FÁBIO YOSHIAKI TANNO

Cirurgia poupadora de adrenal: uma nova abordagem no tratamento da hiperplasia macronodular adrenal primária

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Urologia

Orientador: Prof. Dr. Miguel Srougi

Coorientadora: Profa. Dra. Maria Candida Barisson Villares Fragoso

São Paulo

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Tanno, Fábio Yoshiaki
Cirurgia poupadora de adrenal : uma nova abordagem no tratamento da hiperplasia macronodular adrenal primária / Fábio Yoshiaki Tanno -- São Paulo, 2019.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Programa de Urologia.
Orientador: Miguel Srougi.
Coorientadora: Maria Candida Barisson Villares Fragoso.

Descritores: 1.Hiperplasia macronodular adrenal primária 2.Adrenalectomia 3.Laparoscopia 4.Insuficiência adrenal 5.Síndrome de Cushing/cirurgia 6.Síndrome de Cushing/diagnóstico 7.Testes de função do córtex suprarrenal 8.Glândulas suprarrenais/cirurgia 9.Tomografia 10.Tomografia por emissão de pósitrons

USP/FM/DBD-245/19

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Este trabalho foi realizado na Divisão de Clínica Urológica e na Unidade de Suprarrenal da Disciplina de Endocrinologia e Metabologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo/SP, Brasil

Dedicatória

Aos meus pais, pelo exemplo e por terem me dados todas as oportunidades.

À minha esposa e às minhas filhas Isabela e Manuela, pelo amor e apoio incondicional.

Aos pacientes, pela confiança em mim depositada.

A todos os meus professores, pelos ensinamentos e valores partilhados.

\

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus e a todos meus antepassados que estão sempre me acompanhando e me ajudando da maneira que podem.

Agradeço imensamente aos meus pais, Osami e Nair, médicos, que sempre foram exemplo de honestidade, humildade e dedicação à profissão. Obrigado por terem me proporcionado as melhores oportunidades para que eu pudesse realizar meus sonhos e atingir meus objetivos.

Agradeço à minha esposa Gisela, que sempre me apoiou nas atividades acadêmicas e profissionais, mesmo tendo que tolerar a ausência em alguns momentos. Pelo seu amor e dedicação à nossa família que está crescendo. Obrigado por me dar as maiores alegrias da minha vida, que se chamam Isabela e Manuela (que está para chegar).

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Miguel Srougi, professor titular da Divisão de Clínica Urológica do HCFMUSP, por me confiar a tarefa de fazer este trabalho de tão grande responsabilidade e por todas as dicas e truques. Obrigado pelo exemplo como professor, como urologista e como ser humano e por proporcionar a oportunidade de realizar este trabalho.

À minha coorientadora, Profa. Dra. Maria Candida Barisson Villares Fragoso, agradeço por sua extrema dedicação aos pacientes, com cuidado único com cada um deles. Sempre atenciosa e disponível, sem deixar de ser médica, professora e pesquisadora excepcional.

Ao Dr. José Luis Chambô, primeiramente por seu convite em 2014 para entrar no grupo de Cirurgia de Adrenal da Divisão de Clínica Urológica do HCFMUSP, por toda sua participação e ensinamentos na cirurgia e por ser um mentor, tanto dentro como fora do HC.

Agradeço ao amigo Victor Srougi, companheiro do grupo de Cirurgia de Adrenal, sempre disposto a colaborar e por suas valorosas sugestões.

À Profa. Dra. Berenice Bilharinho de Mendonça e à Profa. Dra. Ana Cláudia Latroncio, professoras titulares da Disciplina de Endocrinologia e Metabologia do HCFMUSP, pela oportunidade ímpar de realizar este projeto em conjunto com a Urologia.

Ao Prof. Dr. Willian Carlos Nahas, professor titular da Divisão de Clínica Urológica do HCFMUSP, por oferecer as condições para a realização do trabalho e todo apoio da Pós-Graduação.

Ao Prof. Dr. Madson Queiroz de Almeida, endocrinologista da Unidade de Suprarrenal do HCFMUSP, sempre disponível e com ótimas sugestões.

Sou muito grato aos colegas radiologistas, Dr. Fernando Ide Yamauchi e Dr. Fernando Morbeck Almeida Coelho, por sua participação tão importante avaliando os exames de imagens do nossos pacientes de maneira brilhante.

A todos os residentes da Divisão de Clínica Urológica do HCFMUSP e da Disciplina de Endocrinologia e Metabologia do HCFMUSP. Sem o auxílio dos residentes este trabalho também não seria possível.

Ao estatístico Vinicius Calsavara, por seu auxílio indispensável nas análises estatísticas.

Agradeço as colegas endocrinologistas Vânia Balderrama Brondani e Helaine Laiz Silva Charchar, pós-graduandas da Disciplina de Endocrinologia, por sua ajuda no decorrer do trabalho.

A todos os membros do LIM/42 por seu trabalho com as análises hormonais e genéticas, em especial à Miriam Yumie Nishi.

Sou grato também a todos os funcionários das disciplinas de Urologia e Endocrinologia do HCFMUSP por seu incansável trabalho no cuidar dos pacientes. Agradecimento especial à Elisa Cruz e ao Prof. Dr. Alberto Azoubel Antunes, respectivamente, secretária e chefe da da Pós-Graduação da Disciplina de Urologia.

Agradeço ao Dr. Antonio Cardoso Pinto, pela oportunidade única de trabalho no Hospital São Camilo, que me permitiu também que me dedicasse ao doutorado.

Agradeço à Profa. Dra. Maria Adelaide Albergaria Pereira, ao Dr. Marco Antonio Arap e ao Dr. Roberto Lopes Iglesias, pelas valiosas sugestões no Exame de Qualificação da tese.

Ao Prof. Dr. Antonio Marmo Lucon, um dos percursores da cirurgia de adrenal entre os Urologistas e de atuação fundamental em minha formação na residência com suas visitas diárias na enfermaria.

À minha irmã Juliana e meu cunhado Leonardo, aos meus sogros José e Maria, por seu apoio em todos os momentos, bem como a todos meus familiares.

Por fim, um agradecimento especial aos pacientes, pela confiança que depositaram em mim.

Epígrafe

“Não se espante com a altura do vôo. Quanto mais alto, mais longe do perigo. Quanto mais você se eleva, mais tempo há de reconhecer uma pane. É quando se está próximo do solo que se deve desconfiar.”

Alberto Santos Dumont

Normatização Adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

Lista de Abreviaturas e Símbolos

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Summary

Sumário

1. Introdução ***1***

1.1 Síndrome de Cushing e hipercortisolismo subclínico **2**

1.2 Hiperplasia Macronodular Adrenal Primária **4**

1.2.1 Introdução 4

1.2.2 Patogênese 4

1.2.3 Patologia 6

1.2.4 Manifestações Clínicas 6

1.2.5 Diagnóstico Radiológico 10

1.3 Considerações sobre o tratamento da HMAP **11**

1.3.1 Tratamento Clínico 11

1.3.2 Tratamento Cirúrgico 12

1.4 Insuficiência adrenal pós-operatória 14

2. Objetivos ***16***

3. Método ***18***

3.1 Desenho do Estudo **19**

3.2 Época e Local do estudo **19**

3.3 Pacientes **20**

3.3.1 Seleção dos pacientes 20

3.3.2 Dados demográficos 20

3.3.3 Critérios de inclusão e exclusão 21

3.4 Métodos **23**

3.4.1 Avaliação clínica dos pacientes 23
3.4.2 Avaliação laboratorial inicial 23
3.4.3 Avaliação radiológica 24
3.4.4 Complementação da propedêutica laboratorial 25
3.4.5 Investigação de meningiomas 26
3.4.6 Exame de ^{18}F-FDG-PET/CT 26
3.4.7 Mutação do Gene ARMC5 26
3.4.8 Adrenalectomia videolaparoscópica- cirurgia poupadora de adrenal 27
3.4.9 Exames de controle pós-operatório 30
3.5 Desfechos **31**
3.5.1 Desfecho primário 31
3.5.2 Desfecho secundário 31
3.6 Análise estatística do estudo **32**
4. Resultados ***34***
4.1 Dados da cirurgia e evolução pós-operatórios **35**
4.2 Recuperação da função adrenal e insuficiência adrenal **39**
4.3 Avaliação clínica e metabólica **41**
4.4 Correlação entre volume adrenal pré-operatório x cortisol sérico pós teste de supressão com dexametasona x SUVmax no exame ^{18}F-FDG-PET/CT **44**
5. Discussão ***45***
6. Conclusões ***54***
7. Anexos ***57***
Anexo 1 – Parecer da CAPPesq HCFMUSP. **57**
Anexo 2 – Folha de rosto – Plataforma Brasil. **58**
Anexo 3 – Resumo das variantes alélicas do gene ARCM5 identificadas. **59**
Anexo 4 – Resultados do teste de cortrosina **60**
8. Referências Bibliográficas ***61***
9. Apêndice ***70***

Apêndice 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do projeto aplicado aos sujeitos da pesquisa. 71

Apêndice 2- Pôster apresentado no Congresso Americano de Urologia (AUA 2017), realizado em maio de 2017 em Boston, MA. 75

Apêndice 3 – Pôster apresentado no Congresso Americano de Urologia (AUA 2019), realizado em maio de 2019 em Chicago, IL.....77

Apêndice 4 – Confirmação da submissão do trabalho para a revista científica Endocrine Connections.....79

Lista de abreviaturas e símbolos

^{18}F-FDG	fluordesoxiglicose marcada
^{18}F-FDG-PET/CT	tomografia por emissão de pósitrons com fluordesoxiglicose marcada acoplada à tomografia computadorizada
ACTH	hormônio adrenocorticotrófico
ACTHR	receptor do hormônio adrenocorticotrófico
APC	*adenomatous polyposis coligene*
APR	atividade plasmática de renina
CAPPesq	Comissão para Análise de Projetos de Pesquisa
CRH	hormônio liberador de corticortrofina
CS	*Cushing's syndrome*
CT	*computed tomography*
DM	diabete melito
HAS	hipertensão arterial sistêmica
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HDL	lipoproteína de alta densidade
HHA	hipotálamo-hipófise-adrenal
HPA	*hypothalamic-pituitary-adrenal*
HS	hipercortisolismo subclínico
IC	intervalo de confiança
IMC	índice de massa corporal
LDL	lipoproteína de baixa densidade
LH	hormônio luteinizante
MC2R	receptor do ACTH

PET	tomografia por emissão de pósitrons
PET/CT	tomografia por emissão de pósitrons acoplada à tomografia coputadorizada
RM	ressonância magnética
SC	síndrome de Cushing
SUV	*Standardized Uptake Values*
SUVmax	valor padrão de captação máxima
SUVmédia	valor padrão de captação média
TC	tomografia computadorizada
U	unidade
U/L	unidade por litro
UH	Unidades Hounsfield
VLDL	lipoproteína de muito baixa densidade

Lista de Figuras

Figura 1- Aspecto das adrenais hiperplasiadas e respectivas peças cirúrgicas na HMAP.....30

Figura 2– Evolução da função hormonal no decorrer do tempo (meses).....38

Figura 3- Curva de recuperação da função do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.....39

Figura 4 - Gráfico de dispersão entre SUV e volume da adrenal.....44

Lista de Tabelas

Tabela 1- Características dos pacientes na apresentação.....22

Tabela 2- Características intra-operatórias e seguimento.....37

Tabela 3 - Modelo de regressão de Cox – Recuperação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.....40

Tabela 4- Modelo de regressão de Cox – Insuficiência adrenal.....41

Tabela 5- Medidas-resumo das variáveis clínicas e metabólicas. 43

Resumo

Tanno FY. *Cirurgia poupadora de adrenal:* uma nova abordagem no tratamento da hiperplasia macronodular adrenal primária [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2019.

INTRODUÇÃO: A hiperplasia macronodular adrenal primária (HMAP) é uma doença rara, caracterizada pela presença de macronódulos nas adrenais e por uma produção aumentada, autônoma e sustentada de cortisol. Constitui uma causa incomum de síndrome de Cushing. O tratamento cirúrgico é indicado visando o controle do hipecortisolismo e de suas consequências. Estudamos uma nova abordagem cirúrgica, a cirurgia poupadora de adrenal (adrenalectomia total laparoscópica do lado de maior volume/ atividade metabólica com adrenalectomia parcial laparoscópica contralateral), no tratamento da HMAP com o objetivo de possibilitar o controle do hipercortisolismo sem a necessidade de reposição hormonal. **OBJETIVOS:** Os objetivos do estudo foram: 1) avaliar a efetividade e segurança da cirurgia poupadora de adrenal e como foi a evolução dos pacientes operados, do ponto de vista metabólico e clínico; 2) definir quais os fatores que influenciaram no tempo de recuperação da função do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal no pós-operatório; 3) avaliar correlação entre o volume das adrenais e a captação de radioisótopo na tomografia por emissão de pósitrons com fluorodesoxiglicose marcada (^{18}F-FDG-PET/CT). **MÉTODOS:** Dezessete pacientes com diagnóstico de HMAP submetidos à cirurgia poupadora de adrenal, com pelo menos 12 meses de seguimento (mediana de seguimento de 41 meses), foram incluídos no estudo. A mediana da idade no momento da indicação da cirurgia foi de 50 anos (41-69), e a mediana do IMC de 29 kg/m^2, sendo 5 homens (29,5%) e 12 mulheres (70,5%). A adrenalectomia total foi realizada no lado com maior volume nos estudos de tomografia e maior atividade na ^{18}F-FDG-PET/CT. O desfecho primário avaliado foi a recuperação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal associada ao controle do hipercortisolismo, bem como a evolução dos parâmetros clínicos e metabólicos no período pós-operatório. Os desfechos secundários incluíram a identificação de fatores que influenciaram na recuperação da função hormonal, juntamente com o estudo da correlação entre o volume das adrenais e atividade glicolítica das glândulas. Utilizou-se tomografia com 3 meses de pós-operatório para avaliar a volumetria da adrenal remanescente. **RESULTADOS:** O tempo cirúrgico médio foi de 199 ± 39 minutos (variação de 160-300); o tempo anestésico médio foi de 322±72 minutos (210-510). Não ocorreram complicações intra-operatórias. Doze pacientes (70,5%) recuperaram a função da adrenal para produção de cortisol, enquanto os demais 5 (29,5%) permanecem dependentes de reposição hormonal. O tempo médio de recuperação da função da adrenal foi de 32 meses. O volume médio de glândula adrenal remanescente foi de 4,1 cm^3. O nível sérico de ACTH mensurável se mostrou um fator preditivo de menor tempo de recuperação da função hormonal (p=0,003). Os pacientes operados apresentaram melhora significante do peso (88 para 82kg), da pressão arterial sistólica (145 para 121mmHg), da pressão arterial diastólica (91 para 78mmHg) e no número de medicamentos para hipertensão arterial (2,8 para1,1). Por fim, foi confirmada a correlação entre volume da adrenal e a captação desta em SUV no exame de ^{18}F-FDG-PET/CT (p=0,024). **CONCLUSÕES:** A cirurgia poupadora de adrenal se mostrou uma opção segura no tratamento da HMAP, com bons resultados no controle do hipercortisolismo e na recuperação da função hormonal. A cirurgia contribuiu para a melhora no peso, pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica e número de

medicamentos para hipertensão. Pacientes com ACTH mensurável apresentaram melhor chance de recuperação da função hormonal. Na HMAP, adrenais de maior volume tendem a apresentar maior atividade glicolitica na ^{18}F-FDG-PET/CT.

Descritores: Hiperplasia macronodular adrenal primária; Adrenalectomia; Laparoscopia; Insuficiência adrenal; Síndrome de Cushing/cirurgia; Síndrome de Cushing/diagnóstico; Testes de função do córtex suprarrenal; Glândulas suprarrenais/cirurgia; Tomografia; Tomografia por emissão de pósitrons.

Summary

Tanno FY. *Adrenal sparing surgery*: a new approach in the treatment of primary macronodular adrenal hyperplasia. [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2019.

INTRODUCTION: Primary macronodular adrenal hyperplasia (PMAH) is a rare disease characterized by adrenal macronodules and increased, autonomous and sustained cortisol production. This condition is an uncommon cause of Cushing's syndrome. The objective of surgical treatment is the control of excessive hormonal production and its consequences. We studied a new surgical approach that we called adrenal sparing surgery (total laparoscopic adrenalectomy of the adrenal gland with larger volume/higher metabolic activity associated with contralateral partial laparoscopic adrenalectomy), in order to achieve control of hypercortisolism without lifetime hormonal reposition disadvantages. **OBJECTIVES**: The objectives of this study: 1) evaluate the effectiveness and safety of adrenal sparing surgery and how was the evolution of operated patients, with clinical and metabolic parameters; 2) define which aspects influence in the time to recover the hypothalamus-pituitary-adrenal axis function in post-operative period; 3) evaluate the correlation between adrenal volume and SUV capitation on ^{18}F-FDG-PET/CT. **METHODS:** Seventeen patients with diagnosed PMAH submitted to adrenal sparing surgery and, at least 12 months follow up were include in this study (median follow up of 41 months). In the moment the surgical treatment was indicated, the median age was 53 years-old (range 41-69), median BMI was 29 kg/m^2, including 5 male (29.5%) and 12 female (70.5%) patients. Total adrenalectomy was performed in the larger gland in CT and higher metabolic activity in ^{18}F-FDG-PET/CT. The primary endpoint was the recovery of hypothalamus-pituitary-adrenal axis associated to hypercortisolism control, as well as the evolution of clinical and metabolic parameters in post-operative period. The secondary endpoints were the identification of factors that may have influenced the recovery of hormonal function, besides the study of the correlation between adrenal volume and radioisotope uptake by the glands. We used CT three months after surgery to evaluate remaining adrenal volume. **RESULTS**: Average surgical time was 199 ± 39 minutes (range160-300); average anesthesia time was 322±72 minutes (range 210-510). There were no intra-operative complications. Twelve patients (70.5%) recovered adrenal function in cortisol production, while the other 5 remained in adrenal insufficiency The average time to adrenal function recovery was 32 months. In post-operative CT the average adrenal volume was 4.1 cm^3. Measurable ACTH level (not suppressed) was associated with a better chance to recover hormonal function (p=0.003). Operated patients showed significant improvement in clinical parameters: weight reduction (88 to 82kg); reduction of both systolic (145 to 141 mmHg) and diastolic (91 to 78mmHg) blood pressures and in the number of hypertension medications (2.8 to 1.1). Finally, a correlation between adrenal volume and glycolytic uptake in ^{18}F-FDG-PET/CT was confirmed (p=0.024). **CONCLUSIONS**: Adrenal sparing surgery is a safe and effective option in PMAH surgical treatment, providing high rate of hypercortisolism control and hormonal function recovery. The surgery contributed to weight reduction and improvement in hypertension and number of medications. In PMAH, larger adrenals tend to present a higher glycolytic uptake in ^{18}F-FDG-PET/CT.

Descriptors: Primary macronodular adrenal hyperplasia; Adrenalectomy; Laparoscopy; Adrenal insufficiency; Cushing syndrome/surgery; Cushing syndrome/diagnosis;

Adrenal cortex function tests; Adrenal glands; Tomography; Positron-emission tomography.

