



HAL
open science

La réponse persistante du cortisol au test à la desmopressine prédit la récurrence de la maladie de Cushing chez les patients présentant une insuffisance corticotrope post-opératoire

Sophie Cambos

► **To cite this version:**

Sophie Cambos. La réponse persistante du cortisol au test à la desmopressine prédit la récurrence de la maladie de Cushing chez les patients présentant une insuffisance corticotrope post-opératoire. Sciences du Vivant [q-bio]. 2019. dumas-02492648

HAL Id: dumas-02492648

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02492648v1>

Submitted on 27 Feb 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université de Bordeaux
U.F.R. DES SCIENCES MEDICALES

Année 2019

Thèse n° 3134

Thèse pour l'obtention du
DIPLOME d'ETAT de DOCTEUR EN MEDECINE
Présentée et soutenue publiquement le 18 Octobre 2019

Par Sophie CAMBOS
Née le 01 Octobre 1990, à DAX (40)

**LA REPONSE PERSISTANTE DU CORTISOL AU TEST A LA DESMOPRESSINE
PREDIT LA RECIDIVE DE LA MALADIE DE CUSHING CHEZ LES PATIENTS
PRESENTANT UNE INSUFFISANCE CORTICOTROPE POST-OPERATOIRE**

Directeur de thèse

Monsieur le Professeur Antoine TABARIN

Rapporteur de thèse

Monsieur le Professeur Frédéric CASTINETTI

Membres du jury

Madame le Professeur Blandine GATTA-CHERIFI, Présidente

Monsieur le Professeur Pascal BARAT, Juge

Monsieur le Professeur Kamel MOHAMMEDI, Juge

Monsieur le Professeur Hugues LOISEAU, Juge

Remerciements

Aux membres du jury

Madame le Professeur Blandine Gatta-Chérifi : Vous me faites le plaisir et le grand honneur de présider le jury de ma thèse. Je vous remercie pour vos enseignements, et pour tous ces différents projets menés ensemble tout au long de mon internat et de mon master 2. Vous m'avez fait confiance, je vous en suis reconnaissante. Vos conseils (et votre humour !) sont précieux. Soyez assurée de mon profond respect et de ma sincère sympathie.

Monsieur le Professeur Pascal Barat : C'est un honneur de vous avoir parmi les membres de mon jury. Je suis ravie de vous savoir présent aujourd'hui. Un grand merci pour ces six mois dans votre service. Ce semestre a été une sorte de « révélation », comme vous le savez. J'espère que notre collaboration continuera longtemps. Recevez ici, l'expression de mon plus profond respect et de ma considération.

Monsieur le Professeur Kamel Mohammedi : Vous faites partie inhérente de ce projet qui n'aurait pas pu aboutir sans votre implication, tant votre expertise dans le domaine de la statistique est grande, impressionnante. C'était un plaisir d'avoir pu travailler avec vous. Un immense merci pour votre disponibilité, votre simplicité et votre investissement. Soyez assuré de ma très sincère reconnaissance.

Monsieur le Professeur Hugues Loiseau : Je vous remercie de l'intérêt que vous portez à ce travail et d'être présent aujourd'hui, pour apporter votre vision experte neurochirurgicale. Veuillez recevoir tout mon respect, et ma sincère reconnaissance.

Monsieur le Professeur Frédéric Castinetti : Je vous remercie vivement d'être venu de si loin aujourd'hui, et d'apporter votre jugement sur ce travail pour lequel vous avez volontiers collaboré. Votre grande expertise dans le syndrome de Cushing viendra assurément nourrir la discussion. Recevez ici toute ma gratitude et mon plus profond respect.

Un merci particulier au Professeur Antoine Tabarin : Pour m'avoir guidée avec pertinence et clarté, au long de ces derniers mois. Vos prouesses pédagogiques sont magistrales, mais votre personnalité marque tout autant. Ces consultations conjointes resteront un des temps forts de mon internat. Je me réjouis sincèrement de revenir travailler à vos côtés et j'espère être à la hauteur de la confiance que vous m'accordez. Veuillez trouver ici le témoignage de mon immense et très sincère estime.

Aux médecins et équipes rencontrés tout au long de mon internat

Au service de Diabétologie du CHU de Bordeaux : aux Pr Vincent Rigalleau et Pr Henri Gin pour la qualité de leur formation, lors des débuts de mon internat. Veuillez recevoir ici tout mon respect, et ma sincère reconnaissance.

