

ВАЛИДНОСТ ТЕСТА КОРТИКОТРОПНИМ ОСЛОБАЂАЈУЋИМ ХОРМОНОМ (CRH) У ДИФЕРЕНЦИЈАЛНОЈ ДИЈАГНОЗИ КУШИНГОВОГ СИНДРОМА

[Зорана ПЕНЕЗИЋ], Милош ЖАРКОВИЋ, Светлана ВУЈОВИЋ, Миомира ИВОВИЋ, Биљана БЕЛЕСЛИН, Јасмина ЂИРИЋ, Милка ДРЕЗГИЋ

Институт за ендокринологију, дијабетес и болести метаболизма, Клинички центар Србије, Београд

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Диференцијална дијагноза Кушинговог (*Cushing*) синдрома (КС) и даље представља изазов у клиничкој ендокринологији. Више од 20 година тест кортикотропним ослобађајућим хормоном (CRH тест) се широко примењује у клиничкој пракси као искључиво диференцијалнодијагностички тест у којем већина болесника са тумором хипофизе који лучи АСТН на примену CRH одговара значајним скоком нивоа кортизола и АСТН, док се тај ефекат код ектопијског лучења АСТН среће веома ретко.

Циљ рада Циљ рада је био да се процени валидност CRH теста у диференцијалној дијагнози КС применом тзв. ROC (*receiver operating characteristic*) кривих.

Метод рада Испитивана група обухватила је 30 болесника код којих је дијагноза КС потврђена патохистолошким налазом и постоперационим испитивањем, а код којих је у оквиру дијагностичких поступака урађен CRH тест. Тумор хипофизе који лучи АСТН потврђен је код 18 испитаника, ектопијско лучење је дијагностиковано код три болесника, а аденом надбубрежне жлезде који лучи кортизол код девет испитаника. Узорци за одређивање кортизола и АСТН узимани су 15 минута пре (-15), непосредно после (0) и 15, 30, 45, 60, 90 и 120 минута после интравенске примене 100 μg овиног CRH. За одређивање кортизола и АСТН коришћен је RIA метод са комерцијалним китовима. Статистичка обрада података урађена је анализом ROC кривих. Болесници с ектопијским лучењем, с обзиром на то да их је било мало, искључени су из процене валидности теста применом ROC криве.

Резултати Према подгрупама испитаника са КС, основни ниво кортизола био је $1147,3 \pm 464,3$ према $1589,8 \pm 296,3$ према $839,2 \pm 405,6$ nmol/l ; највећи досегнути ниво кортизола био је $1680,3 \pm 735,5$ према $1749,0 \pm 386,6$ према $906,1 \pm 335,0$ nmol/l ; највеће повећање као проценат основне кортизолемије било је $49,1 \pm 36,9$ према $9,0 \pm 7,6$ према $16,7 \pm 37,3\%$. Основни ниво АСТН био је $100,9 \pm 85,0$ према $138,0 \pm 123,7$ према $4,8 \pm 4,3$ pg/ml , а највећи досегнути ниво АСТН $203,8 \pm 160,1$ према $288,0 \pm 189,5$ према $7,4 \pm 9,2$ pg/ml . Испитивањем валидности одређивања нивоа кортизола добијена површина испод ROC криве износила је $0,815 \pm 0,083$ (95-процентни интервал поверења био је $0,652-0,978$). Када се као диференцијалнодијагностичка вредност узме проценат повећања од 20%, сензитивност теста је 83%, док је специфичност теста 78%. Испитивањем валидности одређивања нивоа АСТН површина испод ROC криве износила је $0,637 \pm 0,142$ (95-процентни интервал поверења био је $0,359-0,916$). Када се као диференцијалнодијагностичка вредност узме проценат повећања од 30%, сензитивност теста је 70%, а специфичност 57%.

Закључак Одређивање нивоа кортизола и АСТН у CRH тесту показује сензитивност и специфичност која га сврстава у ред поузданих тестова у диференцијалној дијагнози КС.

Кључне речи: Кушингов синдром; CRH тест; ROC криве

УВОД

Кушингов (*Cushing*) синдром (КС) је мултисистемска болест која настаје као последица дејства повишене концентрације кортикостероида који доводе до промена, практично, свих органа и ткива, најчешће у директној пропорцији са дужином и степеном хиперкортицизма. Овај синдром се такође може дефинисати као скуп симптома и знакова насталих као резултат изложености свих ткива високим концентрацијама кортикостероида [1, 2]. Етиолошки хиперкортицизам може бити егзоген и ендеоген. Ендеогени КС се дели на две основне категорије: АСТН (адrenокортикотропни хормон) зависни КС (приближно 80%), који обухвата *Morbus Cushing* (MC) и ектопијско лучење АСТН, односно CRH (око 15%, односно <1%), и АСТН-независни КС (око 20%), који обухвата аденом надбубрежних жлезда (9%), карцином надбубрежних жлезда (8%) и микронодуларну (1%) и макронодуларну адреналну хиперплазију (<1%) [3]. Поред наведених, постоје нови, још непрецизно класификовани, облици КС, а то су: тумор интермедијарног лобуса, хиперплазија хипофизе, циклични КС, преклинички и супклинички КС и прекомерно лучење кортизола зави-

сно од гастроинтестиналног полипептида. Инциденција ендеогеног КС је 5-25 оболелих особа на милион становника за годину дана, док је данас већа учесталост егзогенног хиперкортицизма због широке терапијске примене глукокортикоида, АСТН и андрогена, али тачна инциденција није утврђена [4].