1. Introdução

1.1 Síndrome de Cushing e hipercortisolismo subclínico

A síndrome de Cushing (SC), descrita pela primeira vez por Harvey Cushing em 1932 (1), consiste em um estado clínico resultante da exposição prolongada e inapropriada do organismo a quantidades excessivas de glicocorticoides. Os sinais e sintomas clássicos da SC são miopatia proximal, pele atrófica, hematomas aos mínimos traumas, pletora facial, gordura dorso cervical, estrias violáceas > 1cm. No grupo pediátrico os principais sinais e sintomas do hipercortisolismo são a obesidade associada a diminuição ou parada do cresimento. A exposição crônica a concentrações elevadas de cortisol leva a consequências metabólicas importantes que incluem osteoporose, alterações cognitivas, hipocalemia, hipertensão, diabetes melitus e infecções (2, 3).

A síndrome de Cushing pode decorrer da administração exógena prolongada de glicocorticoides (causa mais frequente na prática clínica) ou da secreção aumentada desses hormônios pelo córtex adrenal* (SC endógena).

A SC endógena pode ser classificada como dependente ou independente do hormônio hipofisário adrenocorticotrófico (ACTH). A causa mais comum da síndrome de Cushing a partir dos 5 anos é a doença de Cushing (tumor hipofisário produtor de ACTH) correspondendo a mais de 70% de todas as causas. Cerca de 15 a 20% dos casos de SC independente do ACTH, correspondem as lesões unilaterais, sob a forma de adenomas e carcinomas (90-95%). A hiperplasia macronodular adrenal primária independente de ACTH hipofisário (HMAP), a doença adrenocortical nodular pigmentosa primária e a síndrome de McCune-Albright são causas raras da síndrome de Cushing (4, 5), correspondendo a menos de 2% de todas as causas endógenas da SC.

* No presente estudo optou-se por utilizar o termo adrenal. Sabe-se que adrenal e suprarrenal são termos aceitos em publicações na língua portuguesa.

O hipercortisolismo subclínico é definido como uma condição clínica em que há excesso da produção de cortisol com alteração do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, mas sem os sinais e sintomas clássicos da SC evidente (6-8). Estima-se que essa situação esteja presente em 5-30% dos pacientes com incidentaloma de adrenal (6, 9). Esta proporção corresponderia a uma prevalência de 0,2 a 2% na população uma vez que acredita-se que os incidentalomas de adrenal estejam presentes em 4-7% da população adulta (10-12). Recentemente a Sociedade Européia de Endocrinologia passou a adotar o termo "secreção autônoma de cortisol" (13). No presente estudo optou-se pelo uso do termo "hipercortisolismo subclínico".

Apesar de o hipercortisolismo subclínico não estar associado aos sinais clássicos da SC, há evidências que esta condição pode levar a consequências do hipercortisolismo a longo prazo, tais como diabete melito, dislipidemia, hipertensão arterial e obesidade (14-18). O diagnóstico e tratamento do hipercortisolismo subclínico têm sido extensamente estudados e discutidos na literatura. Em uma recente revisão da literatura, Chiodini et al. (8) destacam que não existe um exame padrão-ouro que faça o diagnóstico desses quadros. Por esse motivo, há na literatura diversas metodologias descritas para avaliar a alteração do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal com o objetivo de se diagnosticar o hipercortisolismo subclínico, dentre as quais se destacam a ausência de supressão do cortisol no teste com dexametasona, elevação do cortisol urinário, a perda do ritmo circadiano da secreção de cortisol, alteração da resposta do ACTH ao CRH e ACTH basal baixo (8).

O tratamento da síndrome de Cushing e do hipercortisolimso subclínico se baseia no combate do hipercortisolismo associado ao controle clínico das complicações

geradas por ele. Nos casos em que a causa do hipercortisolismo é endógena, a terapia mais efetiva e rápida é a cirúrgica (8, 19).

1.2 Hiperplasia Macronodular Adrenal Primária

1.2.1 Introdução

A HMAP foi descrita pela primeira vez em 1964 por Kirschner et al. (20), e caracteriza-se pela presença de macronódulos funcionantes nas adrenais e uma produção aumentada, autônoma e sustentada de cortisol.

Desde sua descrição a HMAP recebeu diferentes denominações, sendo que a primeira foi Hiperplasia Nodular da Adrenal, passando por Hiperplasia Macronodular Massiva, Hiperplasia Gigante Macronodular de Adrenal, Displasia Macronodular de Adrenal, Hiperplasia Adrenal Macronodular ACTH-Independente (AIMAH), até a nomenclatura utilizada atualmente, que também utilizaremos neste estudo, que é Hiperplasia Macrondular Adrenal Primária (20-25).

1.2.2 Patogênese

Apesar de ser uma entidade clínica conhecida há quase 50 anos, o processo fisiopatológico que culminaria com a hiperplasia adrenal macronodular ainda não foi completamente elucidado.Trata-se de uma doença heterogênea, associada a diferentes alterações genéticas germinativas e/ou somáticas.

Segundo alguns autores, a presença dos receptores aberrantes seria um evento inicial e essencial na patogênese da HMAP (26). Por outro lado, aventa-se também a hipótese de que a expressão desses receptores seria apenas um epifenômeno, resultante

da proliferação e desdiferenciação celular (27). Desta forma, o real papel desempenhado pelos receptores hormonais aberrantes na fisiopatologia da hiperplasia adrenal macronodular ainda precisa ser melhor esclarecido.

1.2.2.1 Mutação inativadora do gene armadillo repeat containing protein 5 (ARMC5)

Recentemente, dois estudos independentes demonstraram que mutações no gene *ARMC5* são uma causa frequente de HMAP. Mutações germinativas em heterozigose no gene *ARMC5* foram encontradas em 38% a 48% dos pacientes com a doença (22, 23). No Ambulatório de Suprarrenal do HCFMUSP, cerca de 24% dos pacientes (5/21) suspeitos de apresentarem a forma esporádica da HMAP demonstraram mutações germinativas no gene *ARMC5* (22). Assim, a forma herdada da doença parece ser bem mais frequente, do que inicialmente se pensava. A demonstração de uma segunda mutação somática no gene *ARMC5* no tecido adrenal hiperplasiado (produto de ressecção cirúrgica) sugere, ainda, que esse gene atue como um supressor tumoral. Na maior família já diagnosticada com a doença também foram encontradas mutações germinativas e somáticas no gene *ARMC5*. Nessa genealogia, a doença demonstrou um padrão de herança autossômico dominante, uma penetrância incompleta e uma expressividade variável (22). A proteína *ARMC5* pertence à família das proteínas *Armadillo*, no entanto, ainda se desconhece o papel desempenhado pela mesma na fisiopatologia da HMAP (22, 23).

1.2.2.2 Associação da HMAP a síndromes e outras alterações genéticas

A HMAP já foi documentada nas seguintes síndromes genéticas: neoplasia endócrina múltipla do tipo 1, polipose adenomatosa familiar e leiomiomatose hereditária e carcinoma de células renais (28).

A origem genética da HMAP é embasada pelo acometimento bilateral das adrenais (o mais comum) e pelos achados de casos em que há caráter hereditário da doença. A identificação das bases genéticas da doença possibilitaria cada vez mais a realização de diagnóstico mais precoce e melhor manejo da doença (29).

1.2.3 Patologia

A HMAP é uma doença benigna, não havendo na literatura nenhum relato de transformação maligna das lesões (27, 28). No exame macroscópico o achado mais comum é a presença de macronódulos amarelados. O exame microscópico revela a presença de múltiplos nódulos de hiperplasia cortical compostos por células da zona fasciculada, todos com aspecto homogêneo, constituídos predominantemente por dois tipos celulares característicos: células grandes e pequenas com citoplasma claro, escassez de figuras mitóticas, não existindo áreas necróticas. Células adiposas também são encontradas dentro destes nódulos (30).

1.2.4 Manifestações Clínicas

A HMAP apresenta uma distribuição etária bimodal com um raro tipo de apresentação nos primeiros anos de vida, particularmente com a síndrome Mc Cune–Albright (displasia óssea, mancha café *au lait*, puberdade precoce) (31). A maioria dos casos de HMAP se apresenta entre a quinta e sexta décadas de vida, uma apresentação

mais tardia quando comparada com adenomas unilaterais ou na doença de Cushing (5, 32, 33).

A HMAP acomete com a mesma frequência os gêneros com discreta preponderância para o sexo feminino. Esse padrão difere da maioria das causas de síndrome de Cushing nas quais há uma predominância evidente para o sexo feminino e a apresentação clínica geralmente é mais precoce (~25-40 anos) (34-36).

Até recentemente, acreditava-se que a HMAP se expressasse principalmente sob a forma de síndrome de Cushing clássica (35). Atualmente, com a identificação dos casos familiares, a forma subclínica constitui a maneira mais frequente de manifestação da doença, podendo corresponder a mais de 80% dos casos (28). Na maioria dos pacientes com HMAP os sinais e sintomas decorrentes do hipercortisolismo são discretos. A forma mais comum de apresentação clínica da HMAP é a esporádica (28). Entretanto uma sistematização da investigação de casos familiares não tem sido utilizada na pratica clinica, sendo subestimada a real frequência da forma familiar. O diagnóstico incidental da HMAP tem se tornado também cada vez mais frequente, diante da maior disponibilidade de exames radiológicos, sobretudo nas últimas décadas (28, 35, 37). Com os estudos recentes sobre a HMAP familiar, o avanço no conhecimento sobre os aspectos clínicos, laboratoriais e radiológicos trouxe novos rumos para o diagnóstico e tratamento dessa rara patologia.

A evolução clínica da HMAP parece ocorrer de forma lenta e insidiosa. Ohashi et al. (38) relataram o caso de um paciente que levou sete anos para progredir do hipercortisolismo subclínico à forma manifesta da doença. Nos pacientes acompanhados por Swainet al. (39), o tempo médio entre o aparecimento das primeiras

manifestações clínicas e o diagnóstico da HMAP foi de cerca de 8 anos. A história natural da doença ainda não é bem compreendida e não se sabe, por exemplo, se necessariamente todos os pacientes evoluiriam para a síndrome de Cushing clássica ao longo dos anos.

Em um estudo conduzido no Ambulatório de Suprarrenal do HCFMUSP, foi demonstrada uma prevalência de 33% (5/15) de meningiomas intracranianos nos pacientes com HMAP (37). A presença desses tumores não parece estar associada à intensidade ou à duração do hipercortisolismo, já que em alguns casos, os meningiomas ocorrem em uma idade precoce, antes mesmo do desenvolvimento da HMAP. A idade média ao diagnóstico desses tumores foi de 48±17 anos (26–73 anos)(40). Dessa forma, com o intuito de se realizar o diagnóstico precoce desses tumores intracranianos, recomenda-se que seja realizado um exame de ressonância magnética para a investigação da presença de meningiomas, em todos os paciente com HMAP (37, 40).

A HMAP determina um quadro de síndrome de Cushing independente dos níveis de ACTH hipofisário. As principais alterações laboratoriais incluem: 1) a perda do ritmo circadiano normal do cortisol, com a elevação do cortisol sérico e salivar à meia-noite; 2) a ausência da supressão normal do cortisol sérico, durante o teste de supressão noturna com 1 mg de dexametasona via oral à meia-noite; 3) o aumento dos valores do cortisol urinário; 4) a supressão do ACTH plasmático.

No entanto, naqueles pacientes com a doença em sua fase inicial, quando as manifestações do hipercortisolismo ainda não são muito evidentes, não é infrequente que os valores do cortisol urinário encontrem-se normais e que o ACTH plasmático apresente-se parcialmente suprimido ou dentro dos valores de referência (28, 37).

Recentemente, foi demonstrado que o teste de supressão noturna com 1 mg de dexametasona via oral à meia-noite é o exame laboratorial de escolha para o diagnóstico precoce da HMAP. Utilizando-se como critério de normalidade o valor do cortisol sérico ≤ 50 nmol/L (≤ 1,8 μg/dL), esse teste apresentou uma sensibilidade de 90% e uma especificidade de 87,3% para o diagnóstico da doença em sua fase inicial (37). A dosagem do cortisol salivar à meia-noite e do cortisol urinário demonstram uma sensibilidade baixa para o diagnóstico precoce da HMAP (sensibilidade de apenas 26,7% e 14,3%, respectivamente) e, assim, não devem ser empregados isoladamente na investigação inicial da doença (37). Em outras casuísticas, a dosagem do cortisol salivar à meia-noite também demonstrou uma sensibilidade baixa para o diagnóstico da síndrome de Cushing subclínica (sensibilidade de 22,7% a 31,3%), independentemente de sua etiologia (41, 42).

Apesar de o crescimento da adrenal na HMAP ocorrer independente do ACTH hipofisário, o receptor desse hormônio permanece expresso na glândula hiperplasiada. Desta forma, após o estímulo *in vivo* com o ACTH sintético (tetracosactida), observa-se na doença um incremento significativo da síntese do cortisol. Esse achado permite diferenciar a HMAP de outras condições, também associadas ao aumento bilateral das adrenais, tais como metástases e doenças infiltrativas (28, 34). É importante mencionar que, em alguns pacientes, concomitantemente à síntese do cortisol, já foi demonstrada a secreção de outros hormônios pela adrenal hiperplasiada, entre eles, mineralocorticoides, andrógenos e estrona; tais associações, no entanto, são incomuns (28).

Conforme mencionado anteriormente, mutações germinativas no gene *ARMC5* são as alterações genéticas mais frequentes na HMAP, sendo encontradas em 38 a 48%

dos pacientes (23, 43). Assim, todo indivíduo suspeito de apresentar a doença deve ser submetido a uma avaliação genética, para a investigação da presença dessas mutações. Após a coleta das amostras de sangue e subsequente extração do DNA leucocitário, todo o gene *ARMC5* deve ser sequenciado. Já foram demonstradas, na HMAP, mutações germinativas ao longo de todo o gene *ARMC5*. Diante do diagnóstico de uma mutação, é importante que todos os parentes de primeiro grau do caso-índice também sejam submetidos a uma avaliação genética, o que permitirá o diagnóstico precoce de um grande número de casos insuspeitos da doença.

1.2.5 Diagnóstico Radiológico

O diagnóstico radiológico da HMAP pode ser feito pela tomografia computadorizada e pela ressonância magnética. O achado mais comum é o aumento de ambas as glândulas adrenais associado à presença de nódulos bilaterais de cerca de 1-5 cm de diâmetro (28, 34, 36). Em alguns casos, observa-se o crescimento difuso das adrenais, sem a caracterização dos macronódulos

Em estudo recente, foi demonstrado que nas fases iniciais da doença, cerca um terço dos pacientes apresentam alterações radiológicas em somente uma das glândulas adrenais (37). Além disso, em alguns pacientes, os exames de imagem evidenciam a presença de um único nódulo adrenal, achado que pode dificultar o diagnóstico correto da doença. Os macronódulos podem ainda distorcer o parênquima adrenal normal, não permitindo, em alguns casos, a sua visualização adequada (34).

Nos casos de HMAP a tomografia pós-contraste apresenta, geralmente, um reforço da imagem radiológica (36, 44). Na ressonância magnética, nas sequências ponderadas em T1, as adrenais hiperplasiadas apresentam-se hipointensas em relação

ao fígado e isointensas em relação ao músculo. Já nas sequências ponderadas em T2, as adrenais na hiperplasia adrenal macronodular geralmente mostram-se hiperintensas em relação ao fígado, contrastando com a imagem da hiperplasia adrenal dependente do ACTH hipofisário, que se mostra isointensa (44, 45).

A tomografia por emissão de pósitrons com fluordesoxiglicose marcada (^{18}F-FDG-PET/CT) tem sido utilizada como ferramenta adicional aos métodos de TC, por permitir avaliar concomitantemente a anatomia da adrenal e sua atividade metabólica. Ademais, esse exame permite a diferenciação das lesões adrenais malignas e benignas (46, 47). Os carcinomas adrenais e metástases normalmente possuem um alto metabolismo glicolítico e, consequentemente, uma captação maior de ^{18}F-FDG em relação aos adenomas, cuja atividade metabólica é menor. Estudos recentes demonstraram que na HMAP, as adrenais apresentam características semelhantes às afecções malignas no ^{18}F-FDG-PET/CT: valor padrão de captação máxima SUVmax>3,1(43, 48).

1.3 Considerações sobre o tratamento da HMAP

1.3.1 Tratamento Clínico

A identificação de receptores hormonais aberrantes na HMAP motivou, inicialmente, a utilização de antagonistas específicos desses receptores, visando controlar a síntese e a secreção do cortisol. No entanto, são muito raros os relatos de sucesso dessa forma de tratamento no controle do hipercortisolismo a médio e longo prazo (49, 50).

O tratamento medicamentoso pode ser feito com uma variedade de medicamentos, destacando-se cetoconazol (51), metirapona (52, 53), mitotano (54) ou

trilostano (55), visando o controle do hipercortisolismo relacionado à HMAP. A literatura, apesar de escassa, tem mostrado resultados promissores. A utilização desses medicamentos, que inibem a esteroidogênese, está indicada, sobretudo, naqueles pacientes com contra indicações à adrenalectomia, ou diante da necessidade de se melhorar as condições clínicas do paciente, previamente ao tratamento cirúrgico.

1.3.2 Tratamento Cirúrgico

A adrenalectomia bilateral tem sido o tratamento mais utilizado na HMAP associada à síndrome de Cushing manifesta (28). Esta modalidade terapêutica, no entanto, leva à insuficiência adrenal permanente, que por sua vez está relacionada a elevados índices de mortalidade nesses pacientes (56). A reposição fisiológica desses hormônios é conduzida de forma semelhante à realizada na insuficiência adrenal primária (doença de Addison).

Uma vez que a HMAP apresenta um largo espectro em suas manifestações clínicas, a decisão em se realizar o tratamento cirúrgico deve levar em conta o grau de hipercortisolismo do paciente. Nos pacientes com síndrome de Cushing manifesta não há dúvidas com relação ao benefício do tratamento cirúrgico da HMAP. Por outro lado, nos pacientes em que o diagnóstico foi feito de maneira incidental ou por teste genético, mas sem hipercortisolismo, a cirurgia pode ser postergada. Já nos pacientes com diagnóstico de HMAP, mas com hipercortisolismo subclínico, ainda não existe um consenso na literatura com relação ao momento da indicação do tratamento cirúrgico. Em nosso Serviço adotamos o protocolo sugerido por Terzolo et al.(57) para pacientes com adenoma de adrenal associado a hipercortisolismo subclínico. De acordo com este estudo considera-se a idade do paciente, suas comorbidades clínicas, o

tempo de doença e a evolução da mesma no momento de se indicar ou não a adrenalectomia.

Alguns autores têm proposto a adrenalectomia unilateral da glândula hiperplasiada mais volumosa como uma forma de tratamento, principalmente quando as manifestações clínicas da síndrome de Cushing são menos graves (58-62). No entanto, a possibilidade da persistência de um quadro de hipercortisolismo, mesmo que subclínico, com consequente morbidade, sobretudo a longo prazo, suscita dúvidas a cerca do real benefício de tal conduta (53, 60, 63). Nos pacientes com hipercortisolismo subclínico não há um consenso em relação à necessidade de uma terapêutica específica. Nesses casos, a presença de manifestações potencialmente relacionadas ao excesso de cortisol, tais como o diabetes e a dislipidemia, entre outras, deve ser levada em consideração para a indicação do tratamento (28).