Au service de Médecine Interne du CH de Dax : au Dr François Lifermann, au Dr Jennifer Foret et Dr Arnaud St Lezer. Aux bons myélogrammes et BOM qui font travailler les biceps et les neurones.

Au service de Nutrition de CHU de Bordeaux : au Dr Maud Monsaingeon, à la sympathique équipe paramédicale du service.

Au service d'Endocrinologie du CHU de Bordeaux : au Dr Marie Marty, au Dr Amandine Ferrière, au Dr Virginie Grouthier. Aux IDE et aide soignantes que j'aurai le plaisir de retrouver.

Au service de Néphrologie du CHU de Bordeaux : au Pr Combe, au Dr Claire Rigothier, Dr Mathilde Prezelin. Une dédicace particulière au Dr Emma Perbos, néphrologue de haut rang à l'humour aiguisé.

Au service d'Endocrinologie et Néphrologie Pédiatrique du CHU de Bordeaux : au Dr Sandra Pochelu, à tous les néphropédiatres qui m'ont accueillie comme une grande chez les tout petits : Dr Cathy Didailler, Pr Jérôme Harambat, Dr Brigitte Llanas, Dr Astrid Godron : mille mercis.

Au Service d'Endocrinologie du Kremlin Bicêtre : Pr Philippe Chanson, Pr Jacques Young, Pr Peter Kamenicky, cette immersion au sein de votre équipe fut un superbe et heureux challenge. Aux Drs Sylvie Salenave, Luigi Maione, Helena Mosbah et Giorgos Papadakis : on se recroisera ! Un grand merci.

A Amandine et Sarah, attachées de recherche clinique : merci pour votre aide et votre sympathie.

Plus personnellement, mes remerciements :

Dr Marie Hugo : Tu es toujours là et je te dois beaucoup, en particulier dans des périodes plus sombres de ma vie, où tu as toujours eu les bons mots. Merci de me faire croire que je peux déplacer des montagnes ☺. Que ta vie soit belle ma Marie car c'est amplement ce que tu mérites.

Dr Magalie Haissaguerre : Ton implication pour tout ce que tu entreprends est pour moi un exemple à suivre. Merci de m'avoir aidée à grandir, évoluer et d'être toujours attentive, vivement de reprendre ces discussions diverses onco-fashion-déco avec un petit carré de chocolat. A très vite !

Dr Céline Loddo : une onewomanshow qui s'ignore. Continue à me faire tellement rire et crois en toi. J'espère que tu liras ces mots « en pleine conscience ». Merci pour tout.

Dr Laurence Baillet-Blanco : au médecin de mes débuts ! Je te remercie de m'avoir encadrée dans la réalisation de mon premier travail universitaire, de m'avoir inculqué ta vision de la diabétologie. Tu m'as beaucoup appris.

Dr Marie-Laure Nunes : Ta douceur, ta gentillesse et tes compétences sont immenses. L'Endocrinologie bordelaise a beaucoup de chance que tu sois là. Je suis très contente de revenir toquer à ta porte pour tes conseils toujours avisés et réfléchis.

Dr Vanessa Vautier : Ces jeudis matin de l'HDJ avec VV resteront dans ma mémoire. J'aimerais rester « un peu pédiatre » comme tu m'as qualifiée. Merci pour ce que tu m'as transmis, professionnellement et humainement.

A ma famille

Papa, Maman, vous n'y croyiez plus... C'est la fin, vous pouvez souffler ! A votre incroyable soutien depuis le premier jour, malgré les doutes et les angoisses... Maman, toi qui dit toujours : « on essaie d'être les meilleurs parents », vous avez largement réussi, promis. Je veillerai sur vous comme vous l'avez fait, et le faites encore, pour moi. J'espère vous rendre fiers aujourd'hui. Merci du fond du cœur.

Guillaume, mon frère. Même si tu n'as plus besoin de moi, (enfin, sauf pour te payer Netflix) je ne serai jamais loin, surtout pour te faire écouter certains messages vocaux (tu vois). A Brandon et Brenda, un jour on aura le gros lot. Je suis super fière de toi, et de ton parcours : c'est la stratégie ça...