Дијагноза КС подразумева потврду аутономног ендеогеног прекомерног лучења кортизола и његово одвајање од стања хиперкортизолемије независне од КС, као што су [5]: утицај физичких стресора (операција, траума, вежбање, малнутриција), ментални стрес или психијатријски поремећај (болничко лечење, злоупотреба дроге или алкохола или апстиненција, хронична депресија, панични поремећаји, *anorexia nervosa*) и метаболички поремећаји (хипоталамусна аменореја, повишен кортизол-везујући глобулин – CBG, резистенција на глукокортикоиде, *diabetes mellitus*). Биохемијска дијагноза хиперкортицизма подразумева потврду [2, 3, 5-7] хроничног прекомерног лучења кортизола, изостанка дневног ритма лучења кортизола и изостанка супресије егзогенним стероидима. Дијагноза КС мора бити постављена пре започињања диференцијалнодијагностичких тестова, јер их је, у супротном, немогуће интерпретирати.

Диференцијална дијагноза подразумева разликовање *АСТН*-зависног од *АСТН*-независног *КС*, а затим, што је често већи проблем, одвајање хипофизног од ектопијског лучења *АСТН*. Поред одређивања нивоа *АСТН*, други коришћени диференцијалнодијагностички тестови су: тест супресије високим дозама дексаметазона, метирапонски тест, *СРН* стимулациони тест и тест са вазопресином. Још не постоји један, једноставан и неинвазиван тест, тако да се највећа прецизност постиже сетом тестова за процену различитих физиолошких одговора.

СРН је изолован и препознат 1981. године [8], откада се често користи у клиничкој пракси као искључиво диференцијалнодијагностички тест за одвајање питуитарног *КС* од ектопијског лучења *АСТН*. Већина болесника са тумором хипофизе који лучи *АСТН* на примену *СРН* одговара значајним скоком нивоа кортизола и *АСТН*, док се тај ефекат код болесника с ектопијским лучењем *АСТН* среће веома ретко [9-11]. Ова разлика у одговору сматра се последицом релативно веће експресије *СРН* рецептора на питуитарним туморима у односу на туморе с ектопијским лучењем. Препоручује се да се тест изводи у јутарњим сатима применом 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ или укупне дозе од 100 μg овиног или хуманог *СРН* [10]. Иако је одговор на хумани *СРН* квантитативно нешто нижи у односу на овини, претпоставља се, због везивања за *СВГ*, да нема битних разлика [12], мада је потребно извођење студија са већим бројем испитаника. Већина објављених података односи се на овини *СРН*, а последњих година доминира примена хуманог *СРН*. Тест се добро подноси, а нежељени ефекти могу бити црвенило лица и метални укус у устима. Одговор на стимулацију између питуитарног и ектопијског лучења *АСТН* разликује се, пре свега, у квантитативном, а не у квалитативном смислу, тако да је битан проценат одговора, а није важна апсолутна вредност у односу на основну.

У анализи 10 студија Кеј (*Kaye*) и Карпо (*Carmo*) [13] су сугерисали дијагностичке критеријуме, при чему се позитивним одговором (у смислу питуитарног тумора) сматра повећање нивоа *АСТН* од 50%, односно кортизола од 20% у односу на основну вредност. При овим критеријумима за одговор *АСТН* тест има сензитивност од 86%, а специфичност од 95%, док одговор кортизола има сензитивност од 91%, а специфичност од 95%. Померањем критеријума за повећање нивоа *АСТН* на 35% у односу на основну вредност постижу се сензитивност од 93% и специфичност од 100% [10]. Применом хуманог *СРН* показано је да повећање нивоа кортизола од најмање 14% у односу на основну вредност има сензитивност од 85% и стопостотну специфичност, док оптималан одговор *АСТН* повећањем нивоа од 105% у односу на основну вредност има сензитивност од свега 70%, уз такође стопостотну специфичност [14].

И даље не постоји консензус о критеријумима за тумачење одговора на *СРН* стимулацију [2]. Променљивост у интерпретацији зависи од тога да ли је коришћен овини или хумани *СРН*, од биохемијских параметара, као што је проценат повећања нивоа кортизола или *АСТН*, као и од времена у испитивању у којима је праћен одговор на стимулацију. Вероватно је најважнији фактор могућност да и тумори са ектопиј-

ским лучењем *АСТН* одговоре на *СРН*, због чега ни подизање критеријума за одговор тесту не може дати специфичност од 100%.

Поред низа наведених тестова, дијагноза и диференцијална дијагноза *КС* и даље представља један од највећих изазова у клиничкој ендокринологији. Диференцијална дијагноза *КС* се обавља у високоспецијализованим установама у којима се наметнула потреба да свака установа за себе одреди специфичност и сензитивност коришћених тестова.