A ressecção preferencial da adrenal que apresenta, à cintilografia, uma maior captação de iodo-131-6β-iodometil-19-norcolesterol, ou mesmo, a adrenalectomia total de um lado, associada à ressecção parcial da adrenal contralateral são outras técnicas cirúrgicas propostas, mas que ainda precisam ser melhor avaliadas (64). Em nosso estudo utilizamos a volumetria na tomografia computadorizada e o metabolismo glicolítico no ^{18}F-FDG-PET/CT para determinar a glândula a ser ressecada por completo.

A adrenalectomia parcial foi descrita inicialmente para o tratamento de doenças que acomentem as adrenais bilateralmente. Atualmente as evidências acerca do uso dessa técnica para HMAP são limitadas, incluindo um pequeno número de casos descritos como parte de coortes que abordaram uma ampla variedade de tumores de adrenal (65-68). Até este momento, os resultados deste tipo de tratamento cirúrgico no

controle do hipercortisolismo não é conhecido. Com o objetivo de evitar os inconvenientes da reposição hormonal permanente e, ao mesmo tempo, minimizar os risco de hipercortisolismo, estudamos uma série de pacientes com HMAP tratados com adrenalectomia laparoscópica da maior glândula (ou com maior funcionalidade) simultânea à adrenalectomia parcial laparoscópica contralateral, procedimento que denominamos de **cirurgia poupadora de adrenal**.

1.4 Insuficiência adrenal pós-operatória

Como descrito anteriormente, a HMAP pode se apresentar clinicamente com uma ampla variedade de sinais clínicos associados ao grau de hipercortisolismo, incluindo a síndrome de Cushing manifesta e o hipercortisolismo subclínico, situações que levam à indicação do tratamento cirúrgico devido aos riscos que essas condições trazem ao paciente.

Uma consequência conhecida nesses casos é a insuficiência adrenal pós-operatória. Esta condição exige que se realize reposição de glicocorticoides no intra e pós-operatório, para evitar crises e até que o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal se normalize, como já foi previamente descrito (69). Acredita-se que um dos fatores mais determinantes no tempo de duração da insuficiência adrenal é o grau do hipercortisolismo, por isto, pacientes com graus mais graves de síndrome de Cushing levariam mais tempo para recuperar a função do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Entretanto, os dados em literatura sobre a insuficiência adrenal pós-operatória são mais comumente relacionados a adrenalectomia unilateral para tratamento de síndrome de Cushing ou hipercortisolismo subclínico por nódulos autônomos (70, 71). Lamas et al. relataram quatro pacientes submetidos a adrenalectomia unilateral por HMAP, sendo

que dois deles apresentaram insuficiência adrenal por, respectivamente, 14 e 60 meses após a cirurgia (63).

Diante destes fatos, optamos por avaliar a função glandular e o tempo de insuficiência adrenal após a **cirurgia poupadora de adrenal** na HMAP, além dos possíveis fatores que podem estar envolvidos no tempo de recuperação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.

2. Objetivos

Baseado na existência de uma nova estratégia de abordagem cirúrgica no tratamento da HMAP, a cirurgia poupadora de adrenal, este trabalho tem como objetivos:

I. Avaliar a eficácia da cirurgia poupadora de adrenal como forma de tratamento da HMAP, utilizando como parâmetros tempo cirúrgico, tempo de internação hospitalar, complicações intra e pós-operatórias, controle do hipercortisolismo, recuperação do funcionamento do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e evolução de parâmetros clínicos e metabólicos no seguimento pós-operatório.

II. Definir quais os fatores que influenciam no tempo de recuperação ou não da função do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal no pós-operatório.

III. Avaliar correlação entre o volume das adrenais e sua captação (SUV) no exame ^{18}F-FDG-PET/CT.

3. Método

3.1 Desenho do Estudo

O presente trabalho compreende a avaliação retrospectiva dos pacientes submetidos à cirurgia poupadora de adrenal a partir de outubro de 2010 e seguidos de forma prospectiva, além da avaliação prospectiva dos pacientes que foram operados a partir de julho de 2016. A literatura utilizada foi levantada a partir de busca nas bases de dados Pubmed e Scielo, abrangendo estudos publicados entre 1964 a 2018.

O estudo foi conduzido de acordo com princípios éticos, seguindo as orientações contidas na declaração de Helsinki. Consentimento por escrito foi obtido de todos os pacientes ou pais/ tutores antes que os procedimentos de pesquisa fossem iniciados. O estudo foi submetido à Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, tendo sido aprovado (protocolo de pesquisa CAPPesq nº1.412.423- Anexo 1). O projeto foi devidamente registrado na Plataforma Brasil (Anexo 2). Todos os pacientes participantes assinaram o termo de consentimento livre esclarecido (Apêndice 1), o qual foi devidamente explicado para cada um deles.

3.2 Época e Local do estudo

As cirurgias dos pacientes incluídos no estudo foram realizadas entre outubro de 2010 e janeiro de 2017, no Insituto Central do HCFMUSP.

As avaliações clínicas foram realizadas no Ambulatório de Urologia (Grupo de Cirurgia de Adrenal) da Divisão de Clínica Urológica do HCFMUSP e no Ambulatório de Endocrinologia (Unidade de Suprarrenal) da Disciplina de Endocrinologia e Metabologia do HCFMUSP.

3.3 Pacientes

3.3.1 Seleção dos pacientes

Foram avaliados 17 indivíduos com diagnóstico de HMAP e que foram submetidos ao tratamento cirúrgico com a cirurgia poupadora de adrenal (adrenalectomia laparoscópica total com adrenalectomia laparoscópica parcial contralateral) no Grupo de Cirurgia de Adrenal da Divisão de Clínica Urológica do HCFMUSP. Foram incluídos pacientes com seguimento pós-operatório mínimo de 12 meses e mediana de seguimento pós-operatório de 41 meses.

Optou-se por não incluir um grupo controle por se tratar de uma doença muito rara (<2% das causas de SC) e pelo fato de o tratamento padrão preconizado na literatura ser a adrenalectomia total bilateral, que cursa com insuficiência adrenal permanente, com necessidade de reposição de glicocorticoide e mineralocorticoide indefinidamente pelo paciente.

3.3.2 Dados demográficos

Dos 17 pacientes tratados, sete (41%) apresentavam síndrome de Cushing, enquanto os demais dez (59%) apresentavam hipercortisolismo subclínico. Todos foram submetidos à cirurgia poupadora de adrenal em tempo cirúrgico único, exceto o sujeito número 8, que já havia previamente sido submetido a adrenalectomia total esquerda em outro serviço. Esse paciente apresentou recorrência da síndrome de Cushing quatro anos após o primeiro procedimento. A mediana da idade no momento da indicação da cirurgia foi de 50 anos (41-69), a mediana do o IMC foi de 29 kg/m^2, e entre os 17 pacientes, 5 eram homens (29,5%) e 12 eram mulheres (70,5%). A mutação no gene *ARMC5* foi identificada em 11 dos 17 pacientes incluídos no estudo, o que corresponde a 64,7% da amostra. As descrições das mutações encontram-se no

Anexo 3. Duas pacientes (11%) apresentavam diagnóstico de meningioma associado a HMAP.

Onze pacientes (65%) apresentavam supressão da produção de ACTH e todos os 17 pacientes da amostra apresentaram ausência de supressão da produção de cortisol após o teste de supressão com 1mg de dexametasona (cortisol >1,8µg/L), com valor médio do cortisol sérico de 14,5µg/dL (3,2-32,8). Apenas um dos pacientes da casuística não fazia uso de medicação para hipertensão arterial, 11 deles faziam tratamento para diabete melito (65%) e nove para dislipidemia (53%).

A volumetria das adrenais revelou que o volume médio das adrenais direitas e esquerdas foi de, respectivamente, 21,9 cm^3(5-52,8) e 37,1 cm^3(2-220). O valor de SUVmax nas adrenais, avaliado pela ^{18}F-FDG-PET/CT, foi, em média, de 3,5 (2,6-8,9). A Tabela 1 mostra de maneira resumidas as características dos pacientes na apresentação.

3.3.3 Critérios de inclusão e exclusão

Critérios de inclusão:

- Idade entre 18 e 70 anos
- Diagnóstico laboratorial e radiológico de HMAP com indicação de tratamento cirúrgico (síndrome de Cushing manifesta ou hipercortisolismo subclínico associado a síndrome metabólica);

Critérios de exclusão:

- Graves comorbidades que impediam realização de procedimento cirúrgico;
- Pacientes já submetidos a algum tratamento cirúrgico para HMAP em ambas as adrenais.

Tabela 1-Características dos pacientes na apresentação.

													Volume Adrenal TC (cm^3)		Captação no PET/CT (SUV)	
N	**Idade (anos)**	**Sexo**	**IMC (kg/m2)**	**Escore Charlson**	**Quadro inicial**	**Mutação ARMC5**	**Meningioma**	**Cortisol Sérico (µg/dL)**	**Cortisol Salivar (µg/dL)**	**Cortisol Urinário (µg/dL)**	**ACTH (pg/mL)**	**Teste de supressão com Dexametasona (µg/dL)**	**Esq**	**Dir**	**Esq**	**Dir**
1	53	F	49	1	HS	-	-	8,9	0,21	172	<5	5,0	26,4	13,2	5,0	5,1
2	63	F	41	3	SC	+	+	25,9	0,48	450	<5	32,8	54,5	19,2	8,9	7,1
3	49	F	27	2	SC	+	-	27,8	0,32	364	<5	27,1	11,4	47,2	4,1	5,5
4	45	F	23	1	SC	+	-	18,5	0,65	389	<5	18,7	17,4	38,1	3,4	2,7
5	45	M	29	1	SC	+	-	26,6	0,75	1419	<5	3,9	220	67	4,9	3,3
6	45	F	31	1	SC	+	-	12,7	0,08	78	<5	7,2	10,1	9,3	3,6	3,8
7	52	M	35	4	SC	+	-	26,8	0,85	100	<5	25,1	48,6	41,2	5,6	5,0
8	50	F	28	1	SC	-	-	28,6	0,98	619	<5	29,6	2	-	4,2	-
9	41	M	27	0	HS	+	-	13,7	0,19	28	11	10,5	33,5	52,8	4,4	4,9
10	68	M	28	3	HS	-	-	24,9	0,03	157	13,9	6,3	19,1	8,4	6,8	5,7
11	47	F	34	2	HS + INC	-	-	6	0,09	90	<5	12,4	33,1	15,3	3,0	2,6
12	47	F	41	1	HS	+	-	17	0,13	213	<5	15,7	23	18,3	4,1	4,7
13	49	F	21	3	HS + MENI	-	+	16	0,11	80	16,9	4,9	7,9	5	4,0	4,8
14	69	F	26	3	HS + INC	-	-	10,5	0,05	34	20	3,2	13,2	16,3	3,2	3,4
15	69	F	36	2	HS+ INC	+	-	10,8	0,014	21	<5	13,9	50,5	9,8	4,7	4,3
16	61	M	35	3	HS + FAM	+	-	9,1	0,06	17	4,6	3,7	9,5	12,6	2,3	4,1
17	41	F	48	0	HS + FAM	+	-	14,9	0,07	12	16,7	7,8	4,8	5,1	4,4	4,5

Valores de referência: cortisol sérico= 5-25 µg/dL; cortisol salivar = 0,09-1,55 µg/dL; cortisol urinário= 50-310 µg/24h (até paciente 13); cortisol urinário livre = 3,0 a 4,3 ug/24h (a partir do paciente 14); ACTH = 7,2-63,3 pg/ml; teste de supressão com 1mg de dexametasona = cortisol < 1,8 µg/dL.
SC: síndrome de Cushing; HS:hipercortisolismo subclínico, INC: incidentaloma; MENI: meningioma; FAM: rastreio familiar.

3.4 Métodos

3.4.1 Avaliação clínica dos pacientes

Os pacientes foram inicialmente esclarecidos sobre a natureza do estudo e submetidos a uma anamnese e exame físico minuciosos. Foram avaliado altura, peso, índice de massa corpórea, pressão arterial sistólica e diastólica, quantidade de medicamentos para diabetes melito, dislipidemia e hipertensão arterial sistêmica, bem como tempo destas e de diagnóstico da HMAP.

3.4.2 Avaliação laboratorial inicial

Para a investigação inicial da síndrome de Cushing foram realizados dois exames laboratoriais, a dosagem do cortisol salivar à meia-noite e o teste de supressão com 1 mg de dexametasona via oral à meia-noite. No primeiro exame, foi colhida uma amostra da saliva do paciente à meia-noite. Um valor do cortisol salivar maior que 0,13 μg/dL foi considerado compatível com a alteração do ritmo circadiano normal do cortisol (2, 72). No segundo exame laboratorial, cada indivíduo ingeriu dois comprimidos de 0,5 mg de dexametasona à meia-noite, realizando-se a coleta de sangue para a dosagem do cortisol, entre 7 e 8 horas da manhã seguinte. Um valor do cortisol sérico maior ou igual a 1,8 μg/dL foi considerado um indicativo da perda da supressividade do cortisol à dexametasona, alteração presente na síndrome de Cushing (2). Os resultados dos exames laboratoriais foram interpretados levando-se em consideração o contexto clínico do paciente e os resultados dos exames de imagem. Foi investigada a presença de dislipidemia, sendo realizadas as dosagens de colesterol total, lipoproteína de baixa densidade, lipoproteína de alta

densidade e triglicérides. Foram realizadas também análise da função renal (uréia e creatinina séricas), glicemia de jejum e hemoglobina glicosilada.

Todas as amostras laboratoriais obtidas em campo foram coletadas, centrifugadas (quando indicado), refrigeradas e transportadas conforme preconizado. Para a coleta dos exames, foi solicitado pelo menos 48 horas de abstinência etílica. O cortisol salivar foi coletado em recipientes apropriados, após um período de quatro horas de jejum e sem escovar os dentes, sendo mantido a uma temperatura de 2 a 8ºC, até a análise. As amostras de sangue para a dosagem do cortisol sérico e dos exames bioquímicos foram colhidas após 12 horas de jejum, em tubos secos a vácuo com gel separador. Todas as dosagens hormonais e bioquímicas desta etapa foram realizadas no Laboratório de Hormônios e Genética Molecular LIM/42 e Laboratório Central do HCFMUSP.

3.4.3 Avaliação radiológica

Todos os pacientes foram avaliados com exames de imagem para diagnóstico da HMAP antes da cirurgia. Foram submetidos a uma tomografia computadorizada das adrenais com contraste endovenoso iodado não iônico, em tomógrafos de 64 e 128 canais, com objetivo de caracterizar a morfologia das glândulas e para cálculo da volumetria dessas.

Adotou-se como volume normal de uma glândula adrenal normal o valor entre 3,6 e 6,1 cm^3, baseando-se em estudos utilizaram a tomografia para avaliar a volumetria de adrenais sem doença (73-77).

A análise dos exames foi realizada na janela padrão de abdome e no plano axial. As glândulas adrenais, inclusive as lesões nodulares, foram delineadas

manualmente em cada corte tomográfico de forma rigorosa, excluindo-se os tecidos adiposos adjacentes. Com base na área de interesse demarcada, o *software* calculou o volume em centímetros cúbicos de cada adrenal. Para realização da volumetria, foram utilizadas as imagens do Sistema de Comunicação e Armazenamento de Imagens – sigla em inglês, PACS (*Picture Archiving and Communication System*) – do HCFMUSP. O *software* dedicado para análise das imagens foi o *Phillips iSite*.

Os exames de imagem foram revisados, de forma independente, por dois médicos radiologistas do Instituto de Radiologia do HCFMUSP especialistas em imagem abdominal e com experiência em imagem de adrenal.

3.4.4 Complementação da propedêutica laboratorial

O diagnóstico da HMAP foi estabelecido diante da confirmação da perda da supressividade do cortisol no teste de supressão após administração de 1mg de dexametasona e/ou da elevação do cortisol salivar à meia-noite, em pacientes com alterações radiológicas compatíveis com a doença (presença de um ou mais nódulos adrenais>1cm e/ou espessamento de uma ou ambas as glândulas). Uma vez confirmado o diagnóstico, a propedêutica laboratorial foi complementada mediante a realização dos seguintes exames: cortisol total em urina de 24 horas ou cortisol livre em urina de 24 horas; sulfato de desidroepiandrosterona sérica; androstenediona sérica; testosterona total sérica; e ACTH. Esses exames visavam quantificar de forma indireta a produção do cortisol em um período de 24 horas (cortisol total ou cortisol livre em urina de 24 horas), bem como avaliar a síntese androgênica adrenal (sulfato de desidroepiandrosterona, androstenediona e testosterona total) e investigar o grau de supressão do ACTH, em decorrência da produção autônoma do cortisol.

3.4.5 Investigação de meningiomas

Exames de ressonância magnética de encéfalo foram realizados no HCFMUSP, sendo empregadas as seguintes técnicas: *spin echo*, com sequências pesadas em T1, antes e após a administração de contraste paramagnético (gadolíneo); *fast spin echo* e *gradient echo*, ambas pesadas em T2; e *fluid-attenuated inversion recovery* (FLAIR). Foram adquiridas imagens multiplanares e realizadas também sequências de difusão.

3.4.6 Exame de ^{18}F-FDG-PET/CT

Os exames de ^{18}F-FDG-PET/CT foram realizados na Unidade de Medicina Nuclear do HCFMUSP, em conformidade com um protocolo estabelecido na literatura e adotado pelo hospital (46, 78). Um médico especializado em medicina nuclear participou diretamente da execução e interpretação dos exames.

Baseando-se em recentes estudos (43, 48), adotou-se como valor aumentado de captação da ^{18}F-FDG pela adrenal com macronódulos o valor de SUVmax>3,1. O radiotraçador (^{18}F-FDG) foi administrado por via intravenosa, através de punção da veia antecubital, na dose de 0,15-0,2 mCi/kg (5,55-7,40 MBq/kg). A dose menor foi utilizada para paciente com menos de 70 kg e a maior para os paciente mais pesados.

3.4.7 Mutação do Gene ARMC5

Todos os pacientes do estudo foram submetidos ao teste genético para avaliar presença de mutação somática no gene *ARMC5*. Esta avaliação foi feita a partir de coleta do sangue periférico.

Os DNAs de leucócito foram extraídos pelo método de *Salting Out* de acordo com o protocolo estabelecido pelo laboratório LIM/42 da Faculdade de Medicina da USP, para análise de mutações germinativas do gene *ARMC5*. O DNA extraído foi

purificado e realizada reação em cadeia da polimerase para multiplicação dos trechos de interesse (*primers* pré-selecionados). Esses, por sua vez, foram submetidos ao processo de eletroforese, a partir do qual se identificou trechos de mutação no gene *ARMC5*.

