quando submetidos à terapia com hidrocortisona em doses de estresse. Nosso estudo não pode aferir esta hipótese, pelo pequeno número de pacientes, pelo uso quase universal de hidrocortisona (92% dos pacientes) e porque os investigadores não interferiram na decisão de corticoterapia.

No estudo que definiu a associação entre variação de cortisolémia após teste de cortrosina em AD e mortalidade em pacientes críticos (5) a área sob a curva ROC para este teste foi de 0,68.

Em nosso ensaio foi observado resultado inferior em ambos testes (área= 0,4). Estes dados evidenciam que ambos testes foram igualmente pobres para discriminar sobreviventes e não sobreviventes. Diferenças no perfil dos pacientes alocados em ambos trabalhos podem explicar estes resultados divergentes. Duas diferenças podem ter sido decisivas. A primeira é o fato de a prevalência de IAR, identificada apenas pela Δ de cortisolémia após teste AD, foi de 54% no trabalho citado (5), contra apenas 24% em nosso estudo. Maior prevalência de IAR no trabalho de Annane *et al* é responsável por aumento da probabilidade pré teste positiva, aumentando o desempenho dos testes. A segunda é o uso de corticóides em 92% dos pacientes em nosso ensaio contra apenas 21 % no trabalho de Annane *et al*. Para aceitarmos este argumento como causa da divergência observada, é necessário que admitamos como verdadeira a controversa premissa que esteróides diminuem mortalidade em portadores de CIRCI.

Metanálises concordam que a suplementação de glicocorticóides reduz tempo de uso de vasopressores (19, 36, 44) e alguns autores sugerem este como sendo o critério clínico de maior relação com o diagnóstico de CIRCI.

Até este momento os trabalhos que avaliam a retirada de vasopressores empregam o método de KM para aferir este desfecho (52). Nos últimos dez anos a literatura têm sido enfática que este método não é ideal para avaliar desfechos competidores (47,48), como é o caso de retirada de vasopressores e óbito. O método de Kaplan-Meier censura igualmente pacientes que não mais estão em uso de droga vasoativa e aqueles que morrem em uso de droga vasoativa (49), superestimando o

efeito dos esteróides sobre a retirada de vasopressor. Para corrigir este viés, novas técnicas denominadas “análise de incidência cumulativa” ou “análise real” têm sido sugeridas. Embora estas técnicas têm sido empregadas por cirurgiões cardíacos e oncologistas, sua prática ainda não se difundiu amplamente entre pesquisadores de outras áreas **(50,51)**.

Pelo explanado acima, optamos pela técnica de análise de incidência cumulativa para analisar a influência da variação do cortisol em resposta ao teste de cortrosina na retirada de vasopressor, ao invés do comumente empregado método de KM. A descrição desta metodologia pode ser encontrada em Ludbrook e Royse **(45)**. O teste de log-rank é empregado para comparação dos grupos quando adota-se o método de KM, mas não é factível quando adotamos a análise de incidência cumulativa. Para este fim, empregamos o modelo de risco proporcional de Cox para eventos concorrentes, como descrito em Putter, Fiocco e Geskus **(46)**.

A diferença na retirada de vasopressor observada entre pacientes respondedores e não respondedores aos testes de cortrosina não alcançou diferença estatística (FIGURA 6). Uma vez que este não era um desfecho primário deste estudo, o pequeno número de pacientes alocados foi insuficiente para que a diferença observada alcançasse significância estatística. Acreditamos que retirada de vasopressores em CIRCI e após suplementação de esteróides deve ser reavaliada empregando a metodologia de análise de incidência cumulativa uma vez que o método de Kaplan-Meier superestima reversão de choque.

Uma vez que 92% dos pacientes usaram hidrocortisona a despeito do resultado dos testes, não foi possível realizar comparação da variação da cortisolemia entre pacientes com e sem uso de hidrocortisona na retirada de vasopressores.

CONCLUSÕES

Atualmente há grande divergência sobre o emprego de esteróides no choque séptico. A resposta a esta questão passa pela identificação de que pacientes apresentam disfunção adrenal em situações críticas. Acreditamos que os testes com cortrosina podem ser extremamente úteis na identificação destes pacientes, sobretudo naqueles que apresentam cortisolemia em valores intermediários (CB 10-34 $\mu\text{g/dL}$). Em pacientes “não-críticos” o teste de cortrosina com 1 μg é mais acurado para identificar insuficiência adrenal, mas até hoje poucos estudos avaliaram seu desempenho em pacientes críticos. Neste estudo prospectivo demonstramos que a variação na cortisolemia induzida pelo teste de 1 μg se correlaciona fortemente com a variação induzida pelo teste de 250 μg , e que ambos testes apresentam resultados semelhantes na identificação de mortalidade e retirada de droga vasoativa em pacientes portadores de choque séptico. Cabe ressaltar que a adoção do ponto de corte de variação de cortisol de 9,0 $\mu\text{g/dL}$ no teste de 1 μg identifica mais pacientes potencialmente portadores de IAR. Sugerimos também que a avaliação de retirada de droga vasoativa, desfecho competidor com morte, deva ser analisada através do método de análise de incidência cumulativa ao invés de Kaplan-Meier.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Prigent H, Maxime V, Annane D. Science review: mechanisms of impaired adrenal function in sepsis and molecular actions of glucocorticoids. *Crit Care* 2004 Aug; 8(4):243-52
2. Rothwell PM, Udwardia ZF, Lawler PG. Cortisol response to corticotropin and survival in septic shock. *Lancet* 1991. 337:582–583
3. Marik PE: The adrenal exhaustion syndrome in patients with liver disease. *Intensive Care Med* 2006. 32:275–280
4. Dimopoulou I, Stamoulis K, Ilias I, Tzanela M, Lyberopoulos P, Orfanos S, Armaganidis A, Theodorakopoulou M, Tsagarakis, S. A prospective study on adrenal cortex responses and outcome prediction in acute critical illness: results from a large cohort of 203 mixed ICU patients. *Intensive Care Med* 2007. Dec;33(12):2116-21
5. Annane D, Sébille V, Troché G, Raphaël JC, Gajdos P, Bellissant E. A 3-level prognostic classification in septic shock based on cortisol levels and cortisol response to corticotropin. *JAMA* 2000. Feb 23;283(8):1038-45
6. de Jong MFC, Beishuizen A, Spijkstra JJ, Groeneveld J. Relative adrenal insufficiency as a predictor of disease severity, mortality, and beneficial effects of corticosteroid treatment in septic shock. *Crit Care Med* 2007.35:1896–1903
7. Bollaert PE, Fieux F, Charpentier C, Levy B: Baseline cortisol levels, cortisol response to corticotropin, and prognosis in late septic shock. *Shock* 2003; 19:13–15
8. Goodman S, Sprung CL, Ziegler D, Weiss YG: Cortisol changes among patients with septic shock and the relationship to ICU and hospital stay. *Intensive Care Med* 2005; 31: 1362–1369
9. Annane D, Sebille V, Charpentier C, Bollaert PE, Francois B, Korach JM, Capellier G, Cohen Y, Azoulay E, Troche G, Chaumet-Riffaut P, Bellissant E: Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *JAMA* 2002; 288:862–871

10. Sprung CL, Annane D, Keh D, Moreno R, Singer M, Freivogel K, Weiss YG, Benbenishty J, Kalenka A, Forst H, Laterre PF, Reinhart K, Cuthbertson BH, Payen D, Briegel J; CORTICUS Study Group.: Hydrocortisone therapy for patients with septic shock. *N Engl J Med* 2008; 358:111–124
11. Bollaert PE, Charpentier C, Levy B, Debouverie M, Audibert G, Larcan A. Reversal of late septic shock with supraphysiologic doses of hydrocortisone. *Crit Care Med* 1998; 26:645–650
12. Briegel J, Forst H, Haller M, Schelling G, Kilger E, Kuprat G, Hemmer B, Hummel T, Lenhart A, Heyduck M, Stoll C, Peter K. Stress doses of hydrocortisone reverse hyperdynamic septic shock: A prospective, randomized, double-blind, single-center study. *Crit Care Med* 1999; 27:723–732
13. Chawla K, Kupfer Y, Tessler S: Hydrocortisone reverses refractory septic shock. *Crit Care Med* 1999; 27(Suppl):A33
14. Oppert M, Schindler R, Husung C, Offermann K, Gräf KJ, Boenisch O, Barckow D, Frei U, Eckardt KU: Low-dose hydrocortisone improves shock reversal and reduces cytokine levels in early hyperdynamic septic shock. *Crit Care Med* 2005; 33:2457–2464
15. Cicarelli DD, Vieira JE, Bensenor FEM: Early dexamethasone treatment for septic shock: a prospective randomized clinical trial. *São Paulo Med J* 2007; 125:237–241
16. Yildiz O, Doganay M, Aygen B, Güven M, Keleştimur F, Tutuû A: Physiological dose steroid therapy in sepsis. *Crit Care* 2002;6(3): 251–9
17. Tandan SM, Guleria R, Gupta N. Low dose steroids and adrenocortical insufficiency in septic shock: a double-blind randomised controlled trial from India. *Proceedings of the American Thoracic Society Meeting*. New York, NY: American Thoracic Society; 2005:A24.
18. Huh JW, Lim CM, Koh Y: Effect of low doses of hydrocortisone in patient with septic shock and relative adrenal insufficiency: 3 days versus 7 days treatment. *Crit Care Med* 2007;34:A101
19. Marik PE, Critical Illness-Related Corticosteroid Insufficiency. *CHEST* 2009; 135:181–193

20. Arafah BM: Hypothalamic Pituitary Adrenal Function during Critical Illness: Limitations of Current Assessment Methods. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2006. 91(10):3725–3745
21. Annane D, Maxime V, Ibrahim F, Alvarez JC, Abe E, Boudou P: Diagnosis of adrenal insufficiency in severe sepsis and septic shock. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174:1319–1326
22. Máxime V, Lesur O, Annane D: Adrenal Insufficiency in Septic Shock. *Clin Chest Med* 2009. 30: 17–27
23. Zaloga GP, Marik P: Hypothalamic pituitary insufficiency. *Crit Care Clin* 2001.17: 25–41
24. Casartelli CH, Garcia PC, Branco RG, Piva JP, Einloft PR, Tasker RC. Adrenal response in children with septic shock. *Intensive Care Med* 2007. Sep;33(9):1609-13.
25. Cooper MS, Stewart PM: Corticosteroid Insufficiency in Acutely Ill Patients. *N Engl J Med* 2003.348:727-34
26. Pugeat M, Bonneton A, Perrot D, Rocle-Nicolas B, Lejeune H, Grenot C, Dechaud H, Brebant C, Motin J, Cuilleron CY: Decreased immunoreactivity and binding activity of corticosteroid binding globulin in serum in septic shock. *Clin Chem* 1989. 35:1675–1679
27. Dhillo WS, Kong WM, Le Roux CW, Alaghband-Zadeh J, Jones J, Carter G, Mendoza N, Meeran K, O’Shea D: Cortisol-binding globulin is important in the interpretation of dynamic tests of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis. *European Journal of Endocrinology* 2002. 146 231–235
28. Hamrahian AH, Oseni TS, Arafah BM. Measurements of serum free cortisol in critically ill patients. *N Engl J Med* 2004; 350:1629–38
29. Arafah BM, Nishiyama FJ, Tlaygeh H, Hejal R.: Measurement of Salivary Cortisol Concentration in the Assessment of Adrenal Function in Critically Ill Subjects: A Surrogate Marker of the Circulating Free Cortisol; *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2007. 92(8):2965–2971
30. Kazlauskaitė R, Evans AT, Villabona CV, Abdu TA, Ambrosi B, Atkinson AB, Choi CH, Clayton RN, Courtney CH, Gonc EN, Maghnie M, Rose SR, Soule SG, Tordjman K; Consortium for Evaluation of

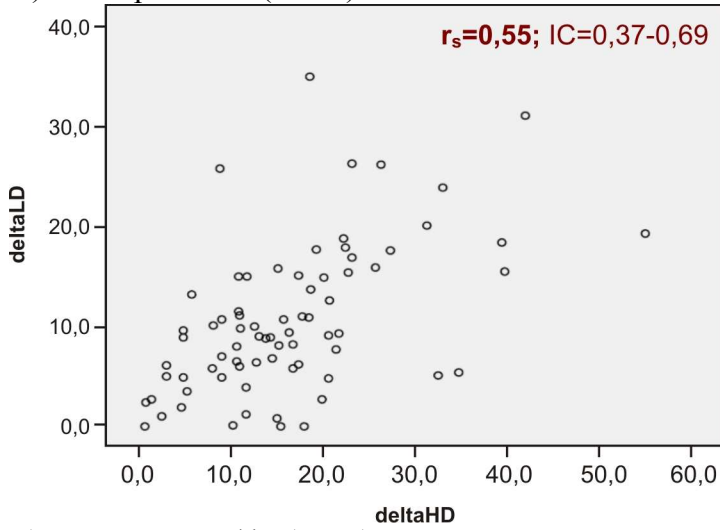
- Corticotropin Test in Hypothalamic-Pituitary Adrenal Insufficiency: Corticotropin tests for hypothalamic-pituitary- adrenal insufficiency: a metaanalysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2008. 93: 4245–4253, 2008
31. Marik PE, Zaloga GP: Adrenal insufficiency during septic shock. *Crit Care Med* 2003; 31:141–145
 32. Salgado DR, Verdeal JCR, Rocco JR: Adrenal function testing in patients with septic shock. *Critical Care* 2006, 10:R149
 33. Richards ML, Caplan RH, Wickus GG, Lambert PJ, Kiskan WA: The rapid low-dose (1 ug) cosyntropin test in the immediate postoperative period: Results in elderly subjects after major abdominal surgery. *Surgery* 1999;125:431-40
 34. Siraux V, De Backer D, Yalavatti G, Mélot G, Gervy C, Mockel J, Vincent JL: Relative adrenal insufficiency in patients with septic shock: Comparison of low-dose and conventional corticotropin tests. *Crit Care Med* 2005; 33:2479–2486
 35. Widmer IE, Puder JJ, Konig C, Pargger H, Zerkowski HR, Girard J, Muller B: Cortisol Response in Relation to the Severity of Stress and Illness. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2005. 90(8):4579–4586
 36. Marik PE, Pastores SM, Annane D, Meduri GU, Sprung CL, Arlt W, Keh D, Briegel J, Beishuizen A, Dimopoulou I, Tsagarakis S, Singer M, Chrousos GP, Zaloga G, Bokhari F, Vogeser M: Recommendations for the diagnosis and management of corticosteroid insufficiency in critically ill adult patients: consensus statements from an international task force by the American College of Crit Care Med. *Crit Care Med* 2008; 36:1937–1949
 37. Salluh JI, Soares M. New recommendations for the use of corticosteroids in sepsis: not so fast! *Crit Care Med* 2008. Aug;36(8):2489-90
 38. Alaniz Cesar. *Arbor Ann. Hyzy Robert: Diagnosing adrenal insufficiency.* *Crit Care Med* 2008. 36(12), 3281-3282
 39. Moraes RB, Czepielewski MA, Friedman G: Is the cortrosyn test necessary in high basal corticoid patients with septic shock? *Crit Care Med* 2009. 37(1):385-6