ЦИЉ РАДА

Основни циљ овога рада је био да се процене сензитивност и специфичност *СРН* теста у диференцијалној дијагнози *КС*, те да се одреде вредности кортизола и *АСТН* у опсегу тачности најсигурније за доношење адекватног закључка.

МЕТОД РАДА

Испитивањем су обухваћени болесници код којих је у периоду 1994-2004. године дијагностикован *КС*. Дијагноза *КС* је консекутивно потврђена патохистолошким налазом и постоперационим испитивањем, а код болесника је у оквиру дијагностичких поступака урађен *СРН* тест. Испитивана група је обухватила 30 болесника – 23 жене и седам мушкараца.

СРН стимулациони тест је извођен у болничким условима најмање 72 часа по завршетку дексаметазон-супресивних тестова, интравенском применом 100 μg овиног *СРН* (*Ferring*). Узорци за одређивање нивоа кортизола и *АСТН* у серуму узимани су 15 минута пре (-15), непосредно после (0) и 15, 30, 45, 60, 90 и 120 минута после примене овиног *СРН*. Сви узорци су по стандардном поступку центрифугирани и замрзавани (-20°C) до тренутка мерења. С обзиром на то да је полуживот *АСТН* око 10 минута, узорци су узимани у охлађене епрувете припремљене са *EDTA*, одмах центрифугирани и замрзавани до мерења.

За одређивање нивоа кортизола у серуму коришћен је радиоимуноесеј метод (*RIA*), комерцијални кит произвођача (*ИНЕП*, Земун). Прецизност унутар теста била је 16,6%, а између тестова 5,9%. Референтне вредности за јутарње концентрације кортизола су 180-670 nmol/l , односно 80-300 nmol/l за вечерње. За одређивање нивоа *АСТН* у серуму коришћен је *RIA* метод, комерцијални кит произвођача (*CIS bio international, France*). Прецизност унутар теста била је 6,1%, а између тестова 5,3%. Референтне вредности за јутарње концентрације *АСТН* су 10-60 pg/ml .

Статистичка анализа података обављена је анализом тзв. *ROC* (*receiver operating characteristic*) кривих, на основу којих су процењене сензитивност и специфичност теста [15-17].

РЕЗУЛТАТИ

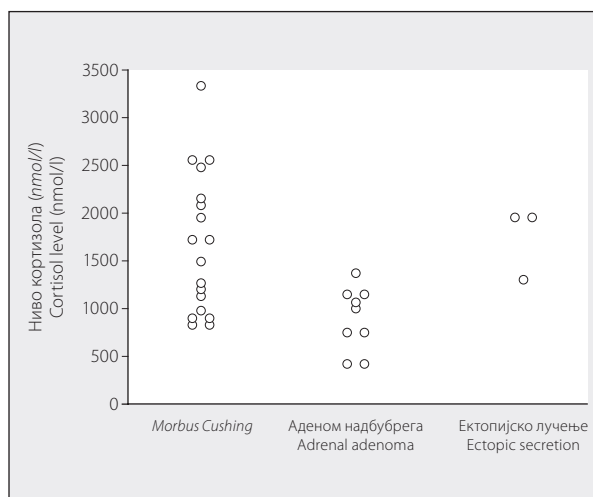
СРН тест је урађен код 18 болесника (14 жена и четири мушкараца) с аденомом хипофизе који лучи

АСТН, три болесника (једна жена и два мушкарца) с ектопијским лучењем АСТН и код девет болесника (осам жена и један мушкарац) с аденомом надбубрежне жлезде који лучи кортизол. Просечна старост у групи болесника с аденомом хипофизе који лучи АСТН била је $33,7 \pm 10,8$ година, а просечан индекс телесне масе (ИТМ) $28,7 \pm 4,1 \text{ kg/m}^2$; у групи с ектопијским лучењем АСТН просечна старост била је $38,3 \pm 8,1$ годину, а ИТМ $27,8 \pm 4,5 \text{ kg/m}^2$; у групи с аденомом надбубрега просечна старост била је $37,4 \pm 12,9$ година, а ИТМ $28,7 \pm 3,5 \text{ kg/m}^2$.

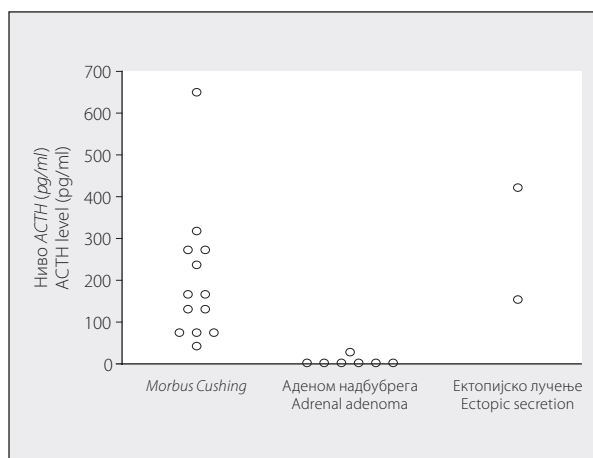
Посматрано по подгрупама испитаника са КС, основни ниво кортизола, највећи досегнути ниво кортизола и највеће повећање кортизола изражено као проценат основне кортизолемије приказани су у табели 1. Највећи стимулирани ниво кортизола по подгрупама приказан је на графикону 1. Основни ниво АСТН, највећи досегнути ниво АСТН и највеће повећање нивоа АСТН изражено као проценат основне вредности приказани су у табели 2. Највећи стимулирани ниво АСТН по подгрупама приказан је на графикону 2.