3.4.8 Adrenalectomia videolaparoscópica- cirurgia poupadora de adrenal

O tratamento cirúrgico foi indicado em três circunstâncias: 1. Presença de síndrome de Cushing independentemente da idade do paciente. 2. Hipercortisolismo subclínico em pacientes com idade menor que 50 anos. 3. Hipercortisolismo subclínico associado a hipertensão arterial sistêmica (HAS) de difícil controle ou síndrome metabólica em pacientes com idade entre 50 e 70 anos.

Uma vez realizado o diagnóstico de HMAP, com a indicação do tratamento cirúrgico, os pacientes foram submetido a avaliação pré-operatória pela equipe de Anestesiologia. Em caso de necessidade, avaliação cardiológica mais detalhada também foi realizada.

Os pacientes foram internados com antecedência para preparo pré-operatório e receberam dose subcutânea de Enoxaparina 40mg na véspera da cirurgia, com intervalo mínimo de 12 horas antes do procedimento. O tempo de jejum para a cirurgia foi de 8 horas. Uma dose de 100mg de hidrocortisona endovenosa foi administrada antes do início da cirurgia, na indução anestésica.

O acesso cirúrgico escolhido foi o laparoscópico transperitoneal lateral. Nesta abordagem são realizadas 4 punções para trocarteres conforme a técnica convencional descrita por Zacharias et al. (79), semelhante à revisada por Mellon et al. (80). O paciente é posicionado em decúbito lateral contralateral ao lado da glândula a ser operada.

No lado direito realizamos acesso à adrenal direita rebatendo-se o fígado superiormente e realizando sua dissecção entre o rim direito, veia cava e o fígado propriamente dito. No lado esquerdo, o acesso à adrenal esquerda é realizado rebatendo-se o cólon esquerdo medialmente. Acessa-se o retroperitônio e realiza-se a dissecção da adrenal esquerda entre o pâncreas, baço e rim esquerdo.

Optou-se por iniciar pela adrenalectomia parcial do lado com menor volume ou menor atividade glicolítica na ^{18}F-FDG-PET/CT. Durante a dissecção da glândula, sempre que possível, foi realizada preservação da veia adrenal principal, bem como os ramos arteriais da porção da adrenal que será preservada. Uma vez definida a porção da adrenal a ser mantida (aproximadamente 1/3 do volume de uma glândula normal), procede-se a secção da glândula. Utilizamos clipes hemostáticos do tipo Hem-o-lok® (Weck®), de 10 mm, para proceder a secção e hemostasia. Retira-se a peça com uso de saco plástico ampliando-se uma das incisões de trocarter de 10mm. Assim que a peça cirúrgica é retirada, é prontamente avaliada pela equipe e amostras são retiradas para análise anatomopatológica e biomolecular. A Figura 1 ilustra as adrenais aumentadas e com nódulos bilateralmente na TC e no ^{18}F-FDG-PET/CT, com as respectivas peças cirúrgicas, em um paciente da série.

Terminada a adrenalectomia parcial, o paciente é reposicionado para realização da adrenalectomia total do lado contralateral. Sempre que possível procuramos aproveitar pelo menos uma das punções de trocarteres previamente realizadas para realizar novamente o pneumoperitônio.

Assim, inicia-se a adrenalectomia total do lado contralateral, desta vez, a glândula com maiores nódulos ou maior atividade glicolítica na ^{18}F-FDG-PET/CT . Após a dissecção da adrenal hiperplasiada, a ligadura da veia adrenal é realizada com

clipes hemostáticos de polipropileno, sendo dois clipes na parte proximal do vaso e um clipe na parte distal A peça é retirada da mesma maneira já descrita e encaminhada para análise.

Logo após o procedimento, inicia-se a reposição de glicocorticoide na dose de 50mg de hidrocortisona endovenosa a cada 8 horas. Assim que paciente começa a receber dieta oral, a reposição de hidrocortisona passa a ser de 20mg às 08:00h e 10mg às 14:00h.

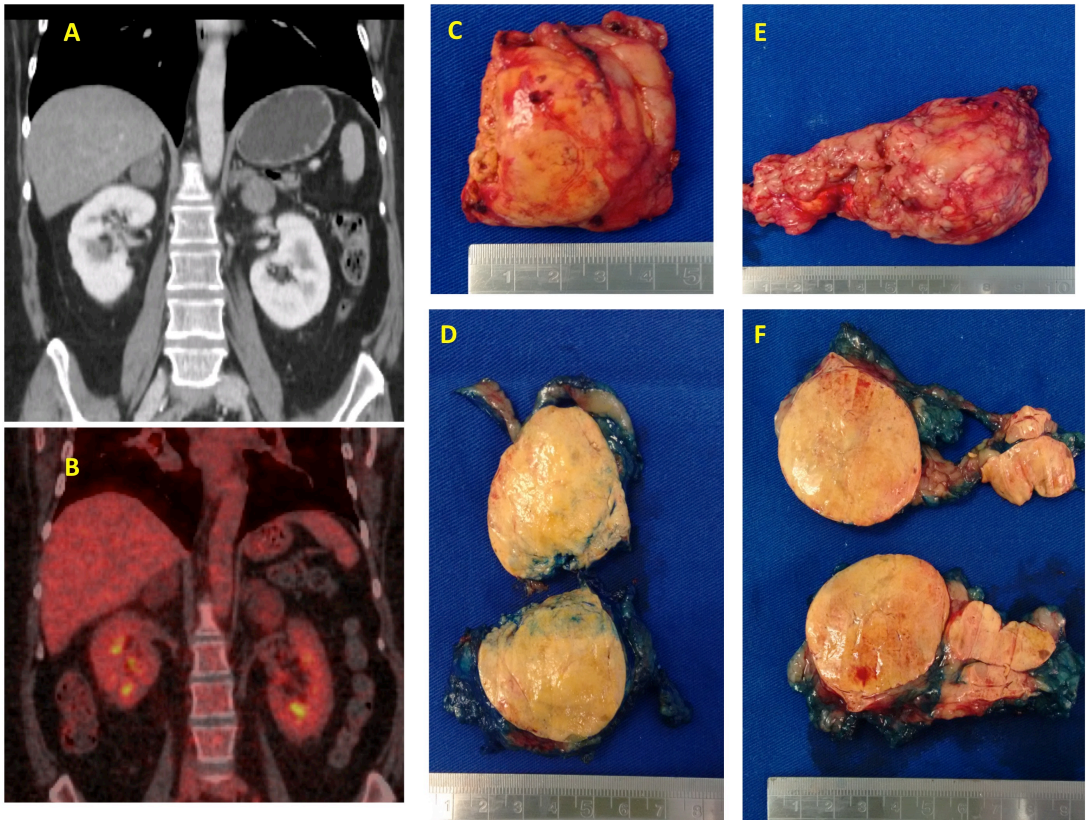


Figura 1-Aspecto das adrenais hiperplasiadas e respectivas peças cirúrgicas na HMAP. A: imagem de tomografia. B: imagem no ^{18}F-FDG-PET/CT. C: peça cirúrgica – adrenalectomia parcial direita. D: peça cirúrgica aberta e com superfície corada com tinta nanquim- adrenalectomia parcial direita. E: peça cirúrgica – adrenalectomia total esquerda. F: peça cirúrgica aberta e com superfície corada com tinta nanquim – adrenalectomia total esquerda**.**

3.4.9 Exames de controle pós-operatório

Após a cirurgia, as consultas médicas ocorreram mensalmente no primeiro trimestre, e a cada 3 meses até completar 1 ano, e a cada 6 meses após este período. Nas consultas avaliou-se os parâmetros metabólicos (glicemia de jejum, hemoglobina glicosada, colesterol total e frações, triglicérides) e clínicos (pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica, peso, índice de massa corpórea, número de medicamentos para hipertensão arterial, diabetes e dislipidemia).

O cortisol sérico basal da manhã foi medido antes de cada consulta (antes da dose matinal de hidrocortisona nos pacientes em reposição hormonal). A dose de hidrocortisona foi ajustada baseada no cortisol sérico e nos sinais e sintomas. Reposição de fludocortisona (50 µg/dia) foi prescrita quando o paciente apresentava episódios de hipotensão arterial associada a níveis elevados de renina. A reposição de glicocorticoide

era interrompida quando o cortisol sérico basal atingia valor > 8,8 µg/dL, nível preditivo de recuperação do eixo, descrito em estudo recente (81). O teste da cortrosina foi realizado para avaliar a resposta do tecido adrenal remanescente (valor de corte para resposta foi cortisol sérico maior que 18 ug/dL aos 60 minutos). Este teste não foi realizado em toda a coorte pois não se encontrava disponível em nossa instituição durante a maior parte do período do estudo (Anexo 4).

Uma tomografia de controle pós-operatória foi realizada com 3 meses foi utilizada para a realização da volumetria da adrenal remanescente.

3.5 Desfechos

3.5.1 Desfecho primário

A efetividade das técnica poupadora de adrenal, o controle do hipercortisolismo após a cirurgia poupadora de adrenal, associado à recuperação da função fisiológica do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal foram considerados como desfechos primários do estudo. Os parâmetros clínicos e metabólicos foram avaliados nas consultas médicas e pelos exames laboratoriais, previamente já descritos, no seguimento pós-operatório. Uma vez constatado o retorno da função do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (cortisol sérico basal> 8,8 µg/dL), o valor de cortisol pós teste de supressão com dexametasona 1mg foi empregado para confirmar que não se tratava de hipercortisolismo. Um valor do cortisol sérico maior ou igual a 1,8 ug/dL foi considerado um indicativo da perda da supressividade do cortisol à dexametasona.

3.5.2 Desfecho secundário

O desfecho secundário do estudo foi a determinação de qual(is) fator(es) foram determinantes para a recuperação da função fisiológica do eixo hipotálamo-hipófise adrenal e para a manutenção em insuficiência adrenal após a cirurgia poupadora de

adrenal. Os fatores avaliados foram: idade, sexo, índice de massa corpórea, cortisol sérico, cortisol pós teste de supressão com 1mg de dexametasona, presença de mutação do gene *ARMC5*, presença de meningioma, tempo de doença – consideramos tempo entre diagnóstico radiológico da HMAP com achado de macronódulos em adrenais ou da síndrome metabólica até o momento da cirurgia poupadora de adrenal, volume da maior adrenal no pré operatório,volume residual da adrenal remanescente no pós-operatório e ACTH sérico pré-operatório (mensurável ou supresso).

Também foi realizado estudo avaliando a correlação entre o volume das glândulas adrenais, calculado na tomografia pré-operatória, com a sua atividade glicolítica avaliada no exame ^{18}F-FDG-PET/CT.

3.6 Análise estatística do estudo

A fim de avaliar o tempo até a recuperação da função do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal em relação aos fatores de interesse, as curvas de sobrevida foram estimadas por meio do estimador de Kaplan-Meier. As curvas de recuperação da função adrenal foram comparadas por meio do teste log-rank. Além disso, os fatores de riscos foram avaliados por meio do modelo de riscos proporcionais de Cox simples, sendo sua influência medida pela razão dos riscos (RR).

Também foi realizada a mesma análise descrita com relação ao evento contrário, ou seja, com objetivo de identificar possíveis fatores de risco para a ocorrência de insuficiência adrenal.

Foi empregado o teste não paramétrico de Friedman na comparação dos parâmetros clínicos e metabólicos dos pacientes submetidos à cirurgia poupadora de adrenal em três momentos diferentes (pré-operatório, 12 meses pós-operatório e última

avaliação). No caso de indícios de diferença significativa entre os momentos, o teste de comparação múltipla com correção de Bonferroni foi aplicado com o objetivo de identificar em qual momento encontrava-se a diferença.

O coeficiente de Spearman foi utilizado para avaliar a correlação entre as variáveis cortisol pós teste de supressão com 1mg de dexametasona, volume da adrenal e valor de captação de radiofármaco no exame ^{18}F-FDG-PET/CT.

Em todos os testes o nível de significância foi fixado em 5%. Assim, resultados cujos valores p são menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. A análise estatística foi realizada por meio do *software* IBM® SPSS versão 24 e do *software* livre R.

4. Resultados

4.1 Dados da cirurgia e evolução pós-operatórios

O tempo cirúrgico médio foi de 199 ± 39 minutos (160-300); o tempo anestésico médio foi de 322 ± 72 minutos (210-510). Não ocorreram complicações intra-operatórias. Uma paciente precisou ser reabordada no pós-operatório imediato devido a sangramento no leito cirúrgico. Previamente havia sido submetida a alcoolização desta adrenal, sem sucesso no controle do hipercortisolismo. O tempo médio de internação após a cirurgia foi de sete dias (3-23 dias). Uma paciente evoluiu com hérnia incisional em portal laparoscópico, que foi posteriormente corrigida. A Tabela 2 mostra esses dados resumidos.

Onze pacientes foram submetidos a adrenalectomia total esquerda e parcial direita (64%), enquanto os demais, adrenalectomia total direita e parcial esquerda (36%). O peso médio das peças cirúrgicas de adrenalectomia total foi de 56,3g(22-158), ao passo que as peças de adrenalectomia parcial tiveram peso médio de 23,3g (9,4-46,7).

O tempo médio de seguimento da população do estudo foi de 37 meses. No seguimento pós-operatório, quatro pacientes necessitaram de reposição de mineralocorticoides (23%), e dentre estes, dois permaneceram com necessidade de uso prolongado deste tipo de hormônio. Dos 17 pacientes do estudo, 12 (70,5%) recuperaram a função da adrenal para produção de cortisol, enquanto os demais 5 (29,5%) permanecem dependentes de reposição oral de hidrocortisona. Com relação ao quadro clínico inicial, entre os pacientes com síndrome de Cushing, 29% apresentaram recuperação da função hormonal. Já entre os pacientes com quadro clínico de hiperocortisolismo subclínico, a taxa de recuperação da função hormonal foi de 90%. O tempo médio para a recuperação da função do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal foi de 32

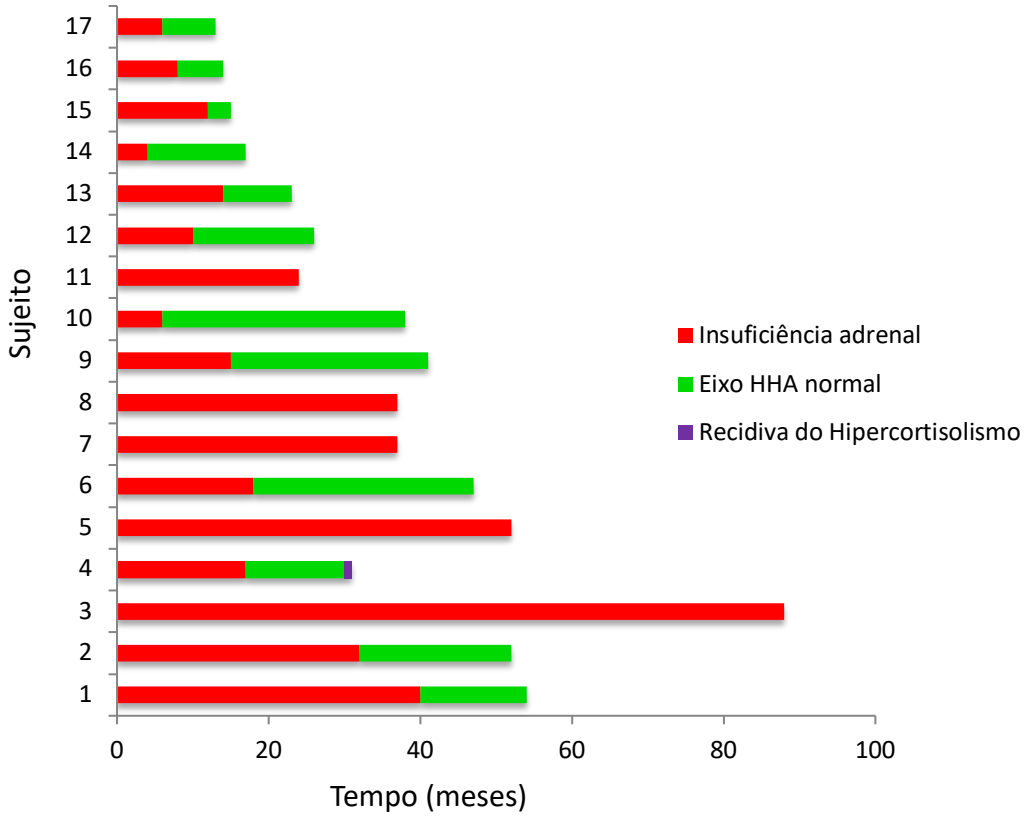
meses. O volume médio de glândula adrenal remanescente, avaliado na tomografia com 3 meses pós-operatório foi de 4,1 cm^3(0,6-12,1cm^3).

Uma paciente (sujeito número 5) evoluiu com recidiva do hipercortisolismo quatro anos após a realização da cirurgia poupadora de adrenal. O diagnóstico da recidiva foi feito pela ausência de supressão do cortisol no teste de supressão com dexametasona, com valor de 7,9ug/dL, apesar de valor normal do cortisol sérico (10,8ug/dL). Tomografia mostrou crescimento da adrenal remanescente e a paciente foi submetida a novo procedimento de adrenalectomia parcial laparoscópica, que ocorreu sem intercorrências. A evolução da recuperação da função hormonal de todo o grupo está representada na Figura 2.

Tabela 2 - Características intra-operatórias e seguimento.

					Peso da peça (g)		Volumetria adrenal Pós-operatória (cm^3)				
N	**Tempo Cirúrgico (min)**	**Tempo Anestésico (min)**	**Tempo de Internação (dias)**	**Lado da Adrenalectomia Parcial**	**Esq**	**Dir**	**Esq**	**Dir**	**Recuperação eixo hipotálamo-hipófise-adrenal**	**Tempo de reposição hormonal (meses)**	**Tempo de Seguimento (meses)**
1	180	280	4	D	40,2	9,4	0	0,6	+	40	54
2	200	270	23	D	158,9	15,9	0	6,2	+	32	52
3	170	285	9	E	50	(ambas)	6,9	0	-	88	88
4	195	300	3	D	65,8	11,8	0	8,5	+	17	40
5	240	390	3	D	57	22,9	0	12,1	-	52	52
6	160	390	7	D	32,3	23,1	0	2,1	+	18	47
7	190	510	5	D	65	33,2	0	3,6	-	42	42
8	125	210	11	D	-	18	0	0,4	-	42	42
9	240	320	8	E	45,9	74,2	5	0	+	15	41
10	190	370	10	D	46,6	13,9	0	3,3	+	6	38
11	210	330	8	D	55,5	22,3	0	0,5	-	28	28
12	180	330	8	E	46,7	39,6	6,7	0	+	10	26
13	190	280	5	E	21,3	29,0	3	0	+	14	23
14	205	250	10	E	17,3	31,5	3,6	0	+	4	17
15	300	385	5	D	90,3	20	0	2	+	12	15
16	240	360	4	E	30,8	22	3	0	+	8	14
17	180	225	3	D	36,7	22	0	1	+	6	13

Figura 2 – Evolução da função hormonal no decorrer do tempo (meses)



4.2 Recuperação da função adrenal e insuficiência adrenal

Na Figura 3 observa-se a curva de sobrevida geral dos 17 pacientes para a recuperação da função hormonal. A mediana da recuperação da função adrenal foi de 17 meses (IC(95%)=[11,62;22,38]), ou seja, com 17 meses de pós-operatório 50% destes pacientes tinham recuperado a função do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Nota-se que a partir de 40 meses a recuperação da função adrenal fica estável em 22,9%, ou seja, a probabilidade de um paciente não recuperar a função em pelo menos 40 meses é de 22,9%.