40. Casartelli CH, Garcia PC, Piva JP, Branco RG: Adrenal insufficiency in children with septic shock. *J Pediatr (Rio J)* 2003.(79) Suppl 2:S169-76.
41. ACCP/SCCM Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med* 1992; 20:864-74.
42. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE: APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 1985, 13:818-829
43. Schroeder S, Wichers M, Klingmüller D, Höfer M, Lehmann LE, von Spiegel T, Hering R, Putensen C, Hoeft A, Stüber F: The hypothalamic-pituitary-adrenal axis of patients with severe sepsis: Altered response to corticotropin-releasing hormone. *Crit Care Med* 2001; 29:310–316
44. Richardson L, Hunter S: Is steroid therapy ever of benefit to patients in the intensive care unit going into septic shock. *Interact CardioVasc Thorac Surg* 2008;7:898-905
45. Ludbrook J, Royle AG: Analyzing clinical studies: principles and pitfalls of Kaplan-Meier plots. *ANZ J. Surg* 2008; 78: 204–210
46. Putter H, Fiocco M, Geskus RB: Tutorial in biostatistics: Competing risks and multi-state models. *Statist. Med* 2007; 26:2389–2430
47. Wolkewitz M, Beyersmann J, Gastmeier P, Schumacher M: Modeling the effect of time-dependent exposure on intensive care unit mortality. *Intensive Care Med.* 2009 May;35(5):826-32
48. S. Kaempchen S, Guenther T, Toschke M, Grunkemeier GL, M. Wottke M, Lange R: Assessing the benefit of biological valve prostheses: cumulative incidence (actual) vs. Kaplan–Meier (actuarial) analysis. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery* 2003. 23 710–714
49. Bland JM, Altman DG: Time to event (survival) data. *BMJ* 1998;317;468-469
50. Gary L. Grunkemeier GL, Wu Y: Interpretation of nonfatal events after cardiac surgery: Actual versus actuarial reporting. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001. Aug;122(2):216-9
51. Satagopan JM, Ben-Porat L, Bernick M, Robson M, Kutler D, Auerback AD: A note on competing risks in survival data. *Br. J. Cancer* 2004; 91: 1224–35

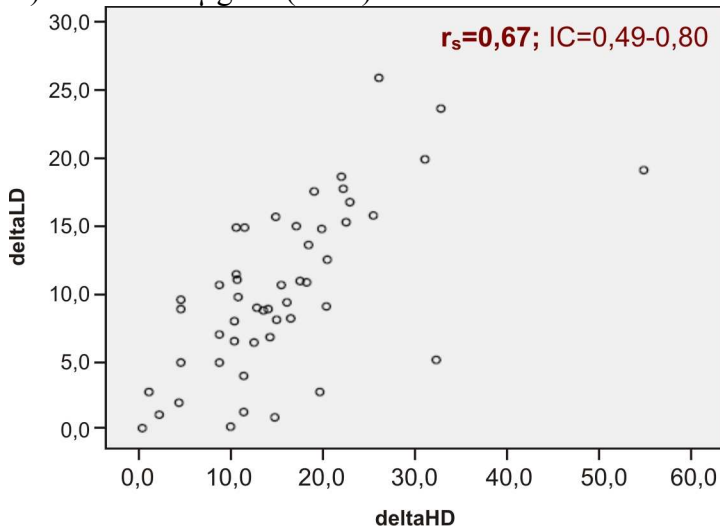
52. Annane D, Bellissant E, Bollaert P-E, et al. Corticosteroids in the treatment of severe sepsis and septic shock in adults: a systematic review. *JAMA*. 2009; 301(22):2362-2375

FIGURA 1: Correlação da variação da cortisolemia induzida pelos testes de cortrosina em baixa (deltaLD, *low dose*) e alta dose (deltaHD, *high dose*) conforme cortisol basal.

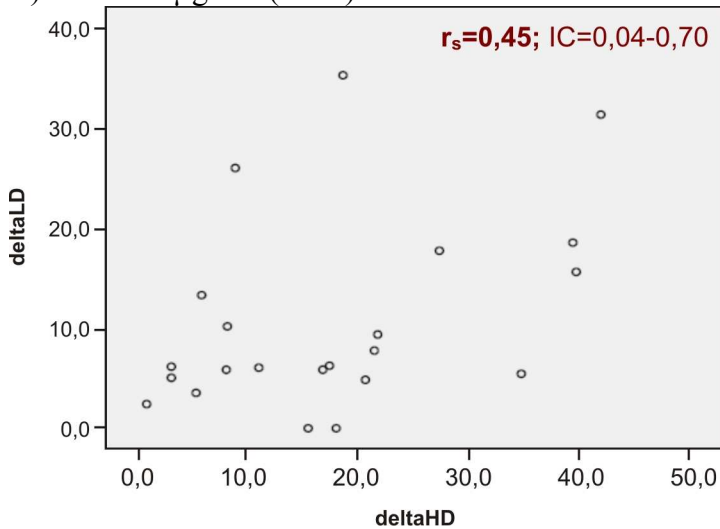
A) todos pacientes (n= 74)



B) CB 10-34 $\mu\text{g/dL}$ (n=50)



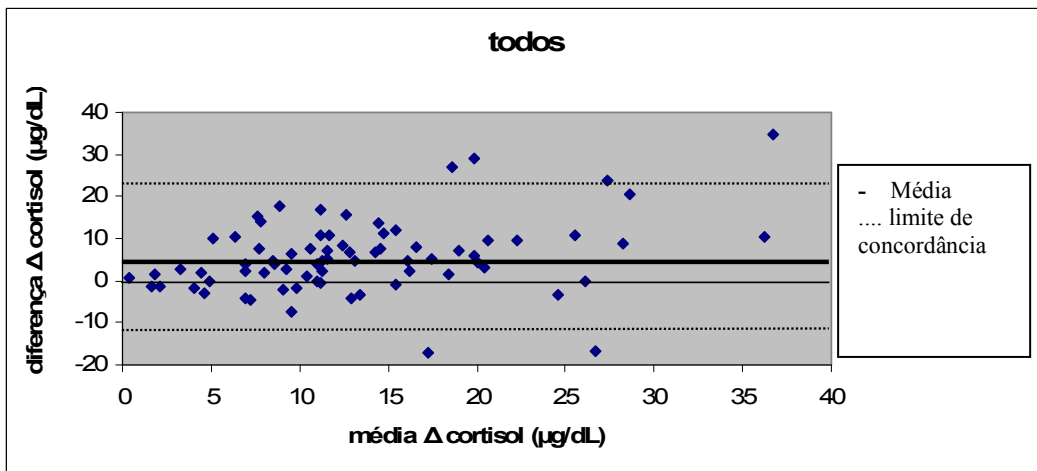
C) CB > 34 $\mu\text{g/dL}$ (n=22)



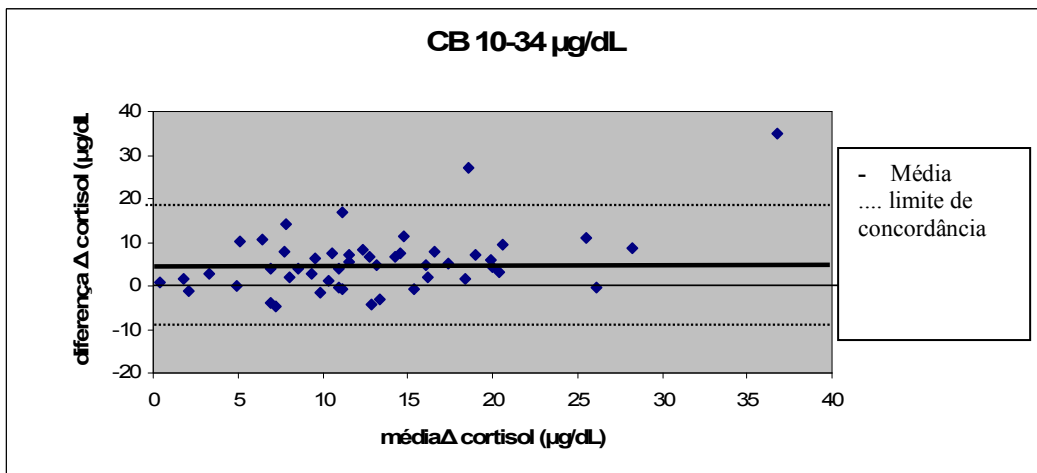
r_s = índice de correlação de Spearman; IC= intervalo de confiança, CB= cortisol basal, deltaLD= variação de cortisolemia (ug/dL) após teste de baixa dose; deltaHD= variação de cortisolemia (ug/dL) após teste de alta dose

FIGURA 2: Gráficos de Bland-Altman: relação da média da variação de cortisolemia ($[\Delta BD + \Delta AD]/2$) induzida pelos testes de cortrosina em baixa e alta dose e sua diferença ($\Delta AD - \Delta BD$) em todos pacientes e conforme cortisol basal

A) todos pacientes (n= 74)



B) CB 10- 34 $\mu\text{g/dL}$ (n=50)



C) CB > 34 $\mu\text{g/dL}$ (n=22)

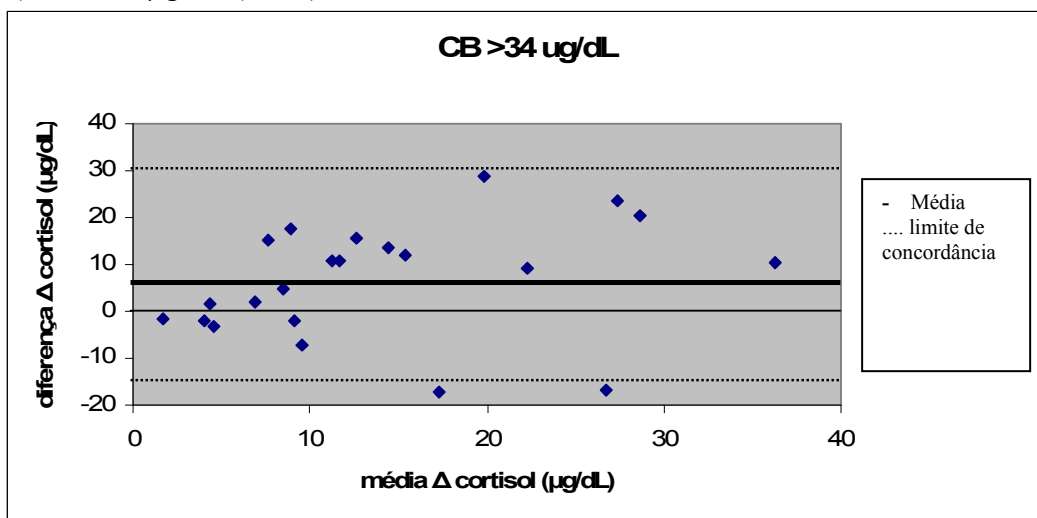
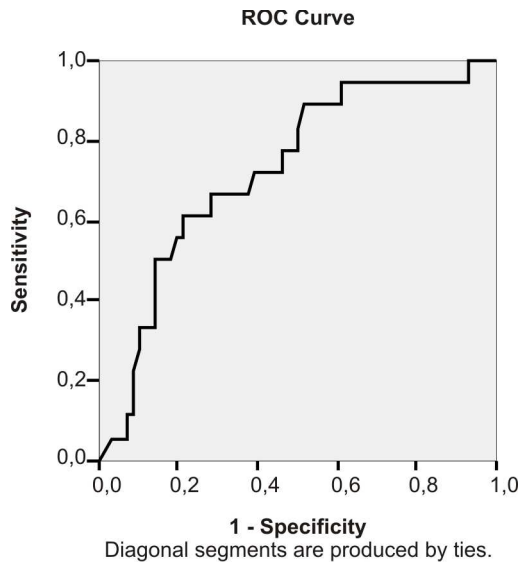
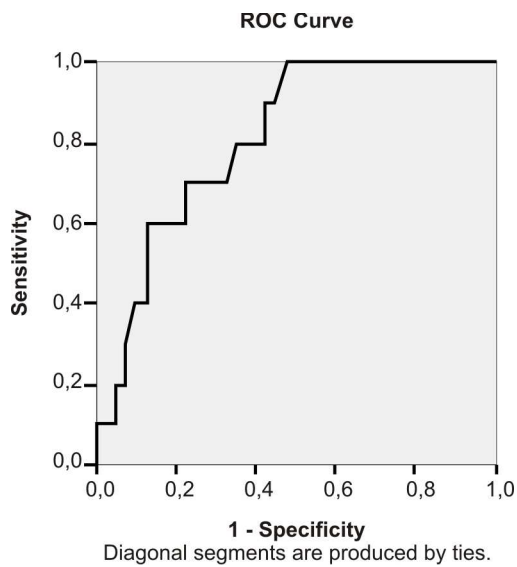


FIGURA 3: Comparação do teste de cortrosina em baixa dose (BD) através da curva ROC, tendo como referência Δ cortisol após teste de alta dose (AD)= 9 μ g/dL, em todos pacientes e conforme cortisol basal CB: cortisol basal; IC: intervalo de confiança