Због малог броја болесника с ектопијским лучењем, они су искључени из даље статистичке обраде, односно процене валидности теста применом ROC криве. Код ова три болесника одговор кортизола и АСТН у CRH тесту показивао је аплатирану криву у складу с критеријумима за дијагнозу.

Испитивањем валидности одређивања нивоа кортизола у CRH тесту (18 позитивних и девет негативних резултата) добијена површина испод ROC криве износила је $0,815 \pm 0,083$. Асиметрични 95-процентни интервал поверења (95% CI) био је 0,652-0,978. Добијена ROC крива за кортизол у CRH тесту приказана је на графикону 3. Када се као диференцијалнодијагностичка вредност узме проценат повећања од 20%, сензитивност теста је 83%, док је специфичност 78%. За највећи досегнути ниво кортизола од 890 nmol/l сензитивност теста је 89%, а специфичност 44%. Испити-



ГРАФИКОН 1. Највећи стимулирани ниво кортизола у CRH тесту.
GRAPH 1. Maximal stimulated cortisol in CRH test.



ГРАФИКОН 2. Највећи стимулирани ниво АСТН у CRH тесту.
GRAPH 2. Maximal stimulated ACTH in CRH test.

ТАБЕЛА 1. Одговор кортизола у CRH тесту.

TABLE 1. Cortisol response in CRH test.

Параметар Parameter	Основни ниво кортизола Basal cortisol level	Највећи стимулирани ниво кортизола Maximal stimulated cortisol	Процент основног нивоа кортизолемије Percent of basal cortisol level
Аденом хипофизе који лучи АСТН ACTH secreting pituitary adenoma	$1147.3 \pm 464.3 \text{ nmol/l}$	$1680.3 \pm 735.5 \text{ nmol/l}$	$49.1 \pm 36.9\%$
Ектопијско лучење АСТН Ectopic ACTH secretion	$1589.8 \pm 296.3 \text{ nmol/l}$	$1749.0 \pm 386.6 \text{ nmol/l}$	$9.0 \pm 7.6\%$
Аденом надбубрега који лучи кортизол Cortisol secreting adrenal adenoma	$839.2 \pm 405.6 \text{ nmol/l}$	$906.1 \pm 335.0 \text{ nmol/l}$	$16.7 \pm 37.3\%$

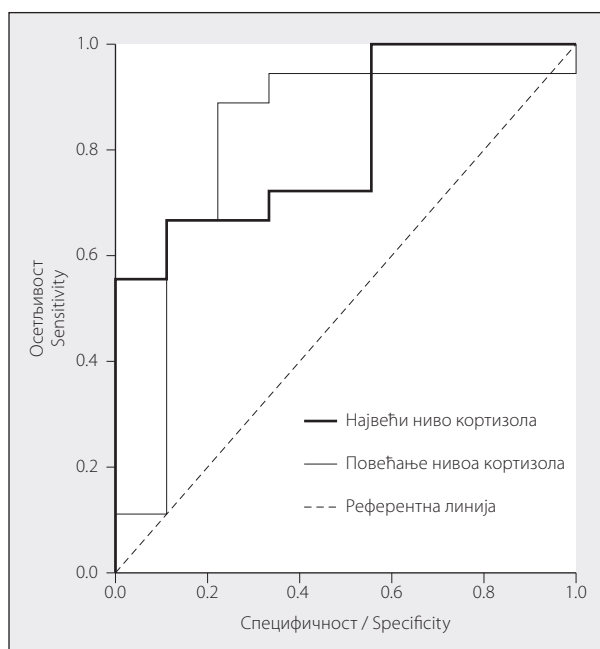
ТАБЕЛА 2. Одговор АСТН у CRH тесту.

TABLE 2. ACTH response in CRH test.