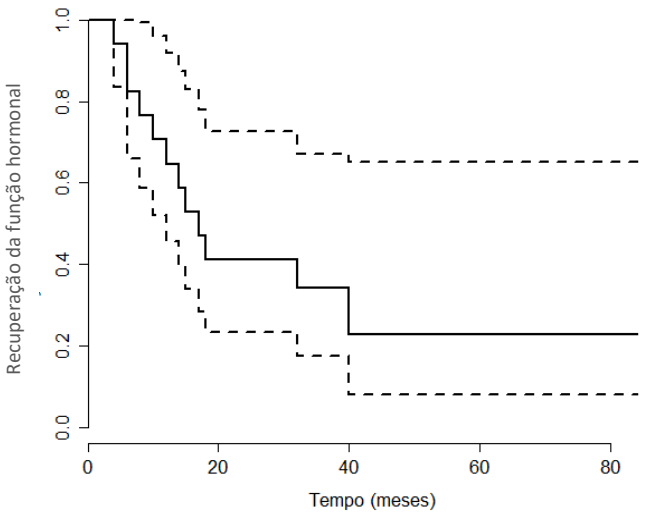


Figura 3 - Curva de recuperação da função do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.
Curva de sobrevida geral (linha contínua) juntamente com o IC(95%) para a função de sobrevida (linha tracejada).

Por meio da Tabela 3 é possível observar que o ACTH sérico mensurável foi o único fator importante para explicar o tempo até a recuperação da função do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Pode-se dizer ainda que aqueles os que apresentavam nível de ACTH sérico mensurável apresentavam uma chance de mais de 12 vezes (RR=12,15) de atingir a recuperação da função hormonal em relação aos pacientes que apresentavam níveis séricos de ACTH não mensuráveis (supresso).

Tabela 3 - Modelo de regressão de Cox – Recuperação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.

Variável	p	RR	IC(95%) para RR	
			Inferior	Superior
ACTH (mensurável)	**0,003**	12,15	2,366	62,38
Cortisol sérico basal	**0,077**	0,936	0,870	1,007
Cortisol pós teste de supressão	**0,104**	0,949	0,892	1,011
Volume da maior adrenal	**0,150**	0,980	0,954	1,007
SUVMAX	**0,822**	0,952	0,622	1,458
SUVMAX (>3,1)	**NA**			
Mutação do gene *ARMC5*	**0,972**	0,979	0,294	3,256
Meningioma	**0,672**	1,393	0,300	6,482
Sexo	**0,799**	1,186	0,320	4,398
Idade	**0,063**	1,069	0,996	1,146
IMC	**0,747**	1,012	0,943	1,085
IMC_cat (>30)	**0,655**	1,302	0,409	4,152
Tempo de doença	**0,103**	1,011	0,998	1,025
Volume adrenal pós-operatório	**0,486**	0,942	0,797	1,114

*NA: não é possível estimar, pois não há pacientes com o evento de interesse.
SUVMAX: captação máxima da adrenal no exame de ^{18}F-FDG-PET/CT; IMC: índice de massa corpórea.

A Tabela 4, por sua vez, mostra que nenhuma das variáveis foi determinante para explicar a não recuperação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e, consequentemente, a manutenção da insuficiência adrenal (p>0,05).

Tabela 4 -Modelo de regressão de Cox – Insuficiência adrenal.

Variável	p	RR	IC(95%) para RR	
			Inferior	Superior
ACTH mensurável	**NA**			
Cortisol sérico basal	**0,562**	0,964	0,852	1,091
Cortisol pós teste de supressão	**0,993**	0,9996	0,917	1,090
Volume da maior adrenal	**0,851**	0,999	0,986	1,012
SUVMAX	**0,108**	0,198	0,028	1,425
SUVMAX (>3,1)	**NA**			
Mutação do gene *ARMC5*	**0,387**	0,347	0,031	3,824
Meningioma	**NA**			
Sexo (1)	**0,670**	0,650	0,089	4,732
Idade	**0,577**	0,913	0,662	1,258
IMC	**0,777**	0,977	0,835	1,145
IMC_cat (>30)	**0,474**	2,427	0,214	27,47
Tempo de doença	**0,200**	1,027	0,986	1,071
Volume adrenal pós-operatório	**0,411**	0,875	0,637	1,203

*NA: não é possível estimar, pois não há pacientes com o evento de interesse.
SUVMAX: captação máxima da adrenal no exame de ^{18}F-FDG-PET/CT; IMC: índice de massa corpórea.

4.3 Avaliação clínica e metabólica

A partir da análise clínica e metabólica dos paciente operados, observou-se redução do peso nessa população. O peso médio inicial era de 87,9 kg, passando para 81,6 kg ao fim de 12 meses, e a 83,3 kg na última medida. Por meio da comparação múltipla foi possível afirmar que a diferença se deu entre o peso médio inicial e o peso médio com 12 meses de pós-operatório (p=0,003). Apesar de ter se observado

um aumento no peso médio na última medida, esta variação não foi significativa estatisticamente.

Com relação à pressão arterial sistólica, antes da cirurgia, o valor médio era de 145mmHg antes da cirurgia, passando a 121mmHg aos 12 meses de seguimento e, em seguida a 125mmHg na última medida. Já para a pressão arterial diastólica, os valores médios antes da cirurgia, com 12 meses de seguimento e na última medida foram, respectivamente, de 91mmHg, 78mmHg e 79mmHg. Observou-se diferença estatística entre o valor inicial e as duas medidas pós-operatórias

O número de medicamentos para hipertensão foi outro parâmetro clínco no qual a cirurgia poupadora de adrenal trouxe benefício. Antes da cirurgia, os pacientes utilizavam, em média, 2,8 medicamentos para controle da pressão arterial. Após a cirurgia, este número caiu para 1,11 aos 12 meses de seguimento e, para 1,05 na última medida realizada. Observou-se diferença estatística significativa entre essas medidas. Com relação ao número de medicamentos para diabetes, o teste indica que há uma diferença entre os três momentos (valor p=0,021), no entanto ao realizar a comparação múltipla não foi encontrada diferença significativa.

Para os demais parâmetros estudados não houve diferença significativa entre os valores pré e pós-operatórios.

Tabela 5-Medidas-resumo das variáveis clínicas e metabólicas.

Variável	Média	Mediana	Desvio Padrão	p*	Comparação múltipla p ajustado**
Peso					
inicial	87,941	86,000	23,703		**0,003**
12 meses	81,588	85,000	19,918	**0,004**	0,31
última medida	83,300	88,000	20,345		0,31
Índice de massa corpórea					
inicial	32,840	30,543	8,241		
12 meses	30,535	29,000	6,366	0,051	
última medida	29,902	30,080	5,618		
Pressão arterial sistólica					
inicial	145,294	140,000	23,984		**0,002**
12 meses	121,647	120,000	17,920	**0,001**	**0,018**
última medida	125,941	130,000	9,503		**1**
Pressão arterial diastólica					
inicial	91,118	90,000	10,982		**0,024**
12 meses	79,412	80,000	11,974	**0,001**	**0,008**
última medida	78,824	80,000	6,002		1
Medicamentos - dislipidemia					
DLP	0,588	1,000	0,618		
12 meses	0,412	0,000	0,507	0,368	
última medida	0,412	0,000	0,507		
Medicametos - diabetes					
inicial	0,941	1,000	0,827		0,368
12 meses	0,588	0,000	0,795	**0,021**	0,595
última medida	0,647	0,000	0,862		1
Medicamentos – hipertensão					
inicial	2,824	3,000	1,629		**0,006**
12 meses	1,118	1,000	0,993	**<0,0001**	**0,002**
última medida	1,059	1,000	1,029		1
Glicemia					
inicial	116,471	108,000	38,429		
12 meses	99,529	98,000	20,902	0,138	
última medida	97,647	90,000	21,380		
Hemoglobina glicosilada					
inicial	6,618	6,200	1,284		
12 meses	6,294	5,900	0,983	0,42	
última medida	6,082	5,900	0,630		
Colesterol total					
inicial	207,059	199,000	38,845		
12 meses	185,176	179,000	38,767	0,092	
última medida	184,882	181,000	32,907		
LDL					
inicial	117,412	110,000	30,780		
12 meses	105,824	112,000	34,233	0,664	
última medida	111,588	113,000	39,875		
HDL					
inicial	50,294	50,000	12,984		
12 meses	50,235	48,000	14,558	0,884	
última medida	49,000	48,000	11,763		
Triglicérides					
inicial	180,588	156,000	92,684		
12 meses	160,353	148,000	60,777	0,356	
última medida	174,765	176,000	75,583		

*Teste de Friedman. **Comparação múltipla com correção de Bonferroni.
IMC: índice de massa corpórea; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; DLP: dislipidemia.

4.4 Correlação entre volume adrenal pré-operatório x cortisol sérico pós teste de supressão com dexametasona x SUVmax no exame ^{18}F-FDG-PET/CT.

Com o objetivo de avaliar a presença de uma correlação entre o volume adrenal pré-operatório, o cortisol sérico no teste de supressão com dexametasona e o valor de SUVmax no exame ^{18}F-FDG-PET/CT, o coeficiente de correlação de Spearman foi calculado. É possível observar que há indícios de uma correlação positiva fraca (r=0,393) entre o valor SUVMAX e o volume da adrenal (p=0,024). Ou seja, quanto maior o volume da adrenal, maior sua atividade glicolítica e, consequentemente, maior a captação no exame ^{18}F-FDG-PET/CT. A Figura 4 mostra o gráficos de dispersão entre essas variáveis.

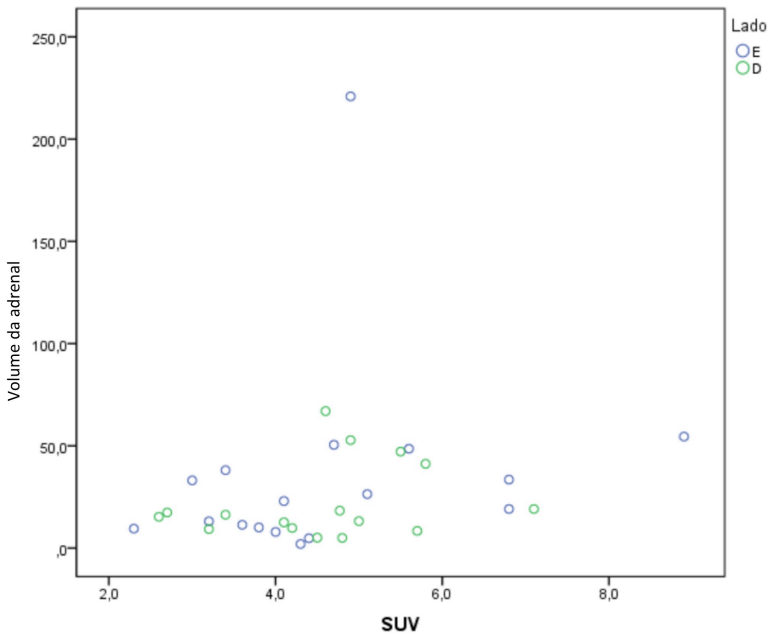


Figura 4 - Gráfico de dispersão entre SUV e volume da adrenal.

SUV: captação da adrenal no exame de ^{18}F-FDG-PET/CT.; E: esquerdo; D: direito.

5. Discussão

O tratamento da HMAP com a cirurgia poupadora de adrenal mostrou no presente estudo bons resultados, atingindo controle satisfatório do hipercortisolismo e melhora de parâmetros clínicos e metabólicos relacionados com a síndrome de Cushing. Em nossa casuística obtivemos 95% de controle do hipercortisolismo, com apenas um caso de recidiva e 70,5% dos pacientes apresentaram retorno da função fisiológica do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal sem necessidade de reposição hormonal, em tempo médio de 32 meses. Além disso, a abordagem cirúrgica em tempo único se mostrou segura, com uma taxa aceitável de complicações em uma coorte de pacientes com importantes comorbidades clínicas associadas à síndrome metabólica.

Em nossa coorte o nível sérico de ACTH mensurável (não supresso) foi um fator preditivo de menor tempo de recuperação da função do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (p=0,003). Por outro lado nenhuma das variáveis avaliadas influenciaram de maneira importante a manutenção da insuficiência adrenal. Além disso, os pacientes operados apresentaram melhora significante do peso (88 para 82 kg), da pressão arterial sistólica (145 para 121mmHg), da pressão arterial diastólica (91 para 78mmHg) e do número de medicamentos para hipertensão arterial (2,8 para1,1). Por fim, foi confirmada a correlação entre volume da adrenal e a captação desta em SUV no exame de ^{18}F-FDG-PET/CT (p=0,024).

Recentemente Debillon et al. descreveram o tratamento de HMAP com adrenalectomia unilateral, também com bons resultados (60% de controle do hipercortisolismo), mas com 13% de recorrência da doença, em 7 anos de seguimento (62). Dos 15 pacientes operados, seis apresentaram insuficiência adrenal pós-operatória, mas apenas um permaneceu nessa condição após 5 anos de

seguimento. Em nossa série de casos a resolução do hipercortisolismo foi de 95%, com um caso de recorrência, com um seguimento médio de 37 meses. Pode-se inferir que pacientes tratados com a cirurgia proposta pelo presente estudo levariam mais tempo para recorrência devido ao menor volume de tecido adrenal remanescente, o que acreditamos que tem um papel fundamental nos resultados do tratamento. O volume médio de tecido adrenal remanescente em nossa coorte foi de 4,1 cm^3, valor muito próximo de uma adrenal normal avaliada por tomografia, conforme citado previamente. Anteriormente já foi sugerido que 15-30% de tecido glandular de adrenal remanescente seriam suficientes para manter a produção hormonal fisiológica quando se realiza adrenalectomia parcial para a maioria das patologias da glândula adrenal (82). No entanto, esta proporção pode ser diferente quando lidamos com HMAP, que não é uma doença focal e acomete a glândula em sua totalidade. Mais que isso, HMAP está frequentemente associada a mutações germinativas que são carregadas por toda a vida, colocando estes pacientes em alto risco de recorrência. Por isso, acreditamos que um seguimento mais prolongado é essencial para melhor analisar a chance de recorrência de hipercortisolismo em pacientes submetidos à cirurgia poupadora de adrenal.

A insuficiência adrenal pós-adrenalectomia é um fenômeno que costuma ocorrer após tratamento cirúrgico de pacientes com síndrome de Cushing ou hipercortisolismo subclínico causados por nódulo adrenal autônomo unilateral. Esta condição é explicada pela supressão do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal causada pelo hipercortisolismo. Recentemente Di Dalmazi et al. (83) publicaram uma revisão sistemática da literatura envolvendo 28 estudos, num total de 248 pacientes operados por hipercortisolismo subclínico e 377 operados por síndrome de Cushing. A

prevalência de insuficiência adrenal pós-operatória foi de 65,3% no grupo com hipercortisolismo subclínico e 99,7% no grupo com síndrome de Cushing, enquanto o tempo médio para recuperação da função do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal foi, respectivamente, de 6,5 e 11,2 meses. Prete et al. (84) observaram, em uma análise retrospectiva, que pacientes com síndrome de Cushing primária manifesta tratados com adrenalectomia unilateral apresentaram um período de insuficiência adrenal de 18,5 meses, enquanto aqueles com hipercortisolismo subclínico tratados da mesma maneira apresentaram um período de 6 meses.

Em um estudo de 2010, Eller-Vainicher et al. (85) demonstraram que os pacientes com hipercortisolismo subclínico submetidos a adrenalectomia unilateral que apresentavam a associação de pelo menos dois de quatro fatores listados (cortisol pós teste de supressão com dexametasona 1mg> 5µg/dL; cortisol urinário livre>60 µg/dL; cortisol sérico da meia-noite>5,4µg/dL; e ACTH<10 pg/dL) tiveram maior risco de desenvolver insuficiência adrenal no pós-operatório (RR=10,5; IC(95%)=[2,54; 42,95], p=0,001). No presente estudo observamos que o valor mensurável de ACTH sérico (não supresso) foi um fator importante para determinar o tempo de recuperação da função fisiológica do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (p=0,003). Este achado vai de encontro com a literatura, uma vez que os pacientes com ACTH não supresso são aqueles que apresentam, teoricamente, um hipercortisolismo menos grave, e menor supressão do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, apresentando assim, um potencial para recuperar mais rapidamente a função hormonal da adrenal remanescente.

A condição de insuficiência adrenal após a cirurgia poupadora de adrenal é uma questão que poderia ser explicada por duas diferentes hipóteses: 1. O tecido

adrenal preservado foi insuficiente para sustentar uma produção fisiológica de cortisol. 2. Uma inibição prolongada ou irreversível do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal causado por uma produção exacerbada de cortisol e por tempo prolongado. Não identificamos fatores que foram estatisticamente importantes para explicar a manutenção em insuficiência adrenal. Tais achados podem estar relacionados ao pequeno tamanho da amostra do presente estudo (17 pacientes), com uma parcela menor ainda de pacientes que permaneceram com insuficiência adrenal até o momento (cinco pacientes). É provável também, que com maior tempo de seguimento e maior número de pacientes seja possível identificar fatores que possam predizer um risco aumentado de o paciente desenvolver insuficiência adrenal após tratamento cirúrgico de HMAP com a cirurgia poupadora de adrenal. O que se observou, entretanto, é que entre os sete pacientes com síndrome de Cushing, apenas dois recuperaram a função hormonal (29%). Por outro lado, nove dos dez pacientes com hipercortisolismo subclínico atingiram essa condição (90%). Assim, pode-se inferir que nos pacientes com grau menor de hipercortisolismo houve uma tendência à recuperação da função hormonal ser melhor, o que vai de acordo com a literatura apresentada. É possível observar também em nosso estudo que, no decorrer do tempo, passou-se a indicar cirurgia em pacientes com graus de hipercortisolismo menos graves, que, por sua vez, apresentaram melhor taxa de recuperação da função hormonal.

A cirurgia poupadora de adrenal se mostra como alternativa à adrenalectomia total bilateral para o tratamento da HMAP, uma vez que minimiza os riscos da resposição hormonal, da recorrência do hipercortisolismo e melhora na síndrome metabólica (56). Não há dúvidas de que pacientes com SC manifesta e

hipercortisolismo subclínico associado a comorbidades se beneficiam do tratamento cirúrgico da HMAP. Se por um lado há evidências de que sugerem que a obesidade abdominal residual e a resistência insulínica podem persisir mesmo após o tratatamento cirúrgico da HMAP (86), foi demonstrado que pacientes com hipercortisolismo subclínico e incidentaloma de adrenal submetidos a adrenalectomia unilateral evoluíram com redução do peso, melhora da hipertensão arterial e dos níveis de glicemia e redução do risco de eventos cardiovasculares (17, 87-89). Em 2009, Toniato et al. (87) publicaram um estudo em que 45 pacientes com hipercortisolismo subclínico devido a incidentaloma de adrenal foram randomizados em dois grupos, um para tratamento cirúrgico (adrenalectomia – 23 pacientes) e outro para seguimento clínico (22 pacientes). O seguimento foi de 15 anos. No grupo operado, observou-se melhora no diabetes em 62,5% dos pacientes, da hipertensão em 67%, da dislipidemia em 37,5% e da obesidade em 50%. Já nos pacientes em seguimento clínico, constatou-se piora na diabetes, dislipidemia e hipertensão(87). Da mesma maneira, Yiu et al. (90) demonstraram que um tratamento efetivo da síndrome de Cushing normaliza a extensão da fibrose miocárdica causada pelo hipercortisolismo. Assim, o tratamento cirúrgico deve ser considerado com para oferecer um melhor controle das comorbidades clínicas consequentes do hipercortisolismo de maneira rápida e efetiva.