A) todos pacientes (n=74), **área sob curva= 0,72**; IC 0,59-0,86



B) CB 10-34 μ g/dL (n=50), **área sob curva= 0,81** ; IC 0,68-0,94



C) $CB > 34\mu\text{g/dL}$ (n=22), **área sob curva= 0,50** ; IC 0,33-0,82

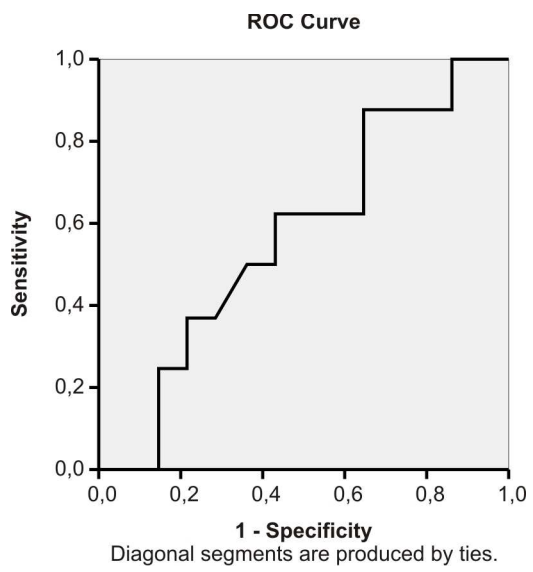
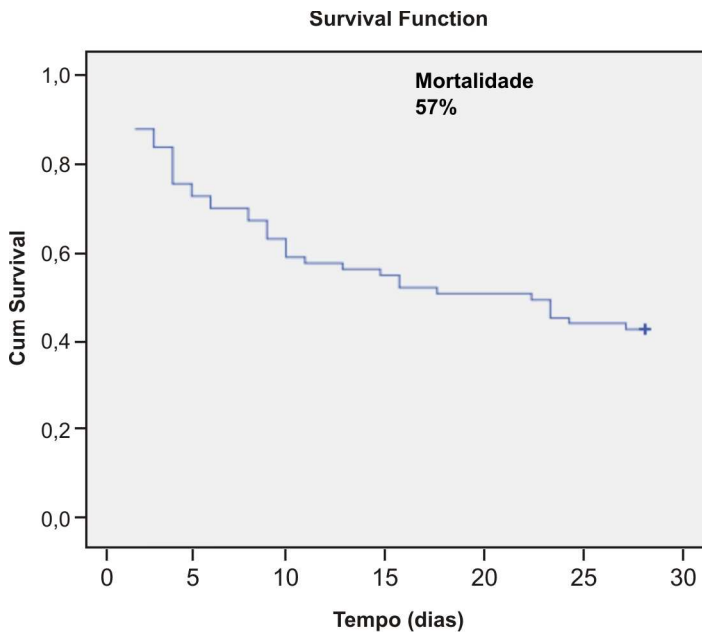


TABELA 1: *Varição da cortisolemia após testes de cortrosina em baixa (Δ cortisolBD) e alta (Δ cortisolAD) doses entre sobreviventes e não sobreviventes*

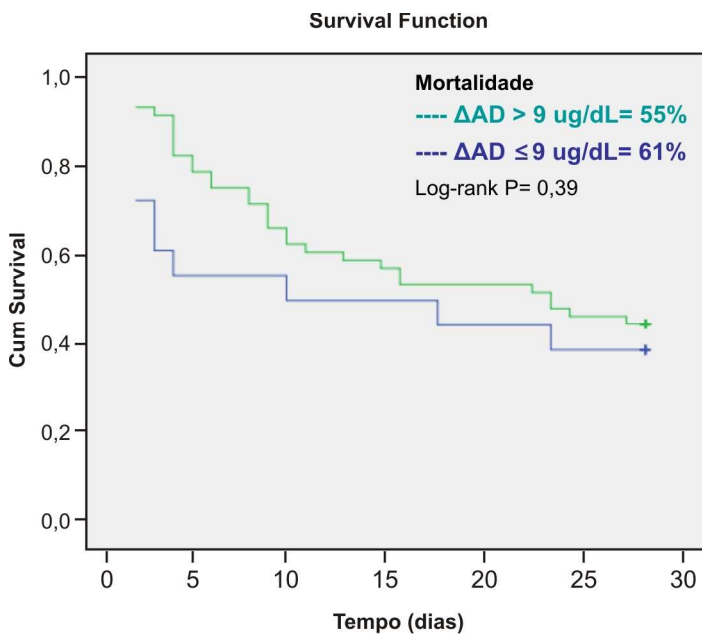
Média ($\mu\text{g/dL}$)	Sobreviventes	Não sobreviventes	<i>p</i>
Δ cortisolBD	11,6 \pm 8	9,8 \pm 7,1	>0,05
Δ cortisolAD	17,3 \pm 10,9	15,4 \pm 9,5	>0,05

FIGURA 4: Curvas de Kaplan-Meier para mortalidade em 28 dias em todos pacientes e conforme variação de cortisolemia induzida pelos testes de cortrosina em alta dose (AD) e baixa dose (BD). No teste de BD foram testados os pontos de corte de 9 $\mu\text{g/dL}$ e 7,5 $\mu\text{g/dL}$.

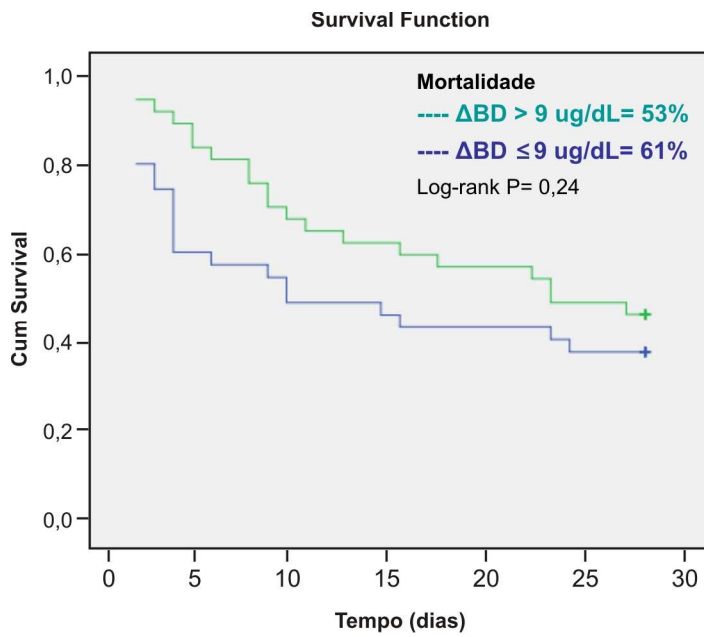
A) mortalidade geral



B) mortalidade conforme variação de cortisol após teste de alta dose (Δ AD 9 $\mu\text{g/dL}$)



C) mortalidade conforme variação de cortisol após teste de baixa dose (Δ BD 9 $\mu\text{g/dL}$)



D) mortalidade conforme variação de cortisol após teste de baixa dose (Δ BD 7,5 $\mu\text{g/dL}$)

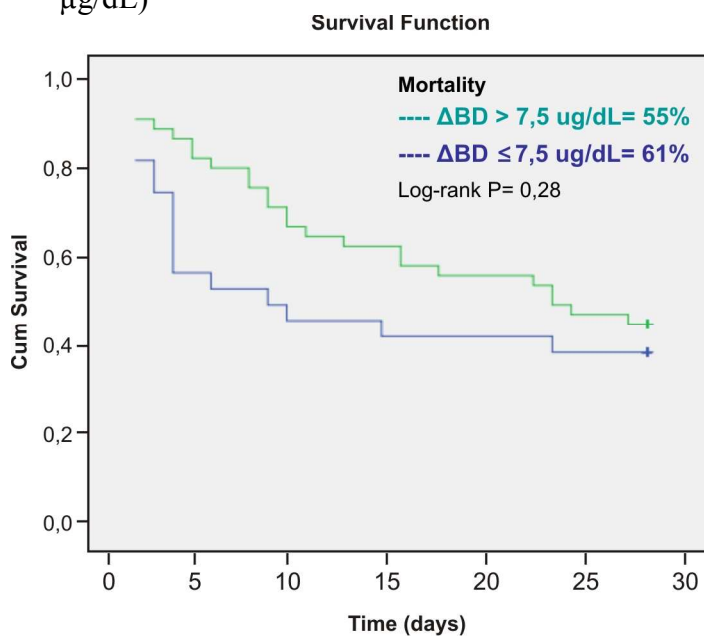
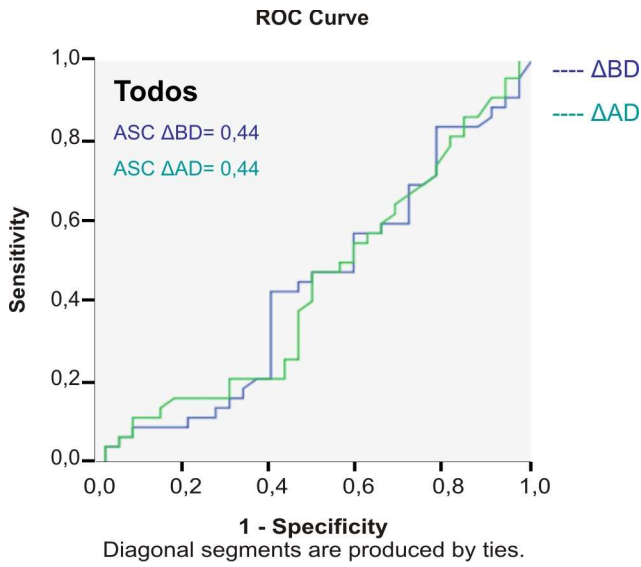
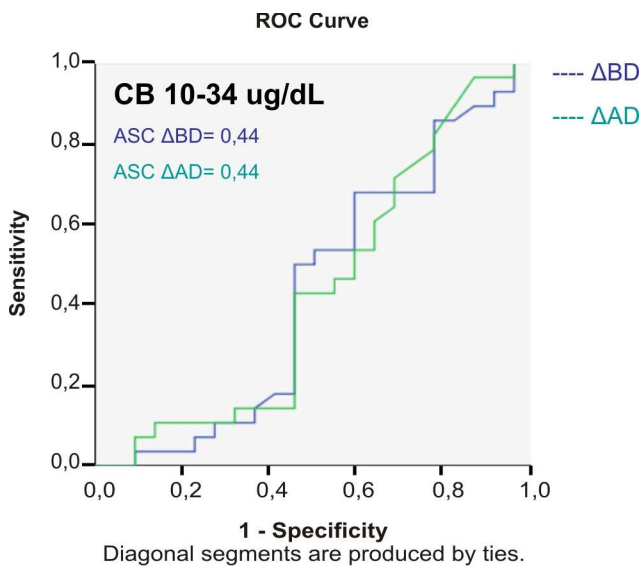


FIGURA 5: Curvas ROC de mortalidade em 28 dias para os testes de cortrosina em baixa (BD) e alta (AD) dose, conforme cortisol basal (CB); ASC: área sob a curva

A) todos pacientes (n= 74)



B) CB 10-34 ug/dL (n= 50)



C) CB >34 ug/dL (n=22)

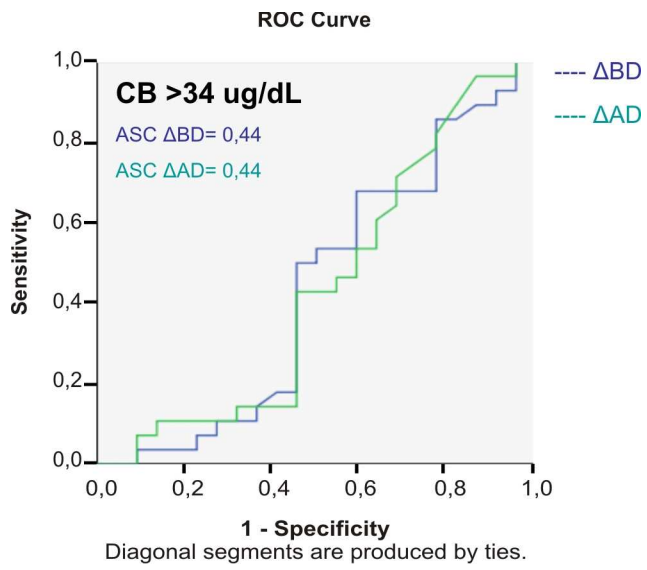
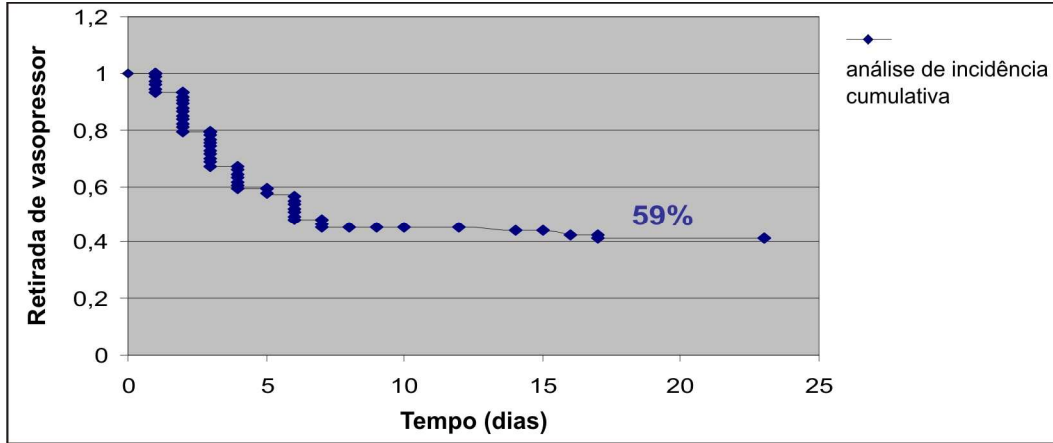
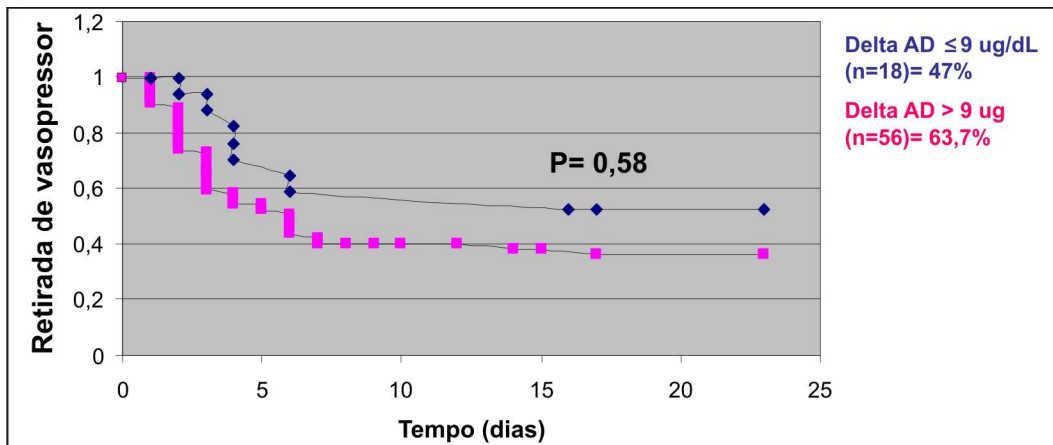