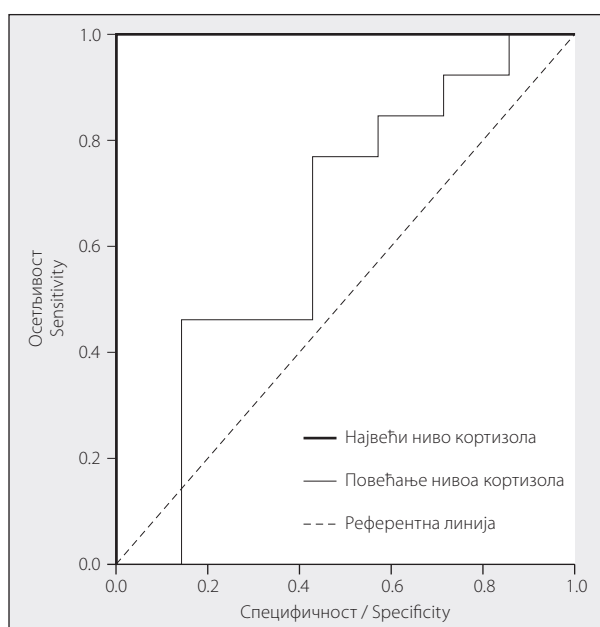
Параметар Parameter	Основни ниво АСТН Basal ACTH level	Највећи стимулирани ниво АСТН Maximal stimulated ACTH	Процент основног нивоа АСТН Percent of basal ACTH level
Аденом хипофизе који лучи АСТН ACTH secreting pituitary adenoma	$100.9 \pm 85.0 \text{ pg/ml}$	$203.8 \pm 160.1 \text{ pg/ml}$	$210.9 \pm 336.8\%$
Ектопијско лучење АСТН Ectopic ACTH secretion	$138.0 \pm 123.7 \text{ pg/ml}$	$288.0 \pm 189.5 \text{ pg/ml}$	$146.1 \pm 83.0\%$
Аденом надбубрега који лучи кортизол Cortisol secreting adrenal adenoma	$4.8 \pm 4.3 \text{ pg/ml}$	$7.4 \pm 9.2 \text{ pg/ml}$	$242.1 \pm 108.5\%$

ДИСКУСИЈА

вањем валидности одређивања нивоа *ACTH* у *CRH* тесту (13 позитивних и седам негативних резултата) добијена површина испод *ROC* криве за повећање нивоа *ACTH* у односу на основни износила је $0,637 \pm 0,142$ (95% *CI* је био 0,359-0,916). За повећање нивоа *ACTH* од 30% у односу на основну вредност сензитивност теста је 70%, а специфичност 57%, али је статистичка значајност овог резултата условљена структуром контролне групе. Површина испод *ROC* криве за највећи стимулисани *ACTH* била је 1,0. За највећи досегнути ниво *ACTH* од 60 pg/ml сензитивност теста је 93%, а специфичност 100%. Добијена *ROC* крива за *ACTH* у *CRH* тесту приказана је на графикану 4.



ГРАФИКОН 3. *ROC* крива за кортизол у *CRH* тесту.
GRAPH 3. *ROC* curve for cortisol in *CRH* test.



ГРАФИКОН 4. *ROC* крива за *ACTH* у *CRH* тесту.
GRAPH 4. *ROC* curve for *ACTH* in *CRH* test.

Кушингов синдром представља посебан и деликатан дијагностички приступ за ендокринолога. Упркос бројним могућностима, често није могуће брзо и лако поставити дијагнозу овог обољења, а модификацијом постојећих тестова, увођењем нових и померањем критеријума створена је још већа конфузија у том погледу. Са новим сазнањима о механизму настанка тумора и контроли лучења хормона у њима налазимо и објашњења за ову сложеност у дијагностиковању КС. Иницијални биохемијски тестови су тестови високе сензитивности, а дијагноза се затим потврђује тестовима високе специфичности, што се сматра прихватљивим ризиком с обзиром на то да би тестови високе специфичности а ниске сензитивности неизбежно „пропустили” болеснике са блажим обликом КС. Још не постоји консензус који тест користити и који су критеријуми, тако да се у пракси дијагноза потврђује њиховом комбинацијом [2, 18]. Додатни проблем је ниска преваленција КС, због чега су тестови проблематични упркос њиховој високој сензитивности и специфичности. Такође, дијагностичка тачност односи се само на стање активне и одржаване хиперкортизолемије, што значи да код тзв. цикличног КС, који одликује интермитентна ендогена хиперкортизолемија, дијагноза може бити постављена само у стањима активног хиперкортицизма, када и важе наведени критеријуми. Дијагностички критеријуми зависе и од метода који се користе, тако да сваки тест захтева проверу у лабораторији, а препоручује се и регионална и национална контрола квалитета.

Диференцијална дијагноза подразумева утврђивање прецизне етиологије КС, првенствено да ли је реч о *ACTH*-зависном или *ACTH*-независном КС, а затим о којој етиолошкој подгрупи КС је реч. Диференцијалнодијагностички поступци предузимају се тек када је неспорно потврђен ендогени хиперкортицизам. *CRH* стимулациони тест се широко примењује у клиничкој пракси као искључиво диференцијалнодијагностички тест. Већина болесника са тумором хипофизе који лучи *ACTH* на примену *CRH* одговара значајним повећањем нивоа кортизола и *ACTH*, док се тај ефекат код болесника с ектопијским лучењем *ACTH* среће веома ретко [9-11]. Ова разлика у одговору сматра се последицом релативно веће експресије *CRH* рецептора на питуитарним туморима у односу на туморе с ектопијским лучењем. Одговор на стимулацију између питуитарног и ектопијског лучења *ACTH* разликује се, пре свега, у квантитативном, а не у квалитативном смислу, тако да је битан проценат одговора а није важна апсолутна вредност у односу на основну.