No presente estudo observou-se, nos pacientes submetidos à cirurgia poupadora de adrenal, melhora significativa do peso de 88kg para 82kg, da pressão arterial sistólica de 145mmHg para 122mmHg, da pressão arterial diastólica de 91mmHg para 79mhHg e do número de medicamentos para hipertensão de 2,8 para 1,1. Por outro lado, não foi observada melhora siginfigicativa nos número de

medicamentos para dislipidemia e diabetes nem nos valores de glicemia, hemoglobina glicosilada, triglicérides, colesterol total e suas frações. Tais achados foram muito semelhantes aos encontrados por Debillon et al.(62), que observou melhora no peso, pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica e diabetes em pacientes com HMAP submetidos a adrenalectomia unilateral.

De fato, há pacientes em que a adrenalectomia unilateral seria o tratamento mais adequado, enquanto em outros esta opção poderia levar a recorrência precoce do hipercortisolismo, tal qual ocorreu com o sujeito número 8 de nossa coorte. Estes fatos reforçam a teoria de que o tratamento cirúrgico da HMAP deve ser individualizado, de acordo com as características de cada paciente. Por isso, acreditamos que os limites da ressecção parcial da adrenal devem ser precisos, de acordo com o volume total da adrenal e da gravidade do hipercortisolismo de cada paciente. Essa é uma resposta que ainda buscamos.

Outra questão a ser respondida é como escolher qual a adrenal será submetida à ressecção total e qual à ressecção parcial. Atualmente esta decisão é baseada nos exames de imagem. Escolhemos realizar a adrenalectomia total no lado com maior volume na tomografia e/ou maior captação na ^{18}F-FDG-PET/CT. Esse exame tem sido muito empregado para a diferenciação entre lesões adrenais malignas e benignas (46, 47). Metser et al. (46) defendem a utilização do SUVmax para a diferenciação das lesões adrenais malignas (SUVmax > 3,1) e benignas (SUVmax ≤ 3,1). As lesões malignas normalmente possuem um alto metabolismo de glicose devido à proliferação celular aumentada e, por isso, apresentam uma maior captação da ^{18}F-FDG. Em estudo recente, Cavalcante et al. (48) avaliaram 12 pacientes com diagnóstico de HMAP que realizaram ^{18}F-FDG-PET/CT. Os valores de SUVmax

variaram de 3,3 a 8,9 e observou-se uma forte correlação entre o aumento de captação no ^{18}F-FDG-PET/CT e o maior diâmetro da adrenal.. No presente estudo o valor de SUVmax nas adrenais, avaliado pela ^{18}F-FDG-PET/CT, foi, em média, de 3,5 e observou-se correlação entre os valores de SUVmax e o volume da maior adrenal (p=0,024). O mecanismo que explicaria a maior atividade metabólica dos nódulos adrenais na HMAP, uma doença benigna, ainda não é compreendido

Diante destes resultados, é possível afirmar que, na HMAP a glândula de maior volume tem maior atividade glicolítica e, possivelmente, é reponsável por maior produção hormonal. Nesse sentido, o PET/CT, que é um exame de alto custo e mais difícil acesso, especialmente no setor de saúde pública, num futuro próximo e com mais tempo de seguimento, poderia ser dispensado para a decisão da estratégia terapêutica da cirurgia poupadora de adrenal.

O presente estudo apresenta, de maneira original, a primeira série de casos em que se realizou tratamento cirúrgico da HMAP com a cirurgia poupadora de adrenal, em pacientes seguidos de maneira prospectiva.Tem também como pontos fortes a experiência da equipe cirúrgica (mais de 50 adrenalectomias por ano) e o seguimento multidisciplinar dos pacientes. Como limitações, parte dos pacientes foi estudado de forma retrospectiva e o número de pacientes incluídos foi relativamente pequena. Além disso, não houve grupo controle para comparação dos resultados do tratamento, tampouco uma randomização. Estes pacientes continuarão a ser seguidos e seus resultados trarão mais informações. Na prática clínica, essa técnica apresenta grande potencial para ser consagrada como opção para o tratamento da HMAP, sendo intermediária entre a adrenalectomia unilateral e a adrenalectomia total bilateral. Temos convicção de que são necessários mais estudos para identificar a

melhor estratégia para cada paciente de acordo com as características de sua doença (grau de hipercortisolismo, volume da adrenal, tamanho dos nódulos, idade, comorbidades clínicas). Do mesmo modo, a volume ideal da glândula residual suficiente para manter as funções fisiológicas e, ao mesmo tempo, sem recorrência do hipercortisolismo precisa ser definido.

Visando oferecer o melhor tratamento possível para os pacientes com HMAP, nossos esforços devem ser focados em encontrar o volume ideal de tecido adrenal remanescente individualizado para cada paciente. Esta resposta ainda não foi obtida. Em recente estudo realizado em nosso serviço, Srougi et al. descreveram a experiência inicial do uso de impressão 3D no planejamento de adrenalectomia parcial (91). Este paciente tinha diagnóstico de HMAP e foi submetido à cirurgia poupadora de adrenal e segue sem necessidade de reposição hormonal, tampouco tem sinais de recorrência da doença. A impressão 3D ainda é cara e pouco disponível, mas mostrou sua utilidade especialmente em casos com nódulos próximos à veia adrenal principal, auxiliando assim, no planejamento da tática cirúrgica. A adrenalectomia com uso da cirurgia robótica tem se apresentado como opção, com numerosos estudos envolvendo esta técnica, entretanto ainda há poucas evidências acerca de suas vantagens e desvantagens sobre a adrenalectomia laparoscópica convencional (92, 93). Já consagrado nos EUA e Europa, o uso da técnica robótica ainda está se difundindo no Brasil, especialmente para o tratamento cirúrgico do câncer de próstata, mas com pouco emprego no campo de cirurgia de adrenal até o momento

6. Conclusões

A cirurgia poupadora de adrenal se mostrou como uma opção de tratamento cirúrgico segura e efetiva na HMAP, apresentando bom controle do hipercortisolismo, baixo índice de recidiva e alta porcentagem de pacientes sem necessidade de reposição hormonal. Os pacientes submetidos à cirurgia poupadora de adrenal em nossa coorte apresentaram melhora significativa no peso, pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica e número de medicamentos para controle de hipertensão.

O nível sérico de ACTH mensurável antes da cirurgia poupadora de adrenal se mostrou um fator preditivo de menor tempo para recuperação da função fisiológica do eixo hipotálamo-hipófise adrenal no pós-operatório.

Os dados do presente estudo demonstraram que adrenais de maior volume apresentam maior atividade metabólica.

7. Anexos

Anexo 1 – Parecer da CAPPesq HCFMUSP.

Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq

PROJETO DE PESQUISA

Título: ADRENALECTOMIA BILATERAL SUBTOTAL VIDEOLAPAROSCÓPICA NO TRATAMENTO CIRÚRGICO DA HIPERPLASIA MACRONODULAR ADRENAL PRIMÁRIA
Pesquisador Responsável: Miguel Srougi **Versão: 3**
Pesquisador Executante: Fabio Yoshiaki Tanno **CAAE:** 42846315.7.0000.0068
Coautores: José Luis Chambô, Maria Candida Villares Barrison Villares Fragoso, Berenice Bilharinho de Mendonça.
Finalidade Acadêmica Doutorado
Instituição: HCFMUSP
Departamento: CIRURGIA

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Registro on-line: 13201

Número do Parecer: 1.412.423

Data da Relatoria: 17/02/16

Apresentação do Projeto: Já relatado.

Objetivo da Pesquisa: Já relatado.

Avaliação dos Riscos e Benefícios: Item corrigido no projeto.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa: O projeto foi reavaliado pelo CONEP que fez diversas sugestões, todas corrigidas pelos pesquisadores.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória: Adequados.

Recomendações: Aprovado.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações: Aprovado.

Situação do Parecer: Aprovado.

Necessita Apreciação da CONEP: Não.

São Paulo, 18 de Fevereiro de 2016

Prof. Dr. Alfredo José Mansur
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq

Rua Dr. Ovídio Pires de Campos, 225 - Prédio da Administração - 5º andar
CEP 05403-010 - São Paulo - SP.
55 11 2661-7585 - 55 11 2661-6442 ramais: 16, 17, 18 | marcia.carvalho@hc.fm.usp.br

Anexo 2 – Folha de rosto – Plataforma Brasil.

MINISTÉRIO DA SAÚDE - Conselho Nacional de Saúde - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP

FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

1. Projeto de Pesquisa: Adrenalectomia Bilateral Subtotal Videolaparoscópica no Tratamento Cirúrgico da Hiperplasia Macronodular Adrenal Primária			2. Número de Participantes da Pesquisa: 15
3. Área Temática: Novos procedimentos terapêuticos invasivos;			
4. Área do Conhecimento: Grande Área 2. Ciências Biológicas			
PESQUISADOR RESPONSÁVEL			
5. Nome: Miguel Srougi			
6. CPF: 479.239.118-00	7. Endereço (Rua, n.º): BARATA RIBEIRO, 414 BELA VISTA 7º and SAO PAULO SAO PAULO 01308000		
8. Nacionalidade: BRASILEIRO	9. Telefone: (11) 3257-8002	10. Outro Telefone:	11. Email: secretaria.uro@hcnet.usp.br
12. Cargo:			

Termo de Compromisso: Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Resolução CNS 466/12 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e a publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não. Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima. Tenho ciência que essa folha será anexada ao projeto devidamente assinada por todos os responsáveis e fará parte integrante da documentação do mesmo.

Data: _____ / _____ / _____ _____

Assinatura

INSTITUIÇÃO PROPONENTE		
13. Nome: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP	14. CNPJ: 60.448.040/0001-22	15. Unidade/Órgão:
16. Telefone: (11) 3069-6442	17. Outro Telefone:	

Termo de Compromisso (do responsável pela instituição): Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Resolução CNS 466/12 e suas Complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução.

Responsável: _____ CPF: _____

Cargo/Função: _____

Data: _____ / _____ / _____ _____

Assinatura

PATROCINADOR PRINCIPAL

Não se aplica.

Anexo 3 – Resumo das variantes alélicas do gene ARCM5 identificadas**.**

Sujeito	Variante alélica germinativa do *ARMC5*	Localização	Estado	Predição	Alterção somática do *ARMC5*	Localização	Estado	Predição
1	normal				NA			
2	c.476-1G>C	Intron1	Heterozigótico	Patogênico#	c.2053_2055delCTT (p.Leu685del)	Exon 6	Heterozigótico	Significância Incerta*
3	c.1181T>C (p.Leu394Prol)	Exon 3	Heterozigótico	Significância Incerta*	c.1559delG (p.Gly520Aspfs*24)	Exon 4	Heterozigótico	Patogênico*
4	c.170dupG (p.Ile58Asnfs*45)	Exon 1	Heterozigótico	Patogênico*	LOH			
5	c.2423A>C (p.His808Pro)	Exon 6	Heterozigótico	Provável patogênico*	c.283_295delTCGGCCGCGTCGGG (p.Ser96Serfs*2)	Exon 1	Heterozigótico	Provável patogênico*
6	c.170dupG (p.Ile58Asnfs*45)	Exon 1	Heterozigótico	Patogênico*	c.2082_2088delCCCGCTC (p.Pro695Serfs*20)	Exon 6	Heterozigótico	Provável patogênico*
7	c.280_281delT (p.Ser94Valfs*8)	Exon 1	Heterozigótico	Provável patogênico*	Ausente			
8	Normal				NA			
9	c.1960C>T (p.Arg654*)	Exon 5	Heterozigótico	Provável patogênico*	c.1575_1582delCCTGCTGC (p.Leu526Alafs*9)	Exon 4	Heterozigótico	Provável patogênico*
10	Normal				NA			
11	Normal				NA			
12	c.799C>T (p.Arg267*, rs369721476)	Exon 3	Heterozigótico	Significância incerta*	Ausente			
13	Normal				NA			
14	Normal				NA			
15	c.407T>C (p.Leu136Pro, rs771845578)	Exon 1	Heterozigótico	Significância Incerta*	NA			
16	c.1094T>C (p.Leu365Pro, rs587777663)	Exon 3	Heterozigótico	Significância Incerta*	c.295G>T (p.Gly99*)	Exon 1	Heterozigótico	Provável patogênico*
17	c.1094T>C (p.Leu365Pro, rs587777663)	Exon 3	Heterozigótico	Significância Incerta*	LOH			

#: Predição feita usando o “Human splicing finder” (http://www.umd.be/HSF/)
*:Predição feita usando o “Varsome The Human Genomics Community” (https://varsome.com/)

Anexo 4 – Resultados do teste de cortrosina.

Sujeito	Cortisol sérico basal (µg/dL)	Cortisol pós-cotrosina (µg/dL)	
		30’	60’
9	5,9	18,8	19,9
12	11,9	N/A	21,3

Recuperação do eixo HHA: cortisol sérico >18 µg/dL medido 60 minutos após a administração de 250ug de Cortrosina sintética.

8. Referências Bibliográficas

1. Cushing H. The basophil adenomas of the pituitary body and their clinical manifestations (pituitary basophilism). 1932. Obes Res. 1994;2(5):486-508.

2. Nieman LK, Biller BM, Findling JW, Newell-Price J, Savage MO, Stewart PM, et al. The diagnosis of Cushing's syndrome: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. J Clin Endocrinol Metab. 2008;93(5):1526-40.

3. Nieman LK. Recent Updates on the Diagnosis and Management of Cushing's Syndrome. Endocrinology and metabolism. 2018;33(2):139-46.

4. Arnaldi G, Angeli A, Atkinson AB, Bertagna X, Cavagnini F, Chrousos GP, et al. Diagnosis and complications of Cushing's syndrome: a consensus statement. The Journal of clinical endocrinology and metabolism. 2003;88(12):5593-602.

5. Newell-Price J, Bertagna X, Grossman AB, Nieman LK. Cushing's syndrome. Lancet. 2006;367(9522):1605-17.

6. Terzolo M, Bovio S, Reimondo G, Pia A, Osella G, Borretta G, et al. Subclinical Cushing's syndrome in adrenal incidentalomas. Endocrinol Metab Clin North Am. 2005;34(2):423-39, x.

7. Di Dalmazi G, Pasquali R, Beuschlein F, Reincke M. Subclinical hypercortisolism: a state, a syndrome, or a disease? Eur J Endocrinol. 2015;173(4):M61-71.

8. Chiodini I. Clinical review: Diagnosis and treatment of subclinical hypercortisolism. J Clin Endocrinol Metab. 2011;96(5):1223-36.

9. Terzolo M, Reimondo G, Bovio S, Angeli A. Subclinical Cushing's syndrome. Pituitary. 2004;7(4):217-23.

10. Chidiac RM, Aron DC. Incidentalomas. A disease of modern technology. Endocrinol Metab Clin North Am. 1997;26(1):233-53.

11. Bovio S, Cataldi A, Reimondo G, Sperone P, Novello S, Berruti A, et al. Prevalence of adrenal incidentaloma in a contemporary computerized tomography series. Journal of endocrinological investigation. 2006;29(4):298-302.

12. Mantero F, Terzolo M, Arnaldi G, Osella G, Masini AM, Ali A, et al. A survey on adrenal incidentaloma in Italy. Study Group on Adrenal Tumors of the Italian Society of Endocrinology. J Clin Endocrinol Metab. 2000;85(2):637-44.

13. Fassnacht M, Arlt W, Bancos I, Dralle H, Newell-Price J, Sahdev A, et al. Management of adrenal incidentalomas: European Society of Endocrinology Clinical Practice Guideline in collaboration with the European Network for the Study of Adrenal Tumors. European journal of endocrinology. 2016;175(2):G1-G34.

14. Tauchmanova L, Rossi R, Biondi B, Pulcrano M, Nuzzo V, Palmieri EA, et al. Patients with subclinical Cushing's syndrome due to adrenal adenoma have increased cardiovascular risk. J Clin Endocrinol Metab. 2002;87(11):4872-8.

15. Chiodini I, Viti R, Coletti F, Guglielmi G, Battista C, Ermetici F, et al. Eugonadal male patients with adrenal incidentalomas and subclinical hypercortisolism have increased rate of vertebral fractures. Clin Endocrinol (Oxf). 2009;70(2):208-13.

16. Rossi R, Tauchmanova L, Luciano A, Di Martino M, Battista C, Del Viscovo L, et al. Subclinical Cushing's syndrome in patients with adrenal incidentaloma: clinical and biochemical features. J Clin Endocrinol Metab. 2000;85(4):1440-8.

17. Bancos I, Alahdab F, Crowley RK, Chortis V, Delivanis DA, Erickson D, et al. THERAPY OF ENDOCRINE DISEASE: Improvement of cardiovascular risk factors after adrenalectomy in patients with adrenal tumors and subclinical Cushing's syndrome: a systematic review and meta-analysis. European Journal of Endocrinology. 2016;175(6):R283-R95.

18. Lopez D, Luque-Fernandez MA, Steele A, Adler GK, Turchin A, Vaidya A. "Nonfunctional" Adrenal Tumors and the Risk for Incident Diabetes and Cardiovascular Outcomes: A Cohort Study. Ann Intern Med. 2016;165(8):533-42.

19. Nieman LK, Biller BM, Findling JW, Murad MH, Newell-Price J, Savage MO, et al. Treatment of Cushing's Syndrome: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. J Clin Endocrinol Metab. 2015;100(8):2807-31.

20. Kirschner MA, Powell RD, Jr., Lipsett MB. Cushing's Syndrome: Nodular Cortical Hyperplasia of Adrenal Glands with Clinical and Pathological Features Suggesting Adrenocortical Tumor. J Clin Endocrinol Metab. 1964;24:947-55.

21. Aiba M, Hirayama A, Iri H, Ito Y, Fujimoto Y, Mabuchi G, et al. Adrenocorticotropic hormone-independent bilateral adrenocortical macronodular hyperplasia as a distinct subtype of Cushing's syndrome. Enzyme histochemical and ultrastructural study of four cases with a review of the literature. American journal of clinical pathology. 1991;96(3):334-40.

22. Alencar GA, Lerario AM, Nishi MY, Mariani BM, Almeida MQ, Tremblay J, et al. ARMC5 Mutations are a Frequent Cause of Primary Macronodular Adrenal Hyperplasia. J Clin Endocrinol Metab. 2014:jc20134237.