FIGURA 6: Retirada de vasopressor conforme variação do cortisol após testes de cortosina em alta dose (AD) e baixa dose (BD). No teste de baixa dose foram avaliados os pontos de corte $\Delta BD \ 9 \ \mu\text{g/dL}$ e $\Delta BD \ 7,5 \ \mu\text{g/dL}$

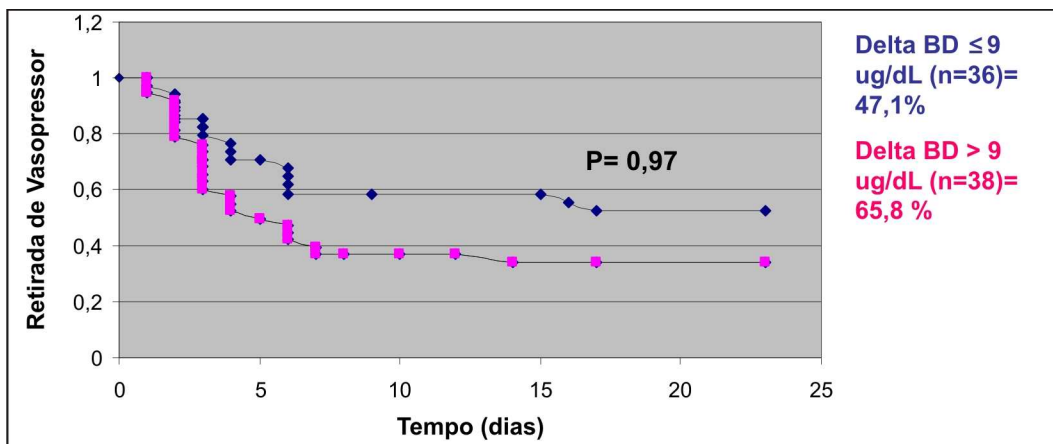
a) Todos pacientes



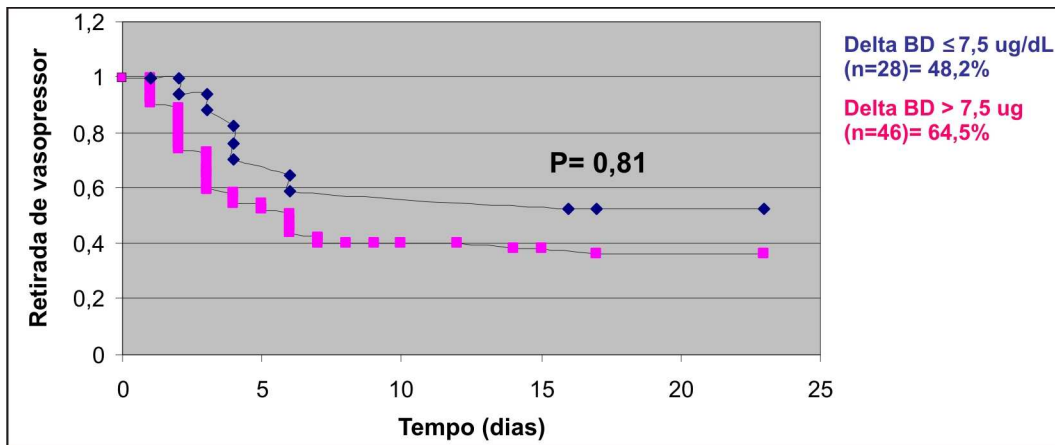
b) $\Delta AD > 9 \ \mu\text{g/dL}$ X $\Delta AD \leq 9 \ \mu\text{g/dL}$



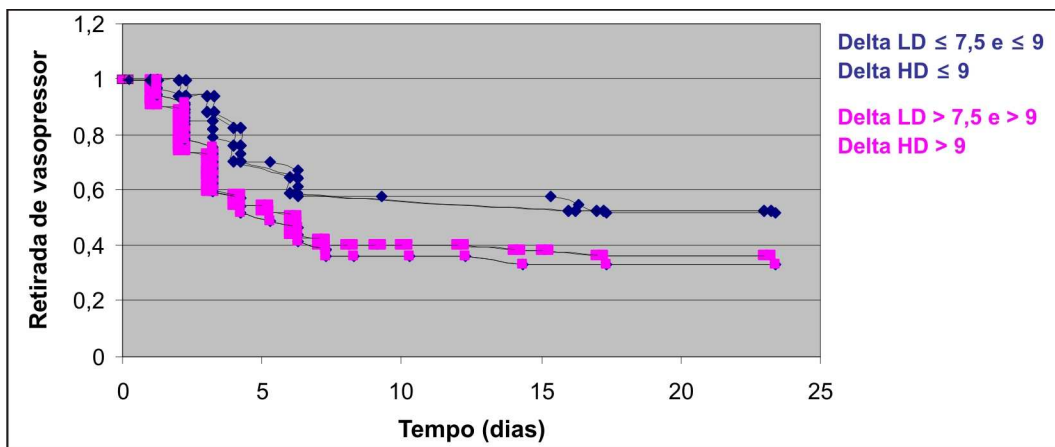
c) $\Delta BD > 9 \ \mu\text{g/dL}$ X $\Delta BD \leq 9 \ \mu\text{g/dL}$



d) $\Delta BD > 7,5 \mu\text{g/dL}$ X $\Delta BD \leq 7,5 \mu\text{g/dL}$



e) Sobreposição das curvas



ARTIGO ORIGINAL EM LÍNGUA INGLESA

COMPARISON OF LOW AND HIGH DOSE COSYNTROPIN STIMULATION TESTS IN THE DIAGNOSIS OF ADRENAL INSUFFICIENCY IN SEPTIC SHOCK PATIENTS

ABSTRACT

Objective

Stress situations such as septic shock are accompanied by activation of the hypothalamic- pituitary- adrenal axis. Some patients do not activate this axis in stress situations. This blunted response was designated relative adrenal insufficiency. Although it was described almost two decades ago, there are no defined diagnostic criteria for this syndrome. Currently the high dose (250 ug) cosyntropin stimulation test is the preferred diagnostic test. Few papers explored the role of the low dose (1 ug) cosyntropin test in septic shock patients, despite its superiority over the high dose test in diagnosing adrenal failure in non-critically ill patients. We compared the low dose and the high dose cosyntropin tests in septic shock patients.

Design: prospective study

Setting: medical-surgical intensive care unit of a university hospital

Patients: 74 septic shock patients

Interventions: After measurement of baseline cortisol all patients received 1 ug of cosyntropin i.v and 4 hours later 249 ug of cosyntropin. Cortisol concentrations were obtained 30 and 60 minutes after low- and high-dose cosyntropin tests. We compared the cortisol variation after each test and its relation to mortality and vasopressor therapy.

Measurement and Main Results: There was a moderate relation in response to low and high dose cosyntropin ($r_s = 0.55$). This relation remains moderate in patients with high baseline cortisol (> 34 ug/dL, $r_s = 0.45$) and becomes strong in patients with baseline cortisol between 10-34 ug/dL, $r_s = 0.67$. The variation induced by both tests was equally accurate to identify mortality and time of vasopressor withdrawal.

Conclusions: Low and high dose cosyntropin tests presented a strong relation in patients with baseline cortisol between 10-34 ug/dL. Both tests have the same accuracy in identification of mortality and time to vasopressor therapy. These results suggest that both tests could be used to diagnose CIRCI.

Key Words: Relative adrenal insufficiency, critical illness-related corticosteroid insufficiency (CIRCI), septic shock, cosyntropin, cortisol, cumulative incidence analysis.

Abbreviations: **ACTH:** adrenocorticotrophic hormone, corticotropin; **APACHE II score:** Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II score; **AUC ROC:** area under receiver operating characteristic curve; **BC1:** baseline cortisol before low dose test; **BC2:** baseline cortisol before high dose test; **CBG:** cortisol binding globulin; **CIRCI:** critical illness- related corticosteroid insufficiency; **CRH:** corticotropin releasing hormone; **Δ:** delta, variation; **ΔcortisolHD:** cortisol variation induced by high dose test; **ΔcortisolLD:** cortisol variation induced by low dose test; **HD test:** high dose (250 ug) cosyntropin test; **HPA:** hypothalamic- pituitary- adrenal; **ICU:** intensive care unit; **KM:** Kaplan-Meier; **LD test:** low dose (1 ug) cosyntropin test; **ROC curve:** receiver operating characteristic curve; **SIRS:** systemic inflammatory response syndrome;

INTRODUCTION

In stress situations, such as septic shock, the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA) is activated with increased serum levels of corticotropin releasing hormone (CRH), adrenocorticotropic hormone, corticotropin (CRH) and cortisol. Cortisol is responsible for actions like gluconeogenesis, anti-inflammatory effects, maintenance of vascular tone, endothelial integrity, increased sensitivity to vasopressors, and angiotensin synthesis **(1)**. These metabolic actions are to restore homeostasis in the setting of ongoing SIRS. Some patients are unable to increase cortisol production in stress situations. These patients have a worse prognosis and this observation characterized the expression “relative adrenal insufficiency” (RAI) **(2)** and more recently critical illness-related corticosteroid insufficiency (CIRCI) **(3)**.

Despite the recognition of CIRCI as a dysfunction **(4-8)**, different trials have shown different results in its treatment **(9-18)**. One of the reasons that may explain the heterogeneous results of cortisol supplementation is the lack of definition of CIRCI. There are, as yet, no defined diagnostic criteria to clearly identify critical care patients who benefit from steroid supplementation.

In non-critically ill patients, insulin tolerance test and metyrapone test are considered the most accurate tests to diagnose adrenal failure. The insulin tolerance test is impractical in critical care patients because of its risks and because euglycemia is a standard of care in septic shock patients **(19)**. The metyrapone test used to be considered impractical in ICU patients due to its potent inhibition of the 11-hydroxylase enzyme responsible for cortisol synthesis **(20)**, but was used as a reference in a trial that strongly influenced the current definition of CIRCI **(21)**. In addition to its poor availability, the lack of other studies validating its use makes it unlikely that the metyrapone test will become a usual test in diagnosis of CIRCI **(22)**.

Another way proposed to identify CIRCI was the evaluation of baseline cortisol, without exogenous stimulation tests, since the stress situation in ICU (hypotension, sepsis) strongly stimulates cortisol synthesis. **(23,24)**. However, no trials could identify a cutoff point of baseline cortisol able to diagnose CIRCI or guide therapy. Most experts agree that low levels (< 10 ug/dL) are very specific and high levels (> 34ug/dL) **(21, 25)** exclude CIRCI, and doubt remains concerning the evaluation of those patients with baseline cortisol between 10 ug/dL and 34 ug/dL.

Around 90% of circulating cortisol is bound to serum proteins like albumin and CBG, however, acute illness induces hypoproteinemia and decreases binding of cortisol to serum proteins, increasing free fractions (biologically active) of the hormone, although it decreases total cortisol (26,27). Due to this phenomenon some experts suggest that measurement of free cortisol, serum (28) or salivary (29) would be more accurate to diagnose CIRCI than total cortisol. Although this statement appears correct, the measurement of free cortisol is not widely available, it requires further studies in critical care patients and, like total cortisol will not be able to identify a single cutoff point to diagnose or exclude CIRCI.

Due to the difficult application or low accuracy of the tests previously described, the stimulation test with high dose cosyntropin (HD test, 250 ug) became the most usual diagnostic tool for CIRCI in critically ill patients. The variation (delta, Δ) post 250 ug of cosyntropin ≤ 9 ug/dL ($\Delta \leq 9$ ug/dL) proved to be the variable related to adrenal function that best identifies survivors and non-survivors of septic shock, although there are divergent results about its ability to identify patients that benefit from steroid therapy in stress doses.

Some experts criticize this test to diagnose CIRCI arguing that the high dose of cosyntropin is many times above the serum level of ACTH present in septic shock patients, directly stimulating adrenal glands, leading to diagnostic criteria with high specificity, but low sensitivity (23).

The 1 ug cosyntropin stimulation test (low dose, LD) seems more physiologic, since it is able to test the integrity of the HPA axis and not just adrenal function and is currently preferred to the HD test to diagnose adrenal failure in non-critically ill patients (30). Few trials compared both cosyntropin tests in the diagnosis of CIRCI (31-35). However these trials suggest that the LD test is more sensitive than the HD test. The small number of trials that employed the LD test in the ICU makes it impossible to recommend its use in critical care patients to diagnose CIRCI (20, 22).

Recent consensus (36) suggested $\Delta \leq 9$ as a diagnostic criterion for CIRCI after HD test or a random total cortisol of <10 ug/dL. Some experts criticized this criterion (37, 38). The proposed criterion shows high specificity but low sensitivity, allowing a high number of false negative diagnoses, excluding patients who probably have adrenal dysfunction from the concept of CIRCI. In addition, other experts understand that baseline cortisol should be considered in the diagnosis of CIRCI, but in a different way. (21, 25, 39, 40). These experts suggest that low baseline cortisol (< 10 ug/dL) is

diagnostic of CIRCI and that high baseline cortisol (> 34 ug/dL) excludes CIRCI. According to these authors, including us, the stimulation tests probably have an important role in the diagnosis of CIRCI in those patients with intermediary baseline cortisol (10-34 ug/dL), similarly to the way in which adrenal failure is diagnosed in non-critically ill patients.