Већ је поменуто да су Кеј и Карпо [13] 1990. године сугерисали критеријуме за дијагнозу КС, при чему се позитивним одговором, у смислу питуитарног тумора, сматрало повећање нивоа *ACTH* од 50%, односно кортизола од 20% у односу на основну вредност. При овим критеријумима за одговор *ACTH* тест има сензитивност од 86%, а специфичност од 95%, док одговор кортизола има сензитивност од 91%, а специфичност од 95%. Померањем критеријума за повећање вредности *ACTH* на 35% у односу на основне постиже се сензитивност од 93% и специфичност од 100%

[10]. И поред овако импресивних бројева, број лажно негативних резултата од скоро 10% за *МС* у контексту да је априори вероватноћа *МС* 80-90% упућује на то да, нажалост, ни *CRH* стимулациони тест није идеално оруђе у диференцијалној дијагнози *КС* [18]. Касније студије су показале да је његова дијагностичка прецизност 85-90% [19].

Занимљиви су и резултати италијанске студије [20], која је обухватила 158 болесника са *МС*, 13 с ектопијским лучењем и 41 болесника са *АСТН*-независним *КС*. Повећање нивоа *АСТН* од најмање 50% позитивно је препознала 85% болесника са *КС*, док ниједан оболели испитаник са ектопијским лучењем *АСТН* није одговорио, независно од метода којим је одређиван ниво *АСТН*. Критеријум за повећање нивоа кортизола од 50% у односу на основну вредност показао се као најбољи, при чему је код свих болесника с ектопијским лучењем или *АСТН*-независним *КС*, изузев код једног, постављена тачна дијагноза, али је код 41% болесника са *МС* резултат био лажно негативан. Спуштањем критеријума за повећање нивоа кортизола на 20%, сензитивност је са 59% подигнута на 78%, али је специфичност са 92% пала на 58%. Каснија детаљна анализа *CRH* теста [21] узела је у обзир модалитете извођења теста, затим да ли је за одређивање *АСТН* коришћен *RIA* или имунорадиометријски (*IRMA*) метод, као и да ли је коришћен овини или хумани *CRH*. Показало се да нема разлике у одговору *АСТН* на *CRH* стимулацију било да је одређиван *RIA* или *IRMA* методом. Такође је показано да се и овиним и хуманим *CRH* остварује иста дијагностичка прецизност (86% према 87%) када је реч о одговору *АСТН* на стимулацију, док је код одговора кортизола забележен значајно виши скок на овини у односу на хумани *CRH* (71% према 49%). Утврђена је и значајна негативна корелација између основне кортизолемије и одговора кортизола и *АСТН* на *CRH* стимулацију, што указује на одржавање негативне повратне спреге код болесника са *МС*. Поређењем поузданости *CRH* теста са високодозним дексаметазон-супресионим тестом као стандардом у диференцијалној дијагнози *КС* [22], коректна дијагноза је постављена код 86,5% болесника применом *CRH* теста, насупротив само 73% у претходном тесту. Занимљиво је да је комбинована интерпретација ова два теста упућивала на коректну дијагнозу у значајно мањем проценту у односу на изоловано тумачење *CRH* теста.

У студији из 2002. године на групи од 115 болесника са *АСТН*-зависним *КС* Њувел-Прајс (*Newell-Price*) и сарадници [14] сугеришу дијагностичке критеријуме за тест са хуманим *CRH*, при чему се позитивним одговором, у смислу питуитарног тумора, сматра повећање нивоа кортизола од 14% у односу на основну вредност, са сензитивношћу од 85% и специфичношћу од 100%. У исто време, у овој студији, оптимално повећање нивоа *АСТН* у односу на основну вредност је 105%, са сензитивношћу од само 70% и специфичношћу од 100%.

Резултати наше студије са овиним *CRH* и *RIA* методом показују да, када се као дијагностичка вредност узме повећање нивоа кортизола за 20% у односу на основну, сензитивност теста је 83%, а специфичност 78%. Када се као дијагностичка вредност узме пове-

ћање нивоа *АСТН* од 30% у односу на основну, сензитивност теста је 70%, а специфичност 57%. Добијени резултати су у складу с резултатима италијанске студије, а показују нижу специфичност и сензитивност у односу на друге наведене студије. Свакако да мали број болесника код којих је урађен тест (18 са аденомом хипофизе који лучи *АСТН*) утиче на овакве резултате и да је потребна провера дијагностичке вредности овог теста на већем броју испитаника. Такође је потребно поменути одлике контролне групе, која је обухватила девет болесника с аденомом надбубрега који лучи кортизол. Идеална контролна група подразумевала би испитанике с ектопијским лучењем *АСТН*, што, нажалост, није било изводљиво. Подобност наше контролне групе може се образложити чињеницом да и код аденома надбубрега постоји максимална супресија нормалних кортикотрофа периферном хиперкортизолемијом као и код ектопијског лучења *АСТН*, а насупротив делимично очуваном одговору хипофизе који постоји код аденома хипофизе који лучи *АСТН*. Међутим, структура контролне групе, односно супресиован ниво *АСТН* условљавају статистичку значајност повећања нивоа *АСТН* израженог у процентима основне вредности.