23. Assie G, Libe R, Espiard S, Rizk-Rabin M, Guimier A, Luscap W, et al. ARMC5 mutations in macronodular adrenal hyperplasia with Cushing's syndrome. The New England journal of medicine. 2013;369(22):2105-14.

24. Sasano H, Suzuki T, Nagura H. ACTH-independent macronodular adrenocortical hyperplasia: immunohistochemical and in situ hybridization studies of steroidogenic enzymes. Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc. 1994;7(2):215-9.

25. De Venanzi A, Alencar GA, Bourdeau I, Fragoso MC, Lacroix A. Primary bilateral macronodular adrenal hyperplasia. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes. 2014;21(3):177-84.

26. Lacroix A, Baldacchino V, Bourdeau I, Hamet P, Tremblay J. Cushing's syndrome variants secondary to aberrant hormone receptors. Trends in endocrinology and metabolism: TEM. 2004;15(8):375-82.

27. Bourdeau I, Stratakis CA. Cyclic AMP-dependent signaling aberrations in macronodular adrenal disease. Annals of the New York Academy of Sciences. 2002;968:240-55.

28. Lacroix A. ACTH-independent macronodular adrenal hyperplasia. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2009;23(2):245-59.

29. Fragoso MC, Alencar GA, Lerario AM, Bourdeau I, Almeida MQ, Mendonca BB, et al. Genetics of primary macronodular adrenal hyperplasia. The Journal of endocrinology. 2015;224(1):R31-43.

30. Antonini SR, Fragoso MC, Lacroix A. [Clinical and molecular aspects of the ACTH-independent bilateral macronodular adrenal hyperplasia]. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2004;48(5):620-36.

31. Kirk JM, Brain CE, Carson DJ, Hyde JC, Grant DB. Cushing's syndrome caused by nodular adrenal hyperplasia in children with McCune-Albright syndrome. J Pediatr. 1999;134(6):789-92.

32. Lieberman SA, Eccleshall TR, Feldman D. ACTH-independent massive bilateral adrenal disease (AIMBAD): a subtype of Cushing's syndrome with major diagnostic and therapeutic implications. Eur J Endocrinol. 1994;131(1):67-73.

33. Stratakis CA, Kirschner LS. Clinical and genetic analysis of primary bilateral adrenal diseases (micro- and macronodular disease) leading to Cushing syndrome. Horm Metab Res. 1998;30(6-7):456-63.

34. Antonini SR, Fragoso MC, Lacroix A. Hiperplasia adrenal macronodular independente de ACTH (AIMAH) - aspectos clínicos e moleculares. . Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia. 2004;48(5):620-36.

35. Christopoulos S, Bourdeau I, Lacroix A. Clinical and subclinical ACTH-independent macronodular adrenal hyperplasia and aberrant hormone receptors. Horm Res. 2005;64(3):119-31.

36. Costa MH, Lacroix A. Cushing's syndrome secondary to ACTH-independent macronodular adrenal hyperplasia. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2007;51(8):1226-37.

37. Alencar GA. Aspectos clínicos e moleculares da hiperplasia adrenal macronodular independente de ACTH em sua forma familial [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina. 2013 [acesso 2013-12-09];Disponível em: http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5135/tde-03122013-091817/.

38. Ohashi A, Yamada Y, Sakaguchi K, Inoue T, Kubo M, Fushimi H. A natural history of adrenocorticotropin-independent bilateral adrenal macronodular

hyperplasia (AIMAH) from preclinical to clinically overt Cushing's syndrome. Endocr J. 2001;48(6):677-83.

39. Swain JM, Grant CS, Schlinkert RT, Thompson GB, vanHeerden JA, Lloyd RV, et al. Corticotropin-independent macronodular adrenal hyperplasia: a clinicopathologic correlation. Archives of surgery. 1998;133(5):541-5; discussion 5-6.

40. Alencar GA, Mendonca BB, Nishi MY, Latronico AC, Almeida MQ, Lerario AM, et al. Increased Prevalence of Intracranial Meningiomas in Patients with ACTH-independent Macronodular Adrenal Hyperplasia. In: Program of the 95nd Annual Meeting of the Endocrine Society 2013; San Francisco, EUA. Endocrine Reviews, Meeting Abstracts, SUN-542013. p. SUN-54.

41. Masserini B, Morelli V, Bergamaschi S, Ermetici F, Eller-Vainicher C, Barbieri AM, et al. The limited role of midnight salivary cortisol levels in the diagnosis of subclinical hypercortisolism in patients with adrenal incidentaloma. Eur J Endocrinol. 2009;160(1):87-92.

42. Palmieri S, Morelli V, Polledri E, Fustinoni S, Mercadante R, Olgiati L, et al. The role of salivary cortisol measured by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in the diagnosis of subclinical hypercortisolism. Eur J Endocrinol. 2013;168(3):289-96.

43. Alencar GA, Fragoso MC, Yamaga LY, Lerario AM, Mendonca BB. (18)F-FDG-PET/CT imaging of ACTH-independent macronodular adrenocortical hyperplasia (AIMAH) demonstrating increased (18)F-FDG uptake. J Clin Endocrinol Metab. 2011;96(11):3300-1.

44. Verma A, Mohan S, Gupta A. ACTH-independent macronodular adrenal hyperplasia: imaging findings of a rare condition : A case report. Abdominal imaging. 2008;33(2):225-9.

45. Watson TD, Patel SJ, Nardi PM. Case 121: familial adrenocorticotropin-independent macronodular adrenal hyperplasia causing Cushing syndrome. Radiology. 2007;244(3):923-6.

46. Metser U, Miller E, Lerman H, Lievshitz G, Avital S, Even-Sapir E. 18F-FDG PET/CT in the evaluation of adrenal masses. Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine. 2006;47(1):32-7.

47. Boland GW, Blake MA, Holalkere NS, Hahn PF. PET/CT for the characterization of adrenal masses in patients with cancer: qualitative versus quantitative accuracy in 150 consecutive patients. AJR American journal of roentgenology. 2009;192(4):956-62.

48. Cavalcante IP, Zerbini MC, Alencar GA, Mariani Bde P, Buchpiguel CA, Almeida MQ, et al. High 18F-FDG uptake in PMAH correlated with normal expression of Glut1, HK1, HK2, and HK3. Acta Radiol. 2016;57(3):370-7.

49. Lacroix A, Hamet P, Boutin JM. Leuprolide acetate therapy in luteinizing hormone--dependent Cushing's syndrome. The New England journal of medicine. 1999;341(21):1577-81.

50. Oki K, Yamane K, Nakanishi S, Nakashima R, Jitsuiki K, Kohno N. Improvement of hypercortisolism by beta-blocker therapy in subclinical Cushing's syndrome associated with ACTH-independent macronodular adrenocortical hyperplasia. Endocrine. 2009;36(3):372-6.

51. de Miguel V, Redal MA, Viale ML, Kahan M, Glerean M, Beskow A, et al. Aberrant expression of glucagon receptors in adrenal glands of a patient with Cushing's syndrome and ACTH-independent macronodular adrenal hyperplasia. Medicina (B Aires). 2010;70(3):254-6.

52. Omori N, Nomura K, Omori K, Takano K, Obara T. Rational, effective metyrapone treatment of ACTH-independent bilateral macronodular adrenocortical hyperplasia (AIMAH). Endocr J. 2001;48(6):665-9.

53. Kobayashi T, Miwa T, Kan K, Takeda M, Sakai H, Kanazawa A, et al. Usefulness and limitations of unilateral adrenalectomy for ACTH-independent macronodular adrenal hyperplasia in a patient with poor glycemic control. Intern Med. 2012;51(13):1709-13.

54. Nagai M, Narita I, Omori K, Komura S, Arakawa M. Adrenocorticotropic hormone-independent bilateral adrenocortical macronodular hyperplasia treated with mitotane. Intern Med. 1999;38(12):969-73.

55. Obata Y, Yamada Y, Baden MY, Hosokawa Y, Saisho K, Tamba S, et al. Long-term efficacy of trilostane for Cushing's syndrome due to adrenocorticotropin-independent bilateral macronodular adrenocortical hyperplasia. Intern Med. 2011;50(21):2621-5.

56. Erichsen MM, Lovas K, Fougner KJ, Svartberg J, Hauge ER, Bollerslev J, et al. Normal overall mortality rate in Addison's disease, but young patients are at risk of premature death. Eur J Endocrinol. 2009;160(2):233-7.

57. Terzolo M, Pia A, Reimondo G. Subclinical Cushing's syndrome: definition and management. Clin Endocrinol (Oxf). 2012;76(1):12-8.

58. Ogura M, Kusaka I, Nagasaka S, Yatagai T, Shinozaki S, Itabashi N, et al. Unilateral adrenalectomy improves insulin resistance and diabetes mellitus in a patient with ACTH-independent macronodular adrenal hyperplasia. Endocr J. 2003;50(6):715-21.

59. Iacobone M, Albiger N, Scaroni C, Mantero F, Fassina A, Viel G, et al. The role of unilateral adrenalectomy in ACTH-independent macronodular adrenal hyperplasia (AIMAH). World J Surg. 2008;32(5):882-9.

60. Mazzuco TL, Chaffanjon P, Martinie M, Sturm N, Chabre O. Adrenal Cushing's syndrome due to bilateral macronodular adrenal hyperplasia: prediction of

the efficacy of beta-blockade therapy and interest of unilateral adrenalectomy. Endocr J. 2009;56(7):867-77.

61. Xu Y, Rui W, Qi Y, Zhang C, Zhao J, Wang X, et al. The role of unilateral adrenalectomy in corticotropin-independent bilateral adrenocortical hyperplasias. World J Surg. 2013;37(7):1626-32.

62. Debillon E, Velayoudom-Cephise FL, Salenave S, Caron P, Chaffanjon P, Wagner T, et al. Unilateral Adrenalectomy as a First-Line Treatment of Cushing's Syndrome in Patients With Primary Bilateral Macronodular Adrenal Hyperplasia. J Clin Endocrinol Metab. 2015;100(12):4417-24.

63. Lamas C, Alfaro JJ, Lucas T, Lecumberri B, Barcelo B, Estrada J. Is unilateral adrenalectomy an alternative treatment for ACTH-independent macronodular adrenal hyperplasia?: Long-term follow-up of four cases. Eur J Endocrinol. 2002;146(2):237-40.

64. Kageyama Y, Ishizaka K, Iwashina M, Sasano H, Kihara K. A case of ACTH-independent bilateral macronodular adrenal hyperplasia successfully treated by subtotal resection of the adrenal glands: four-year follow-up. Endocrine journal. 2002;49(2):227-9.

65. Zhang Y, Li H. Classification and surgical treatment for 180 cases of adrenocortical hyperplastic disease. International journal of clinical and experimental medicine. 2015;8(10):19311-7.

66. Neumann HP, Reincke M, Bender BU, Elsner R, Janetschek G. Preserved adrenocortical function after laparoscopic bilateral adrenal sparing surgery for hereditary pheochromocytoma. J Clin Endocrinol Metab. 1999;84(8):2608-10.

67. Diner EK, Franks ME, Behari A, Linehan WM, Walther MM. Partial adrenalectomy: the National Cancer Institute experience. Urology. 2005;66(1):19-23.

68. Liao CH, Chung SD, Lai MK, Yu HJ, Chueh SC. Laparoscopic simultaneous bilateral partial and total adrenalectomy: a longer follow-up. BJU Int. 2009;104(9):1269-73.

69. Daitch JA, Goldfarb DA, Novick AC. Cleveland Clinic experience with adrenal Cushing's syndrome. J Urol. 1997;158(6):2051-5; quiz 275.

70. Doherty GM, Nieman LK, Cutler GB, Jr., Chrousos GP, Norton JA. Time to recovery of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis after curative resection of adrenal tumors in patients with Cushing's syndrome. Surgery. 1990;108(6):1085-90.

71. Kulshreshtha B, Arora A, Aggarwal A, Bhardwaj M. Prolonged adrenal insufficiency after unilateral adrenalectomy for Cushing's Syndrome. Indian journal of endocrinology and metabolism. 2015;19(3):430-2.

72. Raff H, Raff JL, Findling JW. Late-night salivary cortisol as a screening test for Cushing's syndrome. The Journal of clinical endocrinology and metabolism. 1998;83(8):2681-6.

73. Prionas ND, Gillen MA, Boone JM. Longitudinal volume analysis from computed tomography: Reproducibility using adrenal glands as surrogate tumors. Journal of medical physics. 2010;35(3):174-80.

74. Wang X, Jin ZY, Xue HD, Liu W, Sun H, Chen Y, et al. Evaluation of Normal Adrenal Gland Volume by 64-slice CT. Chinese medical sciences journal = Chung-kuo i hsueh k'o hsueh tsa chih. 2013;27(4):220-4.

75. Lam KY, Chan AC, Lo CY. Morphological analysis of adrenal glands: a prospective analysis. Endocrine pathology. 2001;12(1):33-8.

76. Schneller J, Reiser M, Beuschlein F, Osswald A, Pallauf A, Riester A, et al. Linear and volumetric evaluation of the adrenal gland--MDCT-based measurements of the adrenals. Acad Radiol. 2014;21(11):1465-74.

77. Serifoglu I, Oz II, Bilici M. The Adrenal Gland Volume Measurements in Manifestation of the Metabolic Status in Type-2 Diabetes Mellitus Patients. Int J Endocrinol. 2016;2016:7195849.

78. Tessonnier L, Sebag F, Palazzo FF, Colavolpe C, De Micco C, Mancini J, et al. Does 18F-FDG PET/CT add diagnostic accuracy in incidentally identified non-secreting adrenal tumours? European journal of nuclear medicine and molecular imaging. 2008;35(11):2018-25.

79. Zacharias M, Haese A, Jurczok A, Stolzenburg JU, Fornara P. Transperitoneal laparoscopic adrenalectomy: outline of the preoperative management, surgical approach, and outcome. European urology. 2006;49(3):448-59.

80. Mellon MJ, Sethi A, Sundaram CP. Laparoscopic adrenalectomy: Surgical techniques. Indian journal of urology : IJU : journal of the Urological Society of India. 2008;24(4):583-9.

81. Leong SH, Shander S, Ratnasingam J. PREDICTING RECOVERY OF THE HYPOTHALAMIC-PITUITARY-ADRENAL AXIS AFTER PROLONGED GLUCOCORTICOID USE. Endocr Pract. 2018;24(1):14-20.

82. Brauckhoff M, Gimm O, Thanh PN, Bar A, Ukkat J, Brauckhoff K, et al. Critical size of residual adrenal tissue and recovery from impaired early postoperative adrenocortical function after subtotal bilateral adrenalectomy. Surgery. 2003;134(6):1020-7; discussion 7-8.

83. Di Dalmazi G, Berr CM, Fassnacht M, Beuschlein F, Reincke M. Adrenal function after adrenalectomy for subclinical hypercortisolism and Cushing's syndrome: a systematic review of the literature. J Clin Endocrinol Metab. 2014;99(8):2637-45.

84. Prete A, Paragliola RM, Bottiglieri F, Rota CA, Pontecorvi A, Salvatori R, et al. Factors predicting the duration of adrenal insufficiency in patients successfully treated for Cushing disease and nonmalignant primary adrenal Cushing syndrome. Endocrine. 2017;55(3):969-80.

85. Eller-Vainicher C, Morelli V, Salcuni AS, Torlontano M, Coletti F, Iorio L, et al. Post-surgical hypocortisolism after removal of an adrenal incidentaloma: is it predictable by an accurate endocrinological work-up before surgery? Eur J Endocrinol. 2010;162(1):91-9.

86. Colao A, Pivonello R, Spiezia S, Faggiano A, Ferone D, Filippella M, et al. Persistence of increased cardiovascular risk in patients with Cushing's disease after five years of successful cure. J Clin Endocrinol Metab. 1999;84(8):2664-72.

87. Toniato A, Merante-Boschin I, Opocher G, Pelizzo MR, Schiavi F, Ballotta E. Surgical versus conservative management for subclinical Cushing syndrome in adrenal incidentalomas: a prospective randomized study. Ann Surg. 2009;249(3):388-91.

88. Chiodini I, Morelli V, Salcuni AS, Eller-Vainicher C, Torlontano M, Coletti F, et al. Beneficial metabolic effects of prompt surgical treatment in patients with an adrenal incidentaloma causing biochemical hypercortisolism. J Clin Endocrinol Metab. 2010;95(6):2736-45.

89. Di Dalmazi G, Vicennati V, Garelli S, Casadio E, Rinaldi E, Giampalma E, et al. Cardiovascular events and mortality in patients with adrenal incidentalomas that are either non-secreting or associated with intermediate phenotype or subclinical Cushing's syndrome: a 15-year retrospective study. Lancet Diabetes Endocrinol. 2014;2(5):396-405.

90. Yiu KH, Marsan NA, Delgado V, Biermasz NR, Holman ER, Smit JW, et al. Increased myocardial fibrosis and left ventricular dysfunction in Cushing's syndrome. Eur J Endocrinol. 2012;166(1):27-34.

91. Srougi V, Rocha BA, Tanno FY, Almeida MQ, Baroni RH, Mendonca BB, et al. The Use of Three-Dimensional Printers for Partial Adrenalectomy: Estimating the Resection Limits. Urology. 2016.

92. Yiannakopoulou E. Robotic assisted adrenalectomy: Surgical techniques, feasibility, indications, oncological outcome and safety. International journal of surgery. 2016;28:169-72.

93. Hyams ES, Stifelman MD. The role of robotics for adrenal pathology. Current opinion in urology. 2009;19(1):89-96.

9. Apêndice

Apêndice 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do projeto aplicado aos sujeitos da pesquisa**.**

1

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME: .:..... .....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : ..... SEXO : .M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO: ...../...../.....
ENDEREÇO ..... Nº ..... APTO: .....
BAIRRO: ..... CIDADE .....
CEP:..... TELEFONE: DDD (.....) .....

2.RESPONSÁVEL LEGAL .....
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.) .....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO.: ...../...../.....
ENDEREÇO: ..... Nº ..... APTO: .....
BAIRRO: ..... CIDADE: .....
CEP: ..... TELEFONE: DDD (.....).....

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. **TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: "Adrenalectomia Bilateral Subtotal Videolaparoscópica no Tratamento Cirúrgico da Hiperplasia Macronodular Adrenal Primária".**

PESQUISADORES: **Dr. Fábio Yoshiaki Tanno e Dr. José Luis Chambô**

CARGO/FUNÇÃO: **Médico Urologista do setor de Cirurgia de Adrenal do HC-FMUSP e Médico Urologista chefe do setor de Cirurgia de Adrenal do HC-FMUSP, respectivamente.**

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº120.266

UNIDADE DO HCFMUSP: **Divisão de Urologia e Divisão de Endocrinologia (HC-FMUSP)**

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO ☐ RISCO MÉDIO **X**

RISCO BAIXO ☐ RISCO MAIOR ☐

4.DURAÇÃO DA PESQUISA : **36 meses (março de 2016 a março de 2019)**

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

Esclarecimentos sobre o estudo

A Hiperplasia Macronodular Primária (HMAP) é uma doença rara em que as glândulas adrenais aumentam de volume e passam a secretar quantidades elevadas de hormônios, especialmente o cortisol. Esta elevada quantidade de cortisol leva a alterações em todo o metabolismo, sendo que as principais são ganho de peso, hipertensão arterial, diabetes melito, estrias, face "em lua cheia", entre outros. Sabe-se que estas alterações levam à piora da qualidade de vida do paciente, além de aumentar a chance de eventos cardiovasculares graves, tais como infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral.