Intending to contribute to the diagnosis of CIRCI, we developed this trial comparing the LD and HD cosyntropin stimulation tests with respect to variation of cortisolemia produced by both tests and ability to identify mortality and time to shock reversal.

MATERIALS AND METHODS

The protocol was approved by the ethics committee. Written informed consent was provided by a member of the patient's family.

In a medical- surgical ICU of a tertiary university hospital, 74 patients > 18 years were prospectively enrolled from November 2006 to February 2009. The patients who were eligible for enrollment into the study were those who met American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Conference Consensus Committee (41) criteria for septic shock, need of vasopressors despite adequate fluid replacement, in ICU for less than 96 hours and under invasive mechanical ventilation. Patients were considered non-responders to the HD test when Δ cortisol ≤ 9 ug/dL.

Exclusion criteria were: previous use (acute or chronic) of cortisol, use of drugs known to suppress adrenal function like spironolactone, oral contraceptives or antifungals, AIDS, history of previous adrenal failure, pathology of HPA axis, pregnancy, age less than 18 years or shock due to other etiologies.

All the patients were sequentially submitted firstly to LD and then to HD cosyntropin tests (tetracosactide, Synacthene®, NOVARTIS, France), at a 4-hour interval. Baseline cortisol was drawn before each test (BC1, BC2). After each test, cortisol concentrations were drawn at 30 and 60 minutes. The cosyntropin was diluted in 250 ml of saline. Then 1ml (1 ug of cosyntropin) was removed with a 1 ml syringe to perform the LD test. Four hours later another baseline cortisol was collected, the remaining solution (249 ug) was rapidly infused in a central venous catheter to perform the HD test. Cortisol variation (Δ cortisol) was defined as the difference between the peak cortisol (30 or 60 minutes) and baseline cortisol of each test. The decision

concerning steroid therapy after the cosyntropin test, and other therapeutic decisions were administered at the discretion of the patient's physician without researchers' influence.

Serum cortisol was performed by chemiluminescence. (Modular E-170, Roche)

The following variables were recorded: age, gender, admission category (clinical or surgical), source of infection, APACHE II score (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II) (42) and serum albumin. The patients were followed for 28 days to measure time of vasopressor therapy and mortality. Vasopressor withdrawal was defined as absence of vasopressor use for at least 24 hours.

STATISTICAL ANALYSIS

Statistical analyses were conducted using SPSS 11.0 statistical package software (SPSS Incorporation, Chicago, IL, USA). The results of continuous variables are expressed as the mean \pm standard deviation. The chi-square test was applied for categorical variables and Student t test for continuous variables. The relation of continuous variables was analyzed using the Spearman correlation test (r_s) Bland-Altman plot and ROC curve. Mortality was estimated by the Kaplan–Meier method and the results were compared between groups with the log-rank test. Mortality was also compared by the area under the receiver operating characteristic curve. Vasopressor withdrawal was estimated by the cumulative incidence analysis (45) and groups were compared by Cox proportional hazard to competing events (46). $p < 0.05$ was considered statistically significant. A sample size of 62 patients was needed to achieve a statistical power of 90% with maximum overall two-sided probability of significance level of 5% to estimated Spearman's correlation index of 0.4.

RESULTS

Seventy-four patients were included in the analysis. Fifty seven percent (57%) were male and 43% were female. Mean age was 62 ± 16 years. The APACHE score was 25.7 ± 8.5 . 53% were medical ICU admissions and 47% were surgical admissions. In 46% of admissions the source of infection was respiratory, in 42% the source was abdominal and in 12% others sources. Only 6 patients (8%) did not receive hydrocortisone and this decision was not related to cortisolemia or cosyntropin tests.

Mean albumin was 2.0 ± 0.5 g/dL and there was no difference in responders or non-responders to cosyntropin.

Mean baseline cortisol before the LD test (BC1) was 31.8 ± 20.3 $\mu\text{g/dL}$. Mean baseline cortisol before the HD test (BC2) was 30.3 ± 18.5 $\mu\text{g/dL}$. BC1 and BC2 were similar ($p=0.08$).

In our trial, only 24% (18/74) of the patients had $\Delta\text{cortisol}_{\text{HD}} \leq 9$ $\mu\text{g/dL}$. 49% (36/74) had $\Delta\text{cortisol}_{\text{LD}} \leq 9$ $\mu\text{g/dL}$.

Mean $\Delta\text{cortisol}_{\text{LD}}$ was 10.6 ± 7.5 $\mu\text{g/dL}$, while mean $\Delta\text{cortisol}_{\text{HD}}$ was 16.3 ± 10.1 $\mu\text{g/dL}$ ($p<0.05$). The variation was not related to baseline cortisol.

There is a moderate relation between Δ cortisol induced by LD and HD tests: ($r_s = 0,55$; CI 0,37-0,69) analyzing all the sample ($n=74$). When the analysis is limited to patients with $\text{BC} > 34\mu\text{g/dL}$ ($n=22$) the relation remains moderate ($r_s = 0.45$; CI 0.04-0.70). In those patients with BC between $10\mu\text{g/dL}$ and $34\mu\text{g/dL}$ ($n=50$) the correlation increases, $r_s =0.67$ (CI 0.49-0.80) FIGURE 1

The Bland- Altman graphic allow us to visualize the agreement between both tests, mainly in the population with BC between 10 ug/dL and 34 ug/dL . FIGURE 2

When a comparison is made assuming $\Delta\text{cortisol}_{\text{HD}} \leq 9$ $\mu\text{g/dL}$ as gold standard to CIRCI in all of the sample, the area under the receiver operating characteristic (ROC) curve is 0.72 (CI 0.59-0.86), the most accurate point being $\Delta\text{cortisol}_{\text{LD}}=7.3$ $\mu\text{g/dL}$ (sensitivity of 0.67; specificity of 0.71). There is reasonable accuracy from $\Delta\text{cortisol}_{\text{LD}}=5.9\mu\text{g/dL}$ (specificity of 0.8) to $\Delta\text{cortisol}_{\text{LD}}= 10.8$ $\mu\text{g/dL}$ (sensitivity of 0.89).

When the analysis is limited to patients with BC $10\text{-}34\mu\text{g/dL}$ the area under the ROC curve increases to 0.81 (CI=0.68-0.82), $\Delta\text{cortisol}_{\text{LD}}=7,5$ $\mu\text{g/dL}$ being the most accurate cutoff point. Among those patients with $\text{BC} > 34$ $\mu\text{g/dL}$ the area under the ROC curve falls to 0.5 (CI 0.33-0.88). FIGURE 3

It was not possible to analyze patients with $\text{BC} \leq 10$ $\mu\text{g/dL}$ because only 2.7% (2/74) of the patients had $\text{BC} \leq 10$ $\mu\text{g/dL}$.

The Δ cortisol induced by LD or HD did not reach a statistical difference between survivors and no-survivors. TABLE 1

Total mortality at day 28 was 57%. Mortality in non-responders to the HD test ($\Delta \leq 9$ $\mu\text{g/dL}$) was 61% and in responders it was 55% (log-Rank $P= 0,39$).

A similar result is observed when the LD test is used. When we used $\Delta\text{cortisol}_{\text{LD}} \leq 9$ $\mu\text{g/dL}$ to distinguish responders and non-responders, mortality in non-responders was 61% and in responders it was 53%(log-rank $P= 0.24$). When we tested

Δ cortisolLD $\leq 7,5$ $\mu\text{g/dL}$ as the cutoff point, the result was the same: mortality in non-responders was 61% and mortality in responders was 54% (log-rank $P= 0,28$). FIGURE 4

The area under ROC curve of Δ cortisol to identify mortality at day 28 was only 0,40 in the LD and 0.44 in the HD test in all of the population as well as in high or intermediate baseline cortisol. FIGURE 5

Employing cumulative incidence analysis to analyze vasopressor withdrawal there was no statistical difference between responders and non-responders in the HD test or LD test, as well as in different cutoff points for cortisol variation (9 $\mu\text{g/dL}$ or 7.5 $\mu\text{g/dL}$). Even so, the group of patients with smaller cortisol variation after the cortrosyn tests had vasopressor withdrawal between 47.1% and 48.2% while patients with higher cortisol variation had vasopressor withdrawal between 63.7% and 65.8%. FIGURE 6

DISCUSSION

To our knowledge this is one of the largest cohorts of septic shock patients submitted to LD and HD cosyntropin tests sequentially, allowing comparison of Δ cortisol induced by both tests. Although some trials (31, 32) employed both tests, they adopted intervals of only 1 hour between tests, not allowing cortisol to restore baseline pre test levels, evaluating peak cortisol induced by tests but making it impossible to evaluate Δ cortisol, which is usually considered the variable most related to adrenal function in critical care patents. The similarity of baseline cortisol before tests confirms previous observation, that 4 hours is a long enough interval for cortisol to return to baseline levels, being a good model for comparison of tests (34).

The comparison of both tests showed that absolute cortisol variation is different, regardless of baseline cortisol, being greater after the HD test. This result strengthens the evidence that higher doses of cosyntropin induce higher variation in cortisolemia even in septic shock patients.

Comparison of cortisol variation showed a moderate correlation ($r_s= 0.67$) among patients with baseline cortisol between 10-34 $\mu\text{g/dL}$, while this relation is only regular in patients with baseline cortisol $> 34\mu\text{g/dL}$ ($r_s= 0.45$). Similarly AUC ROC increases as it excludes from analysis patients with high baseline cortisol. The weaker correlation between tests among patients with high baseline cortisol (adequate to critical illness) corroborates the idea that Δ cortisol must be cautiously interpreted in patients

with high baseline cortisol. Also, our trial suggests that LD and HD tests behave similar in septic shock patients with intermediate baseline cortisol (10-34 $\mu\text{g/dL}$), a population in which we believe that stimulation tests are more important to define CIRCI, since low baseline cortisol ($\leq 10 \mu\text{g/dL}$) has a high specificity to diagnose CIRCI while high baseline cortisol ($> 34\mu\text{g/dL}$) has a high sensitivity.

An ideal test to diagnose CIRCI would allow evaluation of integrity of the HPA axis, as well as evaluation of glucocorticoid tissue resistance. How to evaluate tissue resistance is currently a matter of incipient research.

Supposedly, the LD test is superior to the HD test to evaluate integrity of the HPA axis, although a better understanding of the role of other components of the HPA axis (ACTH, AVP, HDL, steroidogenesis enzymes...) is needed to confirm this assumption.

Dissociation in Δ cortisol induced by different doses of cosyntropin in patients with baseline cortisol $> 34 \mu\text{g/dL}$ may be explained by the concept that such patients already have high baseline cortisol because they are already submitted to strong endogenous pituitary stimulation. In this way, 1 μg may not be an additional stimulation to the HPA axis but 250 μg of cosyntropin, that simulates supraphysiological doses of ACTH and directly stimulates the adrenals, may increase cortisol production.

Low prevalence of pituitary failure as a cause of adrenal failure may explain why supposed better accuracy of the 1 μg test is not evident when tests are compared in septic shock patients, since both tests seems to be similarly accurate to detect CIRCI when the failure is in the adrenal glands, which is what mostly occurs (34, 43).

Although the difference in mortality between responders and non-responders did not reach statistical difference, the difference shown in our trial is clinically relevant and similar to the difference in mortality observed in other trials (9, 10, 14) which proved that CIRCI relates to increased mortality in septic shock patients.

Many trials employed the HD cosyntropin test to identify HPA dysfunction in critical care patients. Our trial shows that the LD test has similar accuracy to the HD test to identify septic shock patients with increased risk of mortality, even when we adopted $\Delta\text{cortisol}_{LD} = 9.0 \mu\text{g/dL}$ or $\Delta\text{cortisol}_{HD} = 7.5 \mu\text{g/dL}$ as the cutoff point. The use of $\Delta\text{cortisol}_{LD} = 9.0 \mu\text{g/dL}$ to separate responders from non-responders, identified 49% of the population as non-responders against only 24% of non-responders to the HD test, showing that the LD test identifies a greater number of patients with higher mortality. It would be relevant to study whether this population decreases its mortality if submitted

to stress dose steroid therapy. Our trial was not designed to check this hypothesis, due to the small number of allocated patients to analyze this end point, almost universal use of hydrocortisone (92% of the patients) and because the research team did not influence steroid therapy.

In the trial that defined association between Δ cortisol after HD test and mortality in critical care patients, the area under ROC curve was 0.68 (5).

In our trial, neither test reached such a result (AUC ROC= 0.4). Our results showed that both tests were equally poor to discriminate survivors and non-survivors. Different characteristics in patients allocated to the trials may explain it. Two differences probably are central to explain this discrepancy. The first difference is the prevalence of adrenal failure, identified by Δ cortisol after a HD test that was 54% in Annane's trial (5), while in our trial it was only 24%. The greater prevalence of CIRCI in Ananne's trial increases positive pre test probability, increasing accuracy of the test. The second difference is the use of corticosteroids in 92% of patients in our trial against only 21% in Annane's trial. To accept this argument as the cause of the divergent result it is necessary to accept as true the controversial affirmation that steroids decrease mortality in patients with CIRCI.

Metanalysis agrees that steroid supplementation reduces time of shock (19, 36, 44, 52), and some authors understand that this is the clinical criterion that best relates to CIRCI.

Currently the papers that analyze vasopressor withdrawal employ the KM method (52). In the last decade the literature has been emphatic that this is not the best method to analyze competing events (47,48), which is the case of vasopressor withdrawal and death. KM censures in the same way patients who have become free of vasopressor and those that die using vasopressor (49), overestimating the effect of steroids on vasopressor withdrawal. To correct this bias, other methods usually designated *cumulative incidence analysis* or *actual analysis* have been employed. Although these techniques have already been employed by cardiac surgeons and oncologists, their use still is not widely disseminated among researchers of other areas (50,51).

This was the reason why we adopted cumulative incidence analysis to analyze the influence of cortisol variation after cortrosyn tests on vasopressor withdrawal, instead of KM. Description of this methodology can be found in Ludbrook and Royse (45). The log-rank test, employed with KM to compare groups, is not adequate for

cumulative incidence analysis. For this purpose we used Cox proportional hazard for competing events analysis, as presented by Putter, Fiocco e Geskus (46).