Вазопресин такође стимулише ослобађање *АСТН* и нарочито потенцира ослобађајући ефекат *CRH*. Табарин (*Tabarin*) и сарадници [23] су показали да *CRH* има већу дискриминациону вредност, а када се узму у обзир и многи нежељени ефекти вазопресина, овај тест се може сматрати инфериорним у односу на *CRH* тест. Ни примена синтетског аналога дезмопресина није дала боље резултате. Комбинацијом података неколико објављених истраживања добијено је да одређивање кортизола има сензитивност од 84% и специфичност од 83%, док одговор *АСТН* има сензитивност од 77% и специфичност од 73% [3]. У последње време се користи и тест са комбинацијом *CRH* и дезмопресина, при чему се наводи сензитивност и специфичност теста од 100% [24], али, свакако, остаје потреба да се овај резултат провери на великим серијама испитаника. Наша искуства са вазопресинским тестом своде се на неколико испитаника, из чега се, и поред појединачно добрих резултата, не може извести закључак о вредности теста. Било би препоручљиво у праксу увести комбинацију *CRH* и дезмопресина, посебно због одређеног процента болесника са тумором хипофизе који лучи *АСТН* који не одговарају на стимулацију *CRH*.

Основне одлике доброг теста су да је позитиван код оболелих особа и негативан код здравих, при чему сензитивност представља проценат позитивних резултата код оболелог дела испитиване популације, а специфичност проценат негативних налаза у здравом делу испитиване популације [16]. Одговор на задате захтеве даје анализа *ROC* криве, на којој су графички приказане сензитивност и специфичност [17]. Крива идеалног теста увек има стопроцентну сензитивност и специфичност, а представљена је линијом која је паралелна са *x*-осом; крива безвредног теста заклапа угао од 45 са *x*-осом, што значи да се крива реалног теста налази у подручју ограниченом овим кривама. Најчешћи квантитативни индекс којим се описује *ROC* крива је површина под кривом, односно ме-

ра ефикасности теста, што значи да идеалан тест има највећу површину – 1, безвредан тест најмању – 0,5, а реалан тест је између те две вредности. Према потребама теста, довољно је израчунати сензитивност или специфичност за сваки ниво теста, а затим одабрати оптималну вредност, што омогућава анализа ROC криве [25].

ЗАКЉУЧАК

Кушингов синдром било које етиологије јесте стање које витално угрожава болесника, значајно повећавајући морбидитет и mortalитет оболелих особа. Потребно је уложити све постојеће могућности како би дијагностички и диференцијалнодијагностички тестови били што прецизнији и тиме омогућили адекватно лечење. Неопходно је наставити са истраживањем, проценом постојећих тестова и евентуалном корекцијом, као и увођењем нових, у нади да је могуће остварити циљ, а то је тест чија је дијагностичка тачност 100%. Одређивање нивоа кортизола и АСТН у CRH тесту показује сензитивност и специфичност које га сврставају у ред поузданих тестова у диференцијалној дијагнози КС. Када су резултати тестова несагласни, и даље се препоручује обострано истовремено узимање узорака петрозних синуса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Yanovski JA, Cutler GB Jr. Glucocorticoid action and the clinical features of Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab Clin N Am* 1994; 23:487-509.
2. Arinaldi G, Angeli A, Atkinson AB, et al. Diagnosis and complications of Cushing's syndrome: A consensus statement. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:5593-602.
3. Newell-Price J, Trainer P, Besser M, Grossman A. The diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome and Pseudo-Cushing's states. *Endocr Rev* 1998; 19:647-72.
4. Ross NS. Epidemiology of Cushing's syndrome and subclinical disease. *Endocrinol Metab Clin N Am* 1994; 23:539-46.
5. Meier CA, Biller BMK. Clinical and biochemical evaluation of Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab Clin N Am* 1997; 26:741-62.
6. Trainer PJ, Grossman A. The diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome. *Clin Endocrinol* 1994; 34:317-30.
7. Boscaro M, Barzon L, Fallo F, Sonino N. Cushing's syndrome. *Lancet* 2001; 357:783-91.
8. Vale W, Spiess J, Rivier C, Rivier J. Characterization of 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and beta-endorphin. *Science* 1981; 213:1394-7.
9. Gold PW, Loriaux DL, Roy A, et al. Responses to corticotropin-releasing hormone in the hypercortisolism of depression and Cushing's disease. Pathophysiological and diagnostic implications. *N Engl J Med* 1986; 314:1329-35.
10. Nieman LK, Oldfield EH, Wasley R, Chrousos GR, Loriaux DL, Cutler GB Jr. A simplified morning ovine corticotropin-releasing-hormone stimulation test for the differential diagnosis of adrenocorticotropin-dependant Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77:1308-12.
11. Dickstein G, DeBold CR, Gaitan D, et al. Plasma corticotropin and cortisol responses to ovine corticotropin-releasing hormone (CRH), arginine vasopressin (AVP), CRH plus AVP, and CRH plus metyrapone in patients with Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:2934-41.
12. Trainer PJ, Faria M, Newell-Price J, et al. A comparison of the effects of human and ovine corticotropin-releasing hormone on the pituitary-adrenal axis. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80:412-7.
13. Kaye TB, Carpo L. The Cushing's syndrome: an update on diagnostic tests. *Ann Intern Med* 1990; 112:434-44.
14. Newell-Price J, Morris DG, Drake WM, et al. Optimal response criteria for the human CRH test in the differential diagnosis of ACTH-dependent Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:1640-5.
15. Kraemer HC. Evaluating medical tests. Newbury Park: Sage; 1992.
16. Henderson RA. Assessing test accuracy and its clinical consequences: a primer for receiver operating characteristic curve analysis. *Ann Clin Biochem* 1993; 30:521-39.
17. Hanley JA, McNeil BJ. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. *Radiology* 1982; 143:29-36.
18. Ross RJM, Trainer PJ. Endocrine investigation: Cushing's syndrome. *Clin Endocrinol* 1998; 49:153-5.
19. Findling JW, Raff H. Newer diagnostic techniques and problems in Cushing's disease. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1999; 28:191-210.
20. Invitti C, Pecori Giralardi F, de Martin M, Cavagnini, F, and the Study group of the Italian Society of Endocrinology of the Pathophysiology of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis. Diagnosis and management of Cushing's syndrome: Results of an Italian multicentre study. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:440-8.
21. Pecori Giralardi F, Invitti C, Cavagnini F, and the Study group of the Italian Society of Endocrinology of the Pathophysiology of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis. The corticotrophin-releasing hormone test in the diagnosis of ACTH-dependent Cushing's syndrome: A reappraisal. *Clin Endocrinol* 2001; 54:601-7.
22. Reimondo G, Paccotti P, Minetto M, et al. The corticotrophin-releasing hormone test is the most reliable noninvasive method to differentiate pituitary from ectopic ACTH secretion in Cushing's syndrome. *Clin Endocrinol* 2003; 58:718-24.
23. Tabarin A, San Galli F, Dezou S, et al. The corticotropin-releasing factor test in the differential diagnosis of Cushing's syndrome: a comparison with lysine-vasopressin test. *Acta Endocrinol* 1990; 123:331-8.
24. Newell-Price J, Perry L, Medbak S, et al. A combined test using desmopressin and corticotropin-releasing hormone in the differential diagnosis of Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:176-81.
25. Barry HC, Ebell MH. Test characteristics and decision rules. *Endocrinol Metab Clin N Am* 1997; 26:45-65.