A HMAP se apresenta em diversos níveis de gravidade, desde os pacientes sem sintomas até aqueles com condição clínica muito grave. A escolha do tipo de tratamento vai depender da gravidade da doença bem como dos achados dos exames realizados. Um dos tratamentos possíveis é o uso de medicações na tentativa de reduzir a produção de cortisol pelas glândulas adrenais. Porém os resultados com medicação não são bons. Outra modalidade de tratamento é a cirurgia, onde a intenção é realizar a retirada da glândula adrenal doente.

Uma das opções de cirurgia é a retirada de apenas uma das glândulas adrenais. Este tipo de tratamento tem uma duração limitada, pois a glândula que permanece segue produzindo hormônio em excesso. Outra opção de cirurgia é a retirada das duas glândulas adrenais. O inconveniente desta opção é a necessidade de uso de reposição de hormônios pelo resto da vida por parte do paciente.

A idéia do nosso estudo é realizar um tipo de cirurgia que seja intermediário entre os dois tratamentos descritos acima. Nossa opção é realizar a retirada completa da adrenal de maior tamanho e/ou maior produção de hormônios associada à retirada parcial da outra glândula. Dessa maneira fica uma parte de uma glândula, que ficaria responsável por produzir a quantidade de hormônio necessária. A via laparoscópica é um método menos agressivo e que possibilita uma recuperação mais rápida. Este tipo de cirurgia já foi realizada em outros pacientes com bons resultados até o momento.

O objetivo de realizar este estudo é comprovar a eficácia deste tipo de cirurgia, bem como demonstrar que se trata de um tratamento seguro para os pacientes com diagnóstico de HMAP. Os riscos são os mesmos das outras opções de tratamento cirúrgico. O seguimento pós operatório será feito da mesma maneira também. O maior benefício para o paciente é que este tipo de cirurgia tem potencial de possibilitar o controle da doença, com regularização dos níveis hormonais, mas sem necessidade da reposição pelo resto da vida.

1 – Desenho do estudo e objetivo(s): Estamos desenvolvendo uma nova opção de tratamento cirúrgico para a Hiperplasia Macronodular Adrenal Primária (HMAP).

2 – Para isto, convidamos o senhor a participar desta pesquisa, na qual colheremos informações do seu estado de saúde, uso de medicamentos, sintomas e histórico familiar através de consultas médicas normais. Além disso, utilizaremos informações dos seus exames colhidos normalmente para o seguimento da sua doença..

3 – As consultas serão realizadas como habitualmente. A coleta de exames de sangue também será realizada como sempre, com punção da veia do antebraço. Os exames de imagem serão realizados para seguimento da doença dentro da sua rotina normal.

4 – Haverá o desconforto da coleta de exame, conforme habitualmente acontece, porém esta coleta não traz risco a sua saúde nem desconforto físico.

5 – Benefícios para o participante: há benefício direto para o participante. Trata-se de um estudo experimental em que uma nova e promissora técnica cirúrgica de tratamento para sua doença está sendo estudada. Ao final do período de pesquisa poderemos informar os benefícios reais.

6 – Relação de procedimentos alternativos que possam ser vantajosos, pelos quais o paciente pode optar: Não há procedimentos envolvidos.

7 – Garantia de acesso: em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. Os principais investigadores são o **Dr. Fábio Yoshiaki Tanno** e o **Dr. José Luis Chambô** e podem ser encontrados no endereço: **Instituto Central do Hospital das Clínicas – FMUSP, Av. Dr. Enéas de Carvalho, 255, 7° Andar - Telefone: 2661-8080**. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CEP-HC-FMUSP): **Rua Ovidio Pires de Campos, 225 – Prédio da Administração – 5° andar - Cerqueira César - São Paulo - SP - CEP: 05403-010 / Tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18**
E-mail: marcia.carvalho@hc.fm.usp.br

8 – É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar da pesquisa;

9 – Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum participante do estudo;

10 – Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

11 – Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação.

12 – As informações obtidas e materiais biológicos poderão ser utilizados em pesquisas futuras, especialmente para estudos na área genética.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo: "TRATAMENTO CIRÚRGICO DA HIPERPLASIA ADRENAL MACRONODULAR INDEPENDENTE DE ACTH - ADRENALECTOMIA BILATERAL SUBTOTAL VIDEOLAPAROSCÓPICA."

Eu discuti com o Dr. Fábio Yoshiaki Tanno sobre a minha decisão em participar desse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo.

_____

Assinatura do representante legal Data: ___/___/___

_____

Assinatura da testemunha Data:___/___/___

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

_____

Assinatura do responsável pelo estudo Data:___/___/___

Apêndice 2- Pôster apresentado no Congresso Americano de Urologia (AUA 2017), realizado em maio de 2017 em Boston, MA.

MEDICINA USP

A new insight for the treatment of Primary Macronodular Adrenal Hyperplasia: adrenal sparing surgery early outcomes

URO USP

Fabio Y. Tanno, Victor Srougi, Madson Q. Almeida, Vania B. Brondani, Berenice B. Mendonca, Miguel Srougi, Willian C. Nahas, Jose L. Chambô, Maria C. Fragoso.

Division of Urology and Divison of Endocrinology, University of Sao Paulo Medical School, Sao Paulo, Brazil.

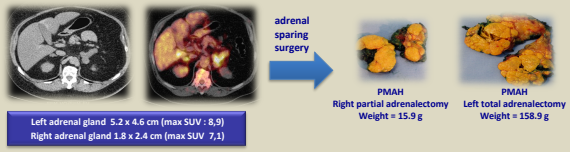
ABSTRACT 17-3359

Introduction and Objectives

Partial Adrenalectomy (PA) has dramatically changed the treatment of patients affected by pathologies that affect both adrenal glands. Currently, evidences regarding the use of PA to treat primary macronodular adrenal hyperplasia(PMAH) are limited, including a small number of cases described as part of cohorts related to a variety of adrenal gland tumors. To date, the outcomes of this surgical treatment on hypercortisolism control is not known. In order to overcome the hormonal replacement caveats while minimizing the risks of hypercortisolism relapse, we performed a series of simultaneous total adrenalectomy of largest adrenal gland (or the one with higher SUV in ^{18}F-FDG-PET-CT) and contra-lateral partial adrenalectomy (adrenal sparing surgery) in patients with PMAH .

Methods

Ten patients diagnosed with PMAH were treated surgically with adrenal sparing surgery (Laparoscopic total adrenalectomy + contralateral partial adrenalectomy). Primary endpoint was hypercortisolism remission, considered when patients had physiologic cortisol levels (5-25 µg/L) without hormonal reposition. Adrenal insufficiency and latent adrenal insufficiency were defined when oral hydrocortisone reposition was needed, with the dose of > 0,2 mg/kg/day and ≤ 0,2 mg/kg/day, respectively. Secondary endpoints were clinical and metabolic parameters improvement. Body mass index (BMI), blood pressure, cholesterol, lipid and glucose levels, were measured before and 12 months after the procedure. Medications to control comorbidities were also assessed and compared.



Results

There were no intra-operative complications and average operation time was 189 ± 34 minutes. Median hospitalization period was 7,5 days and one patient needed surgical hematoma drainage. With a median follow-up of 24 months (range: 13 to 63 months), 40% of the cohort had complete hypercortisolism remission, 20% persisted with latent adrenal insufficiency and 40% with adrenal insufficiency. Hypercortisolism recurrence was not observed. Median systolic/diastolic blood pressures were 155/95 before and 123/80 after the procedure (p < 0,001). Median number of medications to control blood hypertension diminished from 3 to 1(p < 0,001). There was no significant change in cholesterol, lipid and glucose blood levels as well as the number of diabetes and lipid lowering medications. Median BMI decreased from 31,7 ± 7,8 to 28,4 ± 4,7(p = 0.05).

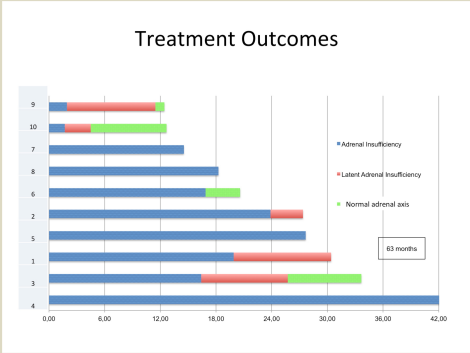


Image 1: Treatment outcomes of adrenal sparing surgery in PMAH affected patients.

Results

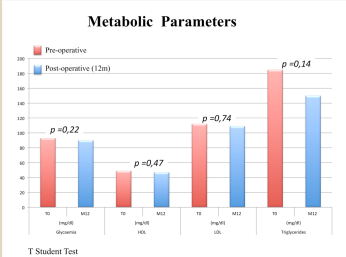


Image 2: Metabolic parameters.

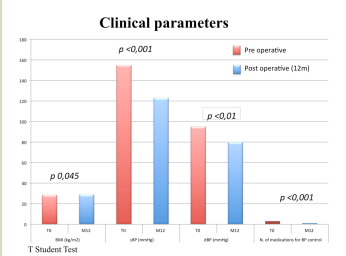


Image 3: Clinical parameters.

Conclusion

An early assessment revealed that adrenal sparing surgery is a feasible procedure to treat patients affected by PMAH, providing hypercortisolism remission and potentially avoiding the drawbacks of lifetime corticosteroids replacement.

American Urological Association

BOARD OF DIRECTORS

Officers

Richard K. Babayan, MD
President

J. Brantley Thrasher, MD
President-elect

William F. Gee, MD
Immediate Past President

Manoj Monga, MD
Secretary

Steven M. Schlossberg, MD, MBA
Treasurer

David F. Green, MD
Treasurer-elect

Section Representatives

Roger E. Schultz, MD
Mid-Atlantic

Kevin R. Loughlin, MD, MBA
New England

Frederick A. Gulmi, MD
New York

Chandru P. Sundaram, MD
North Central

John D. Denstedt, MD
Northwestern

Randall B. Meacham, MD
South Central

Thomas F. Stringer, MD
Southeastern

Scott K. Swanson, MD
Western

May 26, 2017

Fabio Tanno, MD
Hospital das Clinicas
University of Sao Paulo School of Medicine
Sao Paulo, Brazil
Mail: fabioyt@gmail.com

Dear Dr. Tanno,

On behalf of the American Urological Association, I thank you for making a presentation in a Moderated Poster Session during the AUA 2017 Annual Meeting in Boston, MA.

Abstract #MP37-08
A new insight for the treatment of Primary Macronodular Adrenal Hyperplasia: adrenal sparing surgery early outcomes

Fabio Tanno*, Victor Srougi, Vania Brondani, Madson Almeida, Berenice Mendonca, Miguel Srougi, Jose Chambo, Maria Fragoso, Sao Paulo, Brazil

Again, congratulations and we hope you will join us next year in San Francisco, CA, May 18-22, 2018.

Most sincerely,

Janet V. Skorepa
Executive Vice President, Education

Headquarters

Michael T. Sheppard, CPA, CAE
Chief Executive Officer

1000 Corporate Boulevard
Linthicum, MD 21090

U.S. Toll Free: 1-866-RING-AUA (1-866-746-4282)
Phone: 410-689-3700
Fax: 410-689-3800
Email: AUA@AUAnet.org
Websites: AUAnet.org
UrologyHealth.org
UrologicHistory.museum

Advancing Urology

AUA 2017
MAY 12–16 boston
www.AUA2017.org

Apêndice 3 – Pôster apresentado no Congresso Americano de Urologia (AUA 2019), realizado em maio de 2019 em Chicago, IL.

MEDICINA USP

A new insight into the treatment of Primary Macronodular Adrenal Hyperplasia: *adrenal-sparing surgery* - early outcomes

URO USP

Fabio Y. Tanno, Victor Srougi, Madson Q. Almeida, Vania B. Brondani, Berenice B. Mendonca, Miguel Srougi, Willian C. Nahas, Maria C. B. V. Fragoso, José L. Chambô.

Divisão de Urologia e Serviço de Endocrinologia e Metabologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

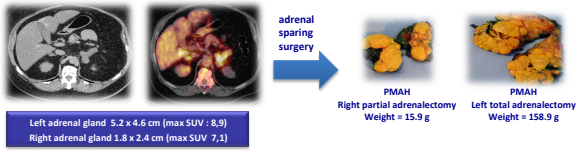
ABSTRACT 19-713

Introduction and Objectives

Partial Adrenalectomy (PA) has dramatically changed the treatment of patients affected by pathologies that affect both adrenal glands. Currently, evidences regarding the use of PA to treat primary macronodular adrenal hyperplasia(PMAH) are limited, including a small number of cases described as part of cohorts related to a variety of adrenal gland tumors. To date, the outcomes of this surgical treatment on hypercortisolism control is not known. In order to overcome the hormonal replacement caveats while minimizing the risks of hypercortisolism relapse, we performed a series of simultaneous total adrenalectomy of largest adrenal gland (on CT scan) and contra-lateral partial adrenalectomy (*adrenal-sparing surgery*) in patients with PMAH .

Methods

Seventeen patients diagnosed with PMAH were treated surgically with *adrenal-sparing surgery* (Laparoscopic total adrenalectomy + contralateral partial adrenalectomy). Primary endpoints were clinical and metabolic parameters improvement. Body mass index (BMI), blood pressure, cholesterol, lipid and glucose levels, were measured before and 12 months after the procedure. Medications to control comorbidities were also assessed and compared. Second endpoint was hypercortisolism remission, considered when patients had physiologic cortisol levels (5-25 µg/L) without hormonal reposition. Adrenal insufficiency and latent adrenal insufficiency were defined when oral hydrocortisone reposition was needed, with the dose of > 0.2 mg/kg/day and ≤ 0.2 mg/kg/day, respectively.



Results

There were no intra-operative complications and average operation time was 199 ± 34 minutes. Average hospitalization period was 7.5 days and during post-operative recovery one patient needed surgical hematoma drainage. With a median follow-up of 37 months (ranged 13 to 63 months), 95% of the cohort had complete hypercortisolism control, 70.5% reached normal cortisol levels and 29.5% remain in adrenal insufficiency. Hypercortisolism recurrence was observed in one patient. All patients that underwent surgical procedure had significant improvement in clinical parameters: weight reduction (88 to 82 kg; p=0.004); reduction of both systolic (145 to 121 mmHg; p=0.001) and diastolic (91 to 78 mmHg; p=0.001) blood pressures and in the number of medications to control hypertension (2.8 to 1.1; p<0.001).

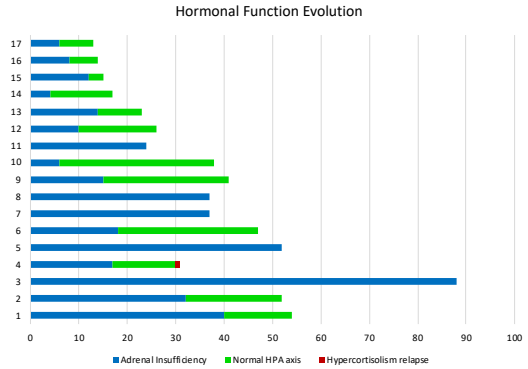


Figure 1: Evolution of HPA axis function in operated patients.

Results

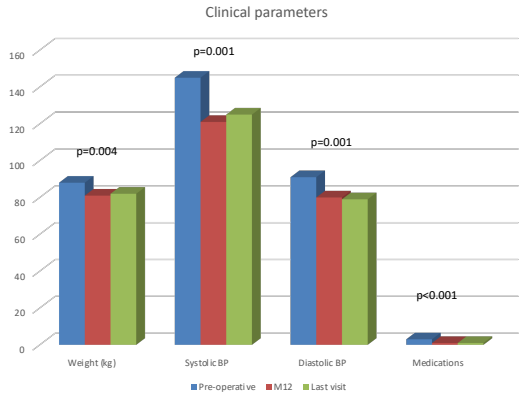


Figure 2: Evolution of clinical parameters in operated patients.

Conclusion

An early assessment revealed that *adrenal-sparing surgery* is a safe and feasible procedure to treat patients affected by PMAH, providing clinical parameters improvement, hypercortisolism remission and potentially avoiding the drawbacks of lifetime corticosteroids replacement.

American Urological Association

BOARD OF DIRECTORS

Officers

Robert C. Flanigan, MD
President

John H. Lynch, MD
President-elect

J. Brantley Thrasher, MD
Immediate Past President

Manoj Monga, MD
Secretary

John D. Denstedt, MD
Secretary-elect

David F. Green, MD
Treasurer

Section Representatives

Roger E. Schultz, MD
Mid-Atlantic

E. Ann Gormley, MD
New England

Frederick A. Gulmi, MD
New York

Chandru P. Sundaram, MD
North Central

Barry A. Rogan, MD
Northeastern

Anthony Y. Smith, MD
South Central

Thomas F. Stringer, MD
Southeastern

Scott K. Swanson, MD
Western

May 14, 2019

Dear Dr. Fabio Tanno,

On behalf of the American Urological Association, I thank you for making the following presentations during the 114th AUA Annual Meeting in Chicago, IL, USA.

Abstract # MP69-04
A new insight for the treatment of Primary Macronodular Adrenal Hyperplasia: adrenal sparing surgery early outcomes
Presented on Sunday May 5, 2019

The AUA received over 7000 abstracts and yours was one of the 2,000+ abstracts selected for the meeting. Again, congratulations and thank you for joining us in Chicago, IL, May 3-6, 2019.

Most sincerely,

Janet V. Skorepa
Executive Vice President,
Education & Scientific Meetings

Headquarters

Michael T. Shipsand, CPA, CAE
Chief Executive Officer

1000 Corporate Boulevard
Linthicum, MD 21090

U.S. Toll Free: 1-866-RING-AUA
(1-866-746-4282)
Phone: 410-689-3700
Fax: 410-689-3800
Email: AUA@AUAnet.org
Websites: AUAnet.org
UrologyHealth.org
UrologicHistory.museum

Advancing Urology

AUA 2019
MAY 3–6 chicago
www.AUA2019.org

Apêndice 4 – Confirmação da submissão do trabalho para a revista científica Endocrine Connections.

Submission Confirmation

Print

Thank you for your submission

Submitted to
Endocrine Connections

Manuscript ID
EC-19-0257

Title
A New Insight into the Surgical Treatment of Primary Macronodular Adrenal Hyperplasia

Authors
Tanno, Fabio
Srougi, Victor
Almeida, Madson
Yamauchi, Fernando
Almeida Coelho, Fernando
Nishi, Mirian
Zerbini, Maria Claudia Nogueira
Soares, Iracy
Pereira, Maria Adelaide
Charchar, Helaine
Ferreira, Amanda
Brondani, Vania
Srougi, Miguel
Nahas, Willian
Mendonca, Berenice
Chambô, José
Fragoso, Maria

Date Submitted
27-May-2019