In our trial Δ cortisol after cosyntropin tests did not reach a statistical difference in time for vasopressor withdrawal between responders and non-responders independently of the test (LD or HD) or cutoff point employed. Because this was not the primary end point of this trial, the small number of allocated patients was insufficient to observe statistical significant difference (FIGURE 6). We believe that vasopressor withdrawal in CIRCI and after steroid therapy should be reevaluated employing cumulative incidence analysis, because KM overestimates vasopressor withdrawal.

Because 92% of our patients received hydrocortisone in spite of cortrosyn test results, it was not possible to compare vasopressor withdrawal between patients with and without steroid supplementation.

Conclusion

Currently there is divergence about steroid supplementation in septic shock patients and to answer this question we need a better identification of patients with HPA dysfunction in the ICU. We believe that cosyntropin tests can be very useful to identify these patients, mainly in the group of patients with baseline cortisol between 10-34 ug/dL. In “non-ICU” patients the 1 ug test is more accurate to diagnose adrenal failure, but its role in ICU patients is less clear. Our trial showed that cortisol variation induced by a LD test strongly correlates with cortisol variation induced by an HD test, and also that both tests have a similar performance in the identification of mortality and time to shock reversal in septic shock patients. The adoption of $\Delta = 9.0 \mu\text{g/dL}$ after an LD test as cutoff point to identify CIRCI identifies more patients with potential benefit of steroid supplementation than the usual criteria, $\Delta = 9.0 \mu\text{g/dL}$ after an HD test.

We also suggest that evaluation of vasopressor withdrawal, a competing event with death, should be done using cumulative incidence analysis instead of the Kaplan-Meier method.

REFERENCES

1. Prigent H, Maxime V, Annane D. Science review: mechanisms of impaired adrenal function in sepsis and molecular actions of glucocorticoids. *Crit Care* 2004 Aug; 8(4):243-52
2. Rothwell PM, Udwardia ZF, Lawler PG. Cortisol response to corticotropin and survival in septic shock. *Lancet* 1991. 337:582–583
3. Marik PE: The adrenal exhaustion syndrome in patients with liver disease. *Intensive Care Med* 2006. 32:275–280
4. Dimopoulou I, Stamoulis K, Ilias I, Tzanela M, Lyberopoulos P, Orfanos S, Armaganidis A, Theodorakopoulou M, Tsagarakis, S. A prospective study on adrenal cortex responses and outcome prediction in acute critical illness: results from a large cohort of 203 mixed ICU patients. *Intensive Care Med* 2007. Dec;33(12):2116-21
5. Annane D, Sébille V, Troché G, Raphaël JC, Gajdos P, Bellissant E. A 3-level prognostic classification in septic shock based on cortisol levels and cortisol response to corticotropin. *JAMA* 2000. Feb 23;283(8):1038-45
6. de Jong MFC, Beishuizen A, Spijkstra JJ, Groeneveld J. Relative adrenal insufficiency as a predictor of disease severity, mortality, and beneficial effects of corticosteroid treatment in septic shock. *Crit Care Med* 2007.35:1896–1903
7. Bollaert PE, Fieux F, Charpentier C, Levy B: Baseline cortisol levels, cortisol response to corticotropin, and prognosis in late septic shock. *Shock* 2003; 19:13–15
8. Goodman S, Sprung CL, Ziegler D, Weiss YG: Cortisol changes among patients with septic shock and the relationship to ICU and hospital stay. *Intensive Care Med* 2005; 31: 1362–1369
9. Annane D, Sebille V, Charpentier C, Bollaert PE, Francois B, Korach JM, Capellier G, Cohen Y, Azoulay E, Troche G, Chaumet-Riffaut P, Bellissant E: Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *JAMA* 2002; 288:862–871
10. Sprung CL, Annane D, Keh D, Moreno R, Singer M, Freivogel K, Weiss YG, Benbenishty J, Kalenka A, Forst H, Laterre PF, Reinhart K, Cuthbertson BH,

- Payen D, Briegel J; CORTICUS Study Group.: Hydrocortisone therapy for patients with septic shock. *N Engl J Med* 2008; 358:111–124
11. Bollaert PE, Charpentier C, Levy B, Debouverie M, Audibert G, Larcan A. Reversal of late septic shock with supraphysiologic doses of hydrocortisone. *Crit Care Med* 1998; 26:645–650
 12. Briegel J, Forst H, Haller M, Schelling G, Kilger E, Kuprat G, Hemmer B, Hummel T, Lenhart A, Heyduck M, Stoll C, Peter K. Stress doses of hydrocortisone reverse hyperdynamic septic shock: A prospective, randomized, double-blind, single-center study. *Crit Care Med* 1999; 27:723–732
 13. Chawla K, Kupfer Y, Tessler S: Hydrocortisone reverses refractory septic shock. *Crit Care Med* 1999; 27(Suppl):A33
 14. Oppert M, Schindler R, Husung C, Offermann K, Gräf KJ, Boenisch O, Barckow D, Frei U, Eckardt KU: Low-dose hydrocortisone improves shock reversal and reduces cytokine levels in early hyperdynamic septic shock. *Crit Care Med* 2005; 33:2457–2464
 15. Cicarelli DD, Vieira JE, Bensenor FEM: Early dexamethasone treatment for septic shock: a prospective randomized clinical trial. *São Paulo Med J* 2007; 125:237–241
 16. Yildiz O, Doganay M, Aygen B, Güven M, Keleştimur F, Tutuû A: Physiological dose steroid therapy in sepsis. *Crit Care* 2002;6(3): 251–9
 17. Tandan SM, Guleria R, Gupta N. Low dose steroids and adrenocortical insufficiency in septic shock: a double-blind randomised controlled trial from India. *Proceedings of the American Thoracic Society Meeting*. New York, NY: American Thoracic Society; 2005:A24.
 18. Huh JW, Lim CM, Koh Y: Effect of low doses of hydrocortisone in patient with septic shock and relative adrenal insufficiency: 3 days versus 7 days treatment. *Crit Care Med* 2007;34:A101
 19. Marik PE, Critical Illness-Related Corticosteroid Insufficiency. *CHEST* 2009; 135:181–193
 20. Arafah BM: Hypothalamic Pituitary Adrenal Function during Critical Illness: Limitations of Current Assessment Methods. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2006. 91(10):3725–3745

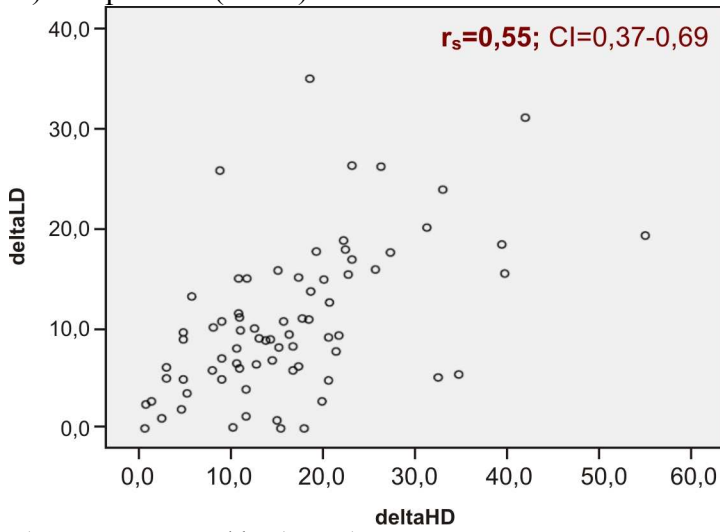
21. Annane D, Maxime V, Ibrahim F, Alvarez JC, Abe E, Boudou P: Diagnosis of adrenal insufficiency in severe sepsis and septic shock. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174:1319–1326
22. Máxime V, Lesur O, Annane D: Adrenal Insufficiency in Septic Shock. *Clin Chest Med* 2009. 30: 17–27
23. Zaloga GP, Marik P: Hypothalamic pituitary insufficiency. *Crit Care Clin* 2001.17: 25–41
24. Casartelli CH, Garcia PC, Branco RG, Piva JP, Einloft PR, Tasker RC. Adrenal response in children with septic shock. *Intensive Care Med* 2007. Sep;33(9):1609-13.
25. Cooper MS, Stewart PM: Corticosteroid Insufficiency in Acutely Ill Patients. *N Engl J Med* 2003.348:727-34
26. Pugeat M, Bonneton A, Perrot D, Rocle-Nicolas B, Lejeune H, Grenot C, Dechaud H, Brebant C, Motin J, Cuilleron CY: Decreased immunoreactivity and binding activity of corticosteroid binding globulin in serum in septic shock. *Clin Chem* 1989. 35:1675–1679
27. Dhillon WS, Kong WM, Le Roux CW, Alagband-Zadeh J, Jones J, Carter G, Mendoza N, Meeran K, O’Shea D: Cortisol-binding globulin is important in the interpretation of dynamic tests of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis. *European Journal of Endocrinology* 2002. 146 231–235
28. Hamrahian AH, Oseni TS, Arafah BM. Measurements of serum free cortisol in critically ill patients. *N Engl J Med* 2004; 350:1629–38
29. Arafah BM, Nishiyama FJ, Tlaygeh H, Hejal R.: Measurement of Salivary Cortisol Concentration in the Assessment of Adrenal Function in Critically Ill Subjects: A Surrogate Marker of the Circulating Free Cortisol; *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2007. 92(8):2965–2971
30. Kazlauskaitė R, Evans AT, Villabona CV, Abdu TA, Ambrosi B, Atkinson AB, Choi CH, Clayton RN, Courtney CH, Gonc EN, Maghnie M, Rose SR, Soule SG, Tordjman K; Consortium for Evaluation of Corticotropin Test in Hypothalamic-Pituitary Adrenal Insufficiency: Corticotropin tests for hypothalamic-pituitary- adrenal insufficiency: a metaanalysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2008. 93: 4245–4253, 2008
31. Marik PE, Zaloga GP: Adrenal insufficiency during septic shock. *Crit Care Med* 2003; 31:141–145

32. Salgado DR, Verdeal JCR, Rocco JR: Adrenal function testing in patients with septic shock. *Critical Care* 2006, 10:R149
33. Richards ML, Caplan RH, Wickus GG, Lambert PJ, Kiskin WA: The rapid low-dose (1 ug) cosyntropin test in the immediate postoperative period: Results in elderly subjects after major abdominal surgery. *Surgery* 1999;125:431-40
34. Siraux V, De Backer D, Yalavatti G, Mélot G, Gervy C, Mockel J, Vincent JL: Relative adrenal insufficiency in patients with septic shock: Comparison of low-dose and conventional corticotropin tests. *Crit Care Med* 2005; 33:2479–2486
35. Widmer IE, Puder JJ, König C, Pargger H, Zerkowski HR, Girard J, Müller B: Cortisol Response in Relation to the Severity of Stress and Illness. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2005. 90(8):4579–4586
36. Marik PE, Pastores SM, Annane D, Meduri GU, Sprung CL, Arlt W, Keh D, Briegel J, Beishuizen A, Dimopoulou I, Tsagarakis S, Singer M, Chrousos GP, Zaloga G, Bokhari F, Vogeser M: Recommendations for the diagnosis and management of corticosteroid insufficiency in critically ill adult patients: consensus statements from an international task force by the American College of Crit Care Med. *Crit Care Med* 2008; 36:1937–1949
37. Salluh JI, Soares M. New recommendations for the use of corticosteroids in sepsis: not so fast! *Crit Care Med* 2008. Aug;36(8):2489-90
38. Alaniz Cesar. *Arbor Ann. Hyzy Robert: Diagnosing adrenal insufficiency.* *Crit Care Med* 2008. 36(12), 3281-3282
39. Moraes RB, Czepielewski MA, Friedman G: Is the cortrosyn test necessary in high basal corticoid patients with septic shock? *Crit Care Med* 2009. 37(1):385-6
40. Casartelli CH, Garcia PC, Piva JP, Branco RG: Adrenal insufficiency in children with septic shock. *J Pediatr (Rio J)* 2003.(79) Suppl 2:S169-76.
41. ACCP/SCCM Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med* 1992; 20:864-74.
42. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE: APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 1985, 13:818-829
43. Schroeder S, Wichers M, Klingmüller D, Höfer M, Lehmann LE, von Spiegel T, Hering R, Putensen C, Hoefl A, Stüber F: The hypothalamic-pituitary-adrenal

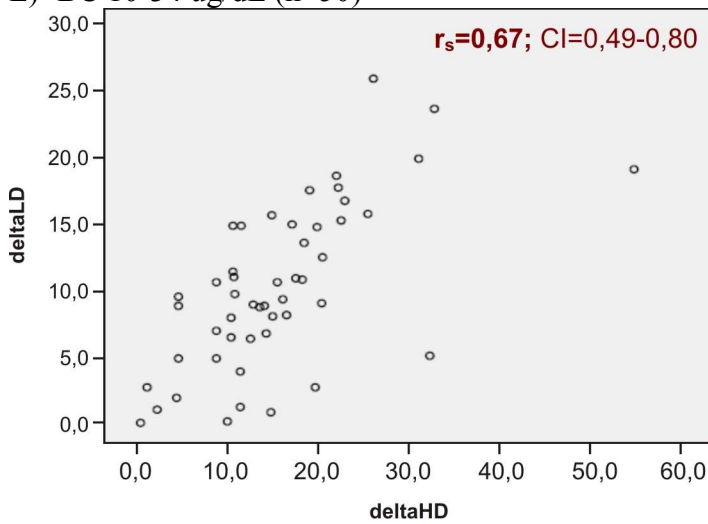
- axis of patients with severe sepsis: Altered response to corticotropin-releasing hormone. *Crit Care Med* 2001; 29:310–316
44. Richardson L, Hunter S: Is steroid therapy ever of benefit to patients in the intensive care unit going into septic shock. *Interact CardioVasc Thorac Surg* 2008;7:898-905
 45. Ludbrook J, Royse AG: Analyzing clinical studies: principles and pitfalls of Kaplan-Meier plots. *ANZ J. Surg* 2008; 78: 204–210
 46. Putter H, Fiocco M, Geskus RB: Tutorial in biostatistics: Competing risks and multi-state models. *Statist. Med* 2007; 26:2389–2430
 47. Wolkewitz M, Beyersmann J, Gastmeier P, Schumacher M: Modeling the effect of time-dependent exposure on intensive care unit mortality. *Intensive Care Med.* 2009 May;35(5):826-32
 48. S. Kaempchen S, Guenther T, Toschke M, Grunkemeier GL, M. Wottke M, Lange R: Assessing the benefit of biological valve prostheses: cumulative incidence (actual) vs. Kaplan–Meier (actuarial) analysis. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery* 2003. 23 710–714
 49. Bland JM, Altman DG: Time to event (survival) data. *BMJ* 1998;317;468-469
 50. Gary L. Grunkemeier GL, Wu Y: Interpretation of nonfatal events after cardiac surgery: Actual versus actuarial reporting. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001. Aug;122(2):216-9
 51. Satagopan JM, Ben-Porat L, Bernick M, Robson M, Kutler D, Auerback AD: A note on competing risks in survival data. *Br. J. Cancer* 2004; 91: 1224–35
 52. Annane D, Bellissant E, Bollaert P-E, et al. Corticosteroids in the treatment of severe sepsis and septic shock in adults: a systematic review. *JAMA.* 2009; 301(22):2362-2375