THE VALUE OF CORTICOTROPIN-RELEASING HORMONE (CRH) TEST FOR DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF CUSHING'S SYNDROME

Zorana PENEZIĆ, Miloš ŽARKOVIĆ, Svetlana VUJOVIĆ, Miomira IVOVIĆ,
Biljana BELESLIN, Jasmina ĆIRIĆ, Milka DREZGIĆ

Institute of Endocrinology, Diabetes and Metabolic Disorders, Clinical Center of Serbia, Belgrade

Introduction Diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome (CS) remain considerable challenge in endocrinology. For more than 20 years, CRH has been widely used as differential diagnostic test. Following the CRH administration, the majority of patients with ACTH secreting pituitary adenoma show a significant rise of plasma cortisol and ACTH, whereas those with ectopic ACTH secretion characteristically do not.

Objective The aim of our study was to assess the value of CRF test for differential diagnosis of CS using the ROC (receiver operating characteristic) curve method.

Method A total of 30 patients with CS verified by pathological examination and postoperative testing were evaluated. CRH test was performed within diagnostic procedures. ACTH secreting pituitary adenoma was found in 18, ectopic ACTH secretion in 3 and cortisol secreting adrenal adenoma in 9 of all patients with CS. Cortisol and ACTH were determined -15, 0, 15, 30, 45, 60, 90 and 120 min. after i.v. administration of 100µg of ovine CRH. Cortisol and ACTH were determined by commercial RIA. Statistical data processing was done by ROC curve analysis. Due to small number, the patients with ectopic ACTH secretion were excluded from test evaluation by ROC curve method.

Results In evaluated subgroups, basal cortisol was (1147.3±464.3 vs. 1589.8±296.3 vs. 839.2±405.6 nmol/L); maximal stimulated cortisol (1680.3±735.5 vs. 1749.0±386.6 vs. 906.1±335.0 nmol/L);

and maximal increase as a percent of basal cortisol (49.1±36.9 vs. 9.0±7.6 vs. 16.7±37.3 %). Consequently, basal ACTH was (100.9±85.0 vs. 138.0±123.7 vs. 4.8±4.3 pg/mL) and maximal stimulated ACTH (203.8±160.1 vs. 288.0±189.5 vs. 7.4±9.2 pg/mL). For cortisol, determination area under ROC curve was 0.815±0.083 (CI 95% 0.652-0.978). For cortisol increase cut-off level of 20%, test sensitivity was 83%, with specificity of 78%. For ACTH, determination area under ROC curve was 0.637±0.142 (CI 95% 0.359-0.916). For ACTH increase cut-off level of 30%, test sensitivity was 70%, with specificity of 57%.

Conclusion Determination of cortisol and ACTH levels in CRH test remains reliable tool in differential diagnosis of Cushing's syndrome.

Key words: Cushing's syndrome; CRH test; ROC curve

Zorana PENEZIĆ
Institut za endokrinologiju, dijabetes i bolesti
metabolizma
Klinički centar Srbije
Dr Subotića 13, 11000 Beograd
Tel.: 011 361 6317
Faks: 011 685 357
E-mail: zpenezic@eunet.yu