FIGURE 1: Correlation of cortisol variation induced by cortrosyn tests in low and high dose, in all patients and according to baseline cortisol

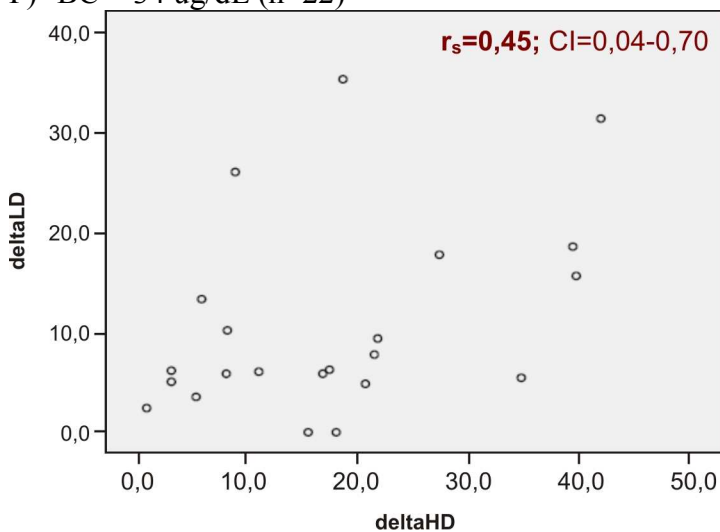
D) All patients (n= 74)



E) BC 10-34 ug/dL (n=50)



F) BC > 34 ug/dL (n=22)

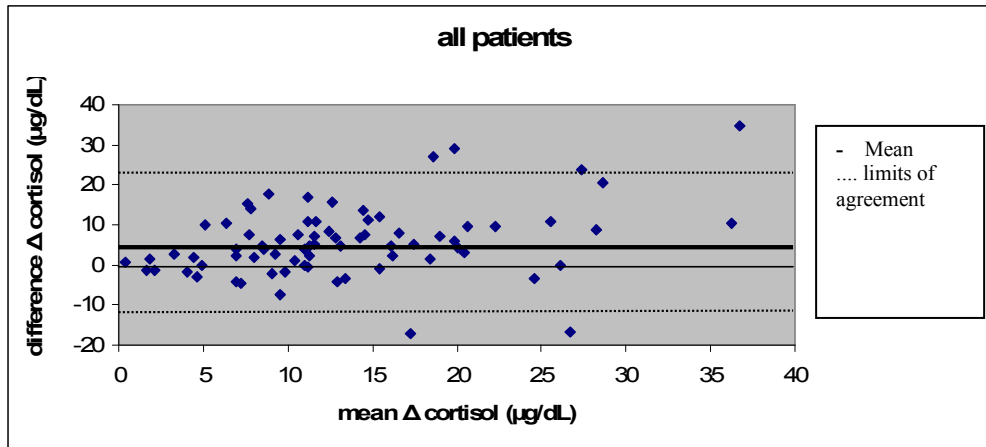


r_s = Spearman's correlation index; CI= confidence interval; BC= baseline cortisol; deltaLD= cortisol variation (ug/dL) after low dose test; deltaHD= cortisol variation (ug/dL) after high dose test

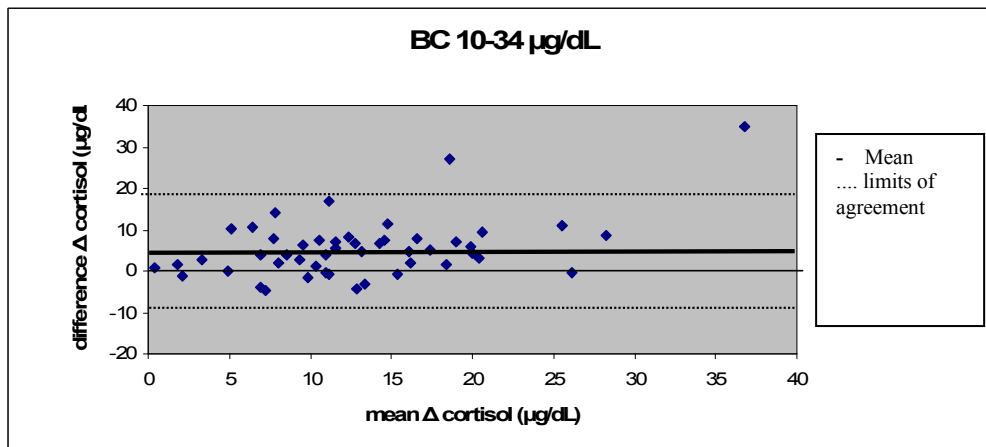
FIGURE 2: Bland-Altman graphics: relation between mean cortisol variation ($[\Delta LD + \Delta HD]/2$) induced by low and high dose cortrosyn tests and its difference ($\Delta HD - \Delta LD$) in all patients and according baseline cortisol

BC: baseline cortisol

A) all patients (n= 74)



B) BC 10- 34 $\mu\text{g/dL}$ (n=50)



C) BC > 34 $\mu\text{g/dL}$ (n=22)

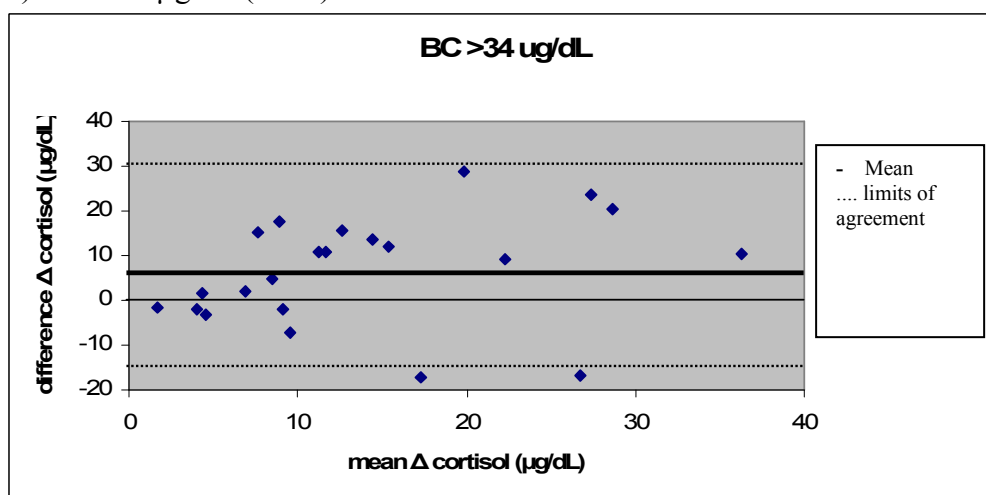
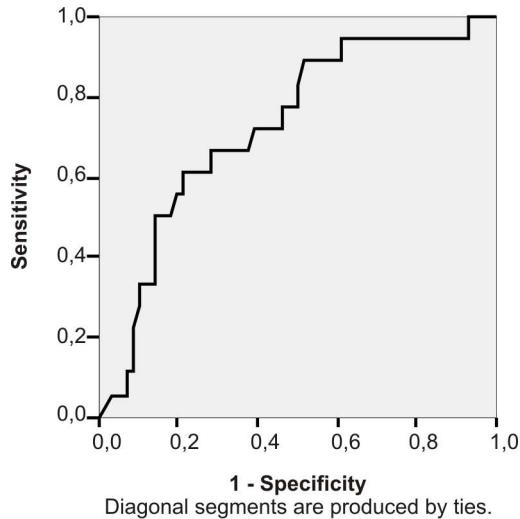
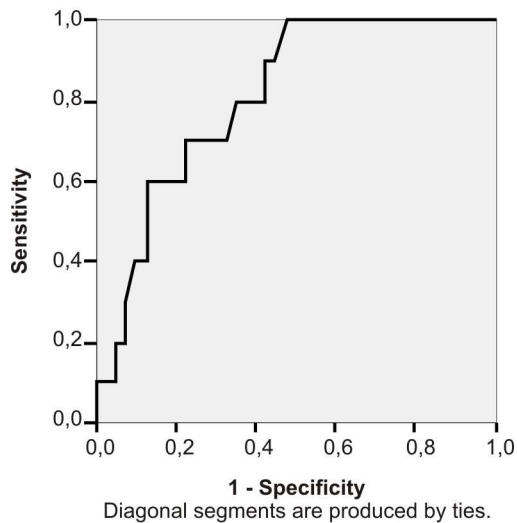


FIGURE 3: Comparison of low dose cortrosyn test (LD) through ROC curve to the reference Δ cortisol HD 9 ug/dL, in all patients and according baseline cortisol
BC: baseline cortisol; CI: confidence interval

A) All patients (n= 74) , **area under curve= 0,72**, CI 0,59-0,86
ROC Curve



B) BC 10-34 μ g/dL (n=50), **area under curve= 0,81**; CI 0,68-0,94
ROC Curve



C) BC > 34 μg/dL (n=22), **area under curve= 0,50**; CI 0,33-0,82

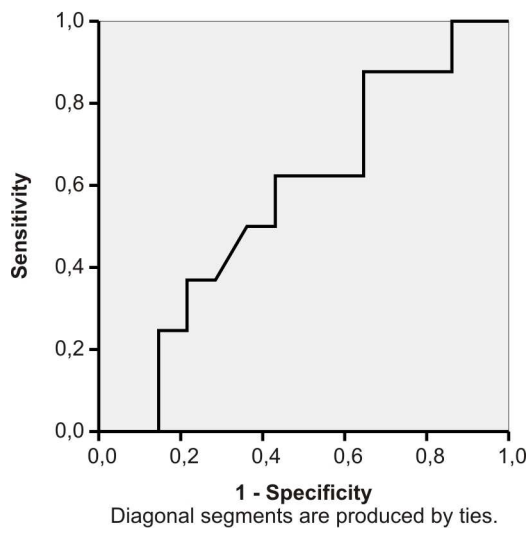
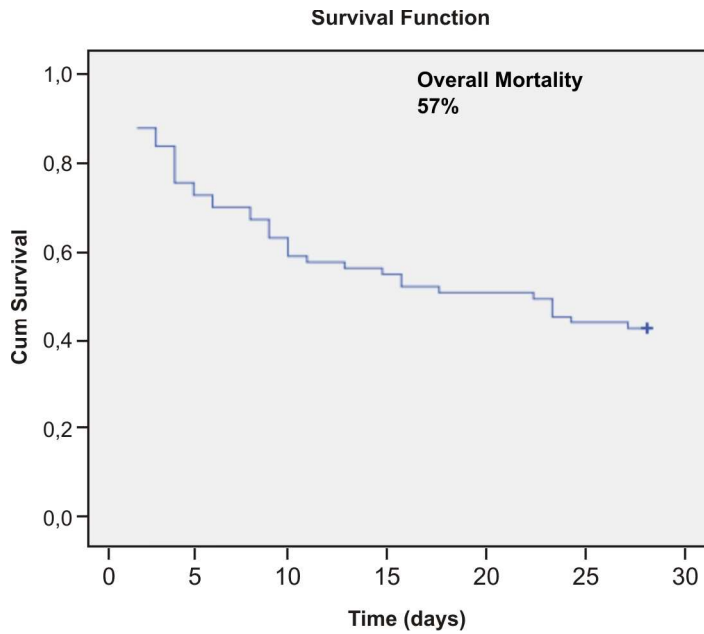


TABLE 1: Cortisol variation after low dose (Δ cortisolLD) and after high dose (Δ cortisolHD) cosyntropin tests in survivors and non-survivors

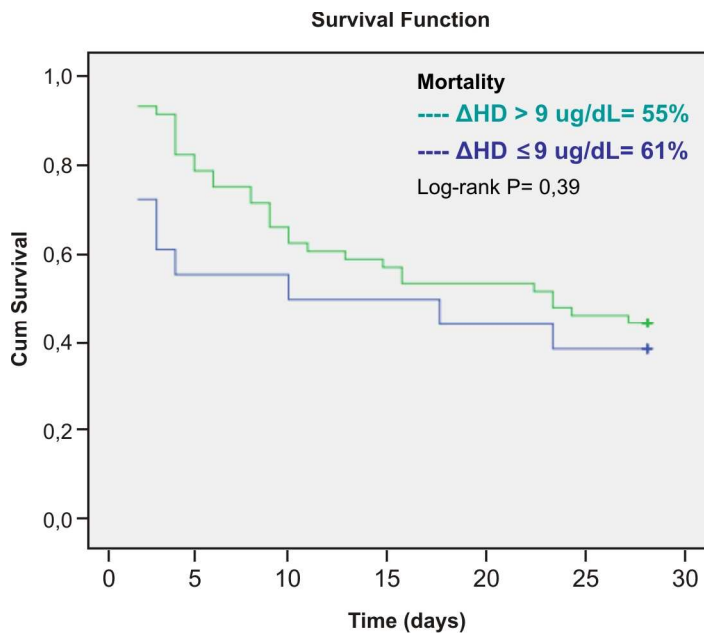
Mean ($\mu\text{g/dL}$)	Survivors	Non-suvivors	<i>p</i>
Δ cortisolLD	11,6 \pm 8	9,8 \pm 7,1	>0,05
Δ cortisolHD	17,3 \pm 10,9	15,4 \pm 9,5	>0,05

FIGURE 4: Kaplan-Meier curves: mortality at day 28 in all patients and according cortisol variation after cortrosyn tests in high dose (HD) and low dose (LD). In low dose test the cutoffs of 9 $\mu\text{g/dL}$ e 7,5 $\mu\text{g/dL}$ were analyzed.

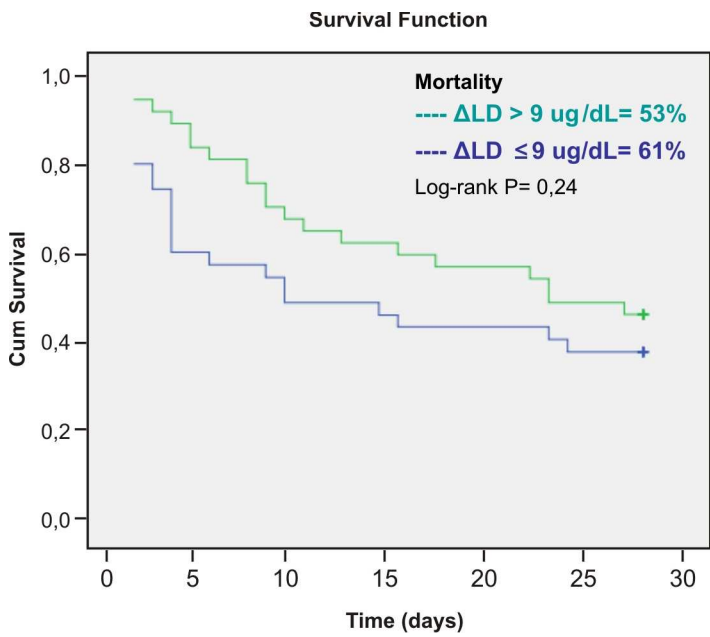
A) overall mortality



B) mortality according response to high dose cortrosyn test (ΔHD)



C) mortality according response to low dose cortrosyn test (Δ LD), cut point= 9 ug/dL



D) mortality according response to low dose cortrosyn test (Δ LD), cut point= 7,5 ug/dL

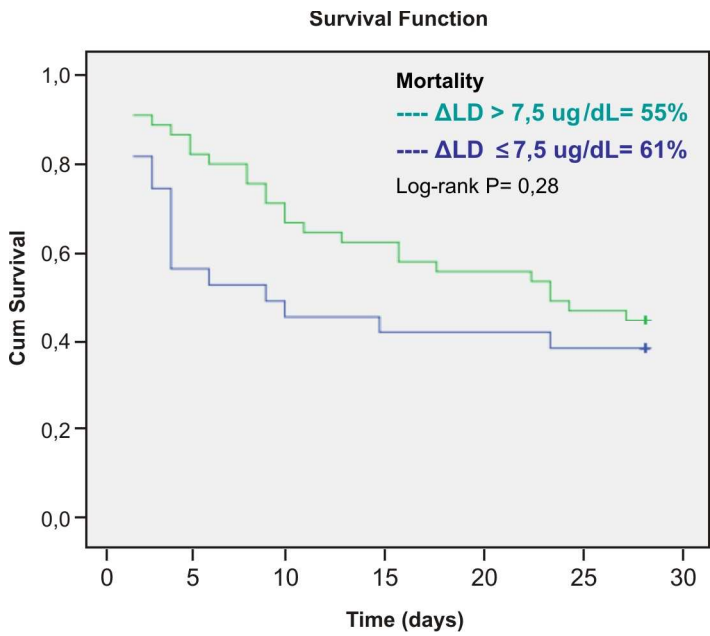
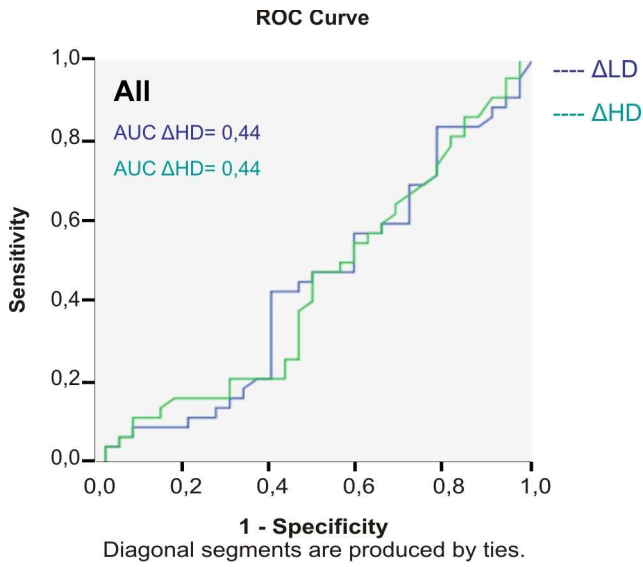
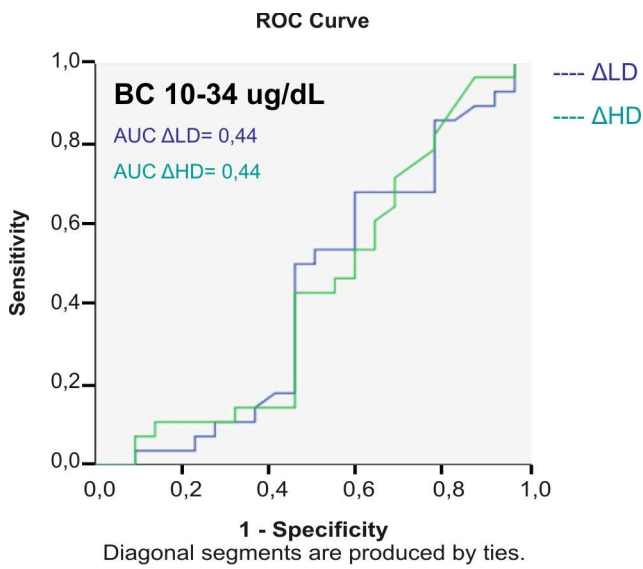


FIGURE 5: ROC curves: mortality at day 28 in low dose (Δ LD) and high dose (Δ HD) cortrosyn tests, according to baseline cortisol (BC); AUC: area under curve

A) All patients (n=74)



B) BC 10-34 ug/dL (n= 50)



C) BC >34 ug/dL (n=22)

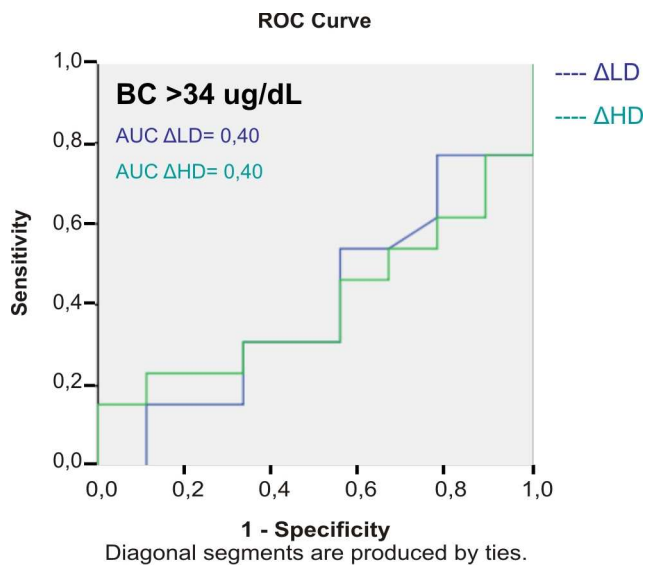
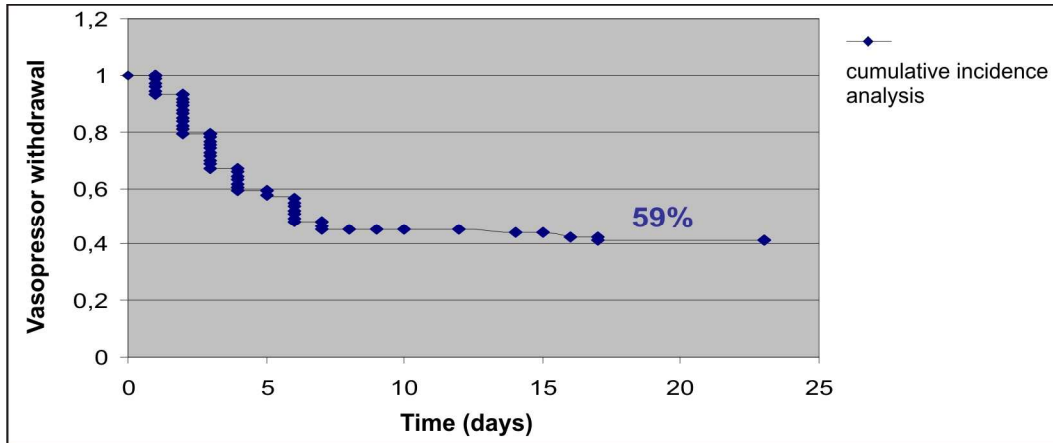
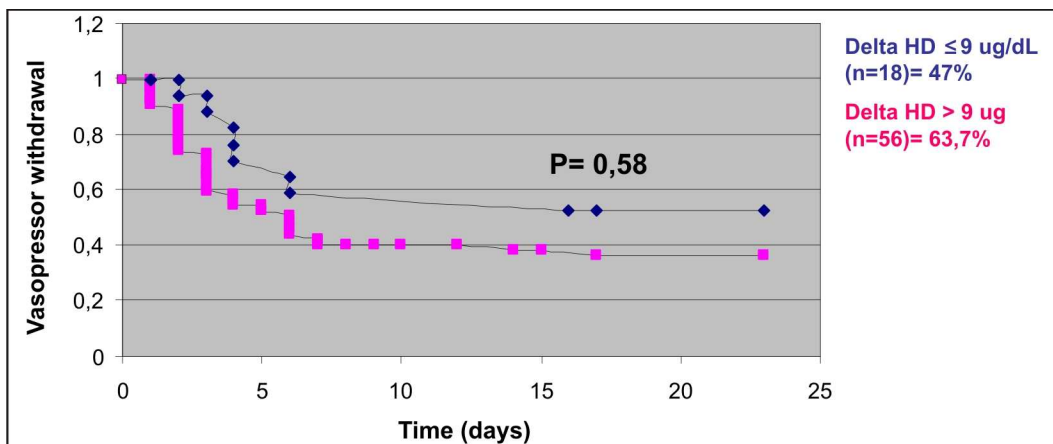


FIGURE 6: Vasopressor withdrawal according cortisol variation after high dose (HD) and low dose (LD) cortrosyn tests. In LD the cut points Δ LD 9ug/dL and Δ LD 7,5 ug/dL were evaluated.

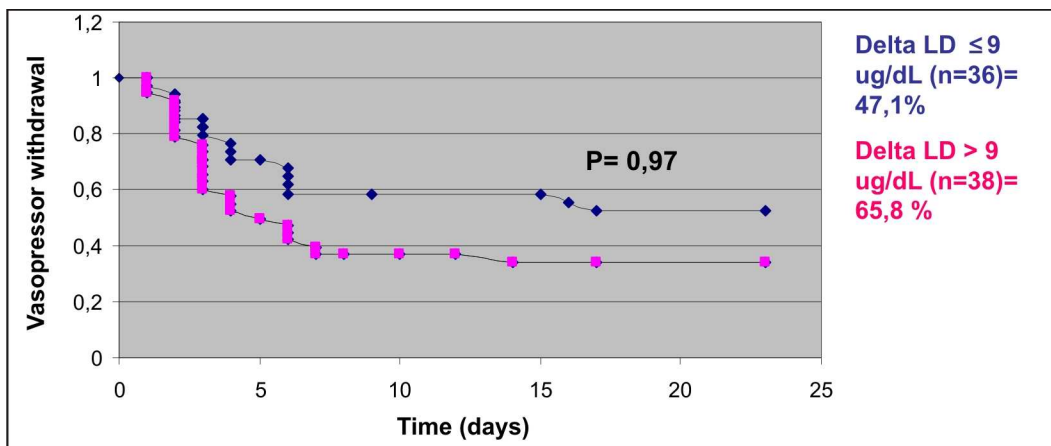
A) All patients



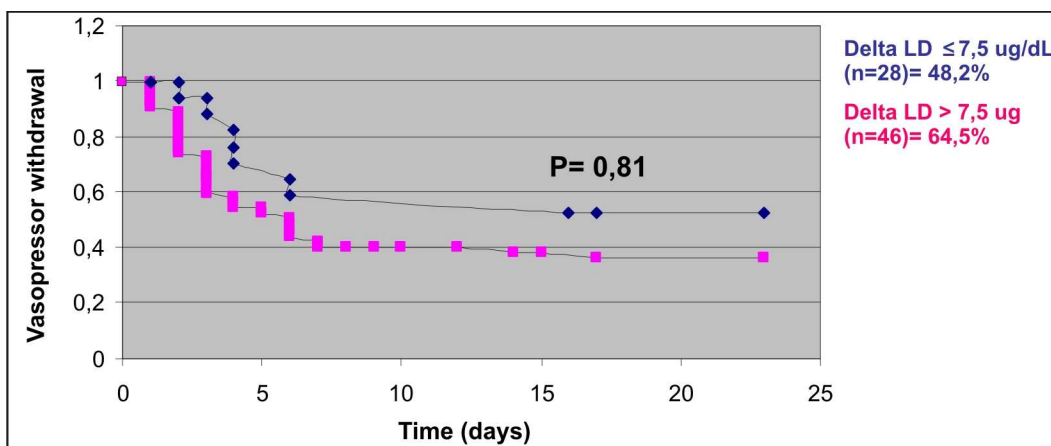
B) Δ HD > 9 ug/dL X Δ HD \leq 9 ug/dL



C) $\Delta LD > 9 \text{ ug/dL}$ X $\Delta LD \leq 9 \text{ ug/dL}$



D) $\Delta LD > 7,5 \text{ ug/dL}$ X $\Delta LD \leq 7,5 \text{ ug/dL}$



E) Overlap of curves