Mes cousins d'amour et d'Eyrose : Mathilde, Marion, Manon, Bertrand. S'il fallait choisir sa famille (mifa pour les initiés), je n'aurais pas pu faire mieux. Rendez-vous 15 août même heure, même champagne. Pensée pour Vincent qui a dû affronter ses angoisses de SVT pour démêler les nœuds de la traduction, I'm going to introduce...

A ma marraine (c'est l'eau du baptême), mes tontons et taties, toujours présents. Merci de nous avoir élevés tous ensemble dans le joyeux clan des Courtiau. A mes grand-mères, si aimantes. Pardon de paraître si loin. A mon papi Pierrot, pour sa patience infinie.

A mes amis d'ailleurs et d'antan

Jeanne, depuis tout ce temps. Amies de joie, de pleurs, de fêtes dont certaines que l'on taira. Amour infini ma bichette. Ne pars jamais loin de moi tu as compris ?

Mon éternel girlsband dacquois. Quand on repense à toutes les perles que l'on a vécues ensemble... Bon, clairement, on a grandi. On peut respectivement ruiner chacune de nos réputations avec tout ce florilège. Alix, Aude, Elo, Marlou, Méli, Sarah, Val, les années passent... Les lycéennes que nous étions laissent place aux « quasitrentenaires » sans que rien ne change et heureusement. Aux joyeux +1 que l'on a pas mal choisis. Je vous aime pour la vie, enfin sauf Marlou.

Gab, mon plus vieux copain. Ça y est, je suis riche en banque comme tu disais... en 5^{ème} B ? Au fait, c'est sympa chez tes parents.

Mes copains de fac : Laura, pour nos duos-verres bordelais précieux. Raphaëlle, Noémie, à cette sous-colle-sushis-thé-familleroyle. Romain, Clément, mes deux chéris de l'externat, merveilleux papas. A tous les non-cités que j'ai toujours plaisir à revoir, au grès de rencontres ou soirées impromptues.

A tous ceux qui ont fait de mon internat des années mémorables

Aurélie, mon binôme, comment vais-je faire sans nos 8 cafés matinaux ? Ta cointerne des 3 étages pleure ton départ des USN. On se retrouve à ta piscine autour d'un spritz. Love u so much.

Oliv, quel personnage... haut en couleur, tu es un original au grand cœur (esprit sain dans un corps sain) : cœur papillon poney ou autre animal. Remise en question de certaines chemises cependant.

Guigui, reviens tu es trop loin, y'a des tchatchao dans le bureau de Peussac.

Aux colocataires de ce minuscule bureau néphrologique : Pierre le cœur d'artichaut qui manie parfaitement la crème de lentille, pour notre jolie amitié qui n'était pas gagnée d'avance, Fred, adorable transplanteur avisé (ok pour être marraine du 3^{ème}) et Beberrrr : câlin collectif et merci à Yves Saint-

Laurent. Marie, Pauline, merci d'avoir partagé ces belles années de promo à naviguer parfois aux quatre coins de France. Marine, de l'externat et au-delà, vivement de se retrouver ! Laure, à la belle personne que tu es. Amélie, pour l'appart à la porte bleue ! Steph, pour me faire rire avec cet humour si lourd. Au fait, t'as pas des courriers à faire ?

A la journée d'anthologie ET DE ROUE LIBRE du A3 2016 : Fred Austère (Fredos pourquoi tu veux pas me parler ?), Arabelle, douce à l'humour pointu, Tiphaine, pour ces câlins de réconfort (non Tiph on pleure pas), Emmanuelle, jolie poupée futée, originale et écolo.

Aux jours heureux de la pédiatrie : Marie sans filtre, Audrey, Claire, Raph. Aux endoc en devenir, Marie Michmich (-1 ? tu es au top), Julie (à l'amour des chats et de Sézane) et Ninon (à ta touchante logorrhée). Sophie et Agathe, les babiesgynéco #insta, c'était un plaisir de partager ces derniers moments d'internat bordelais avec vous toutes. A mes co-internes de Bicêtre pour avoir accepté l'accent chantant du Sud, particulièrement à Rebecca, soutien sans faille mais terriblement fun dans nos éloignements respectifs. Tu sais, Bruxelles-Bordeaux, c'est pas si loin !

A Flo. Tu m'as fait redécouvrir que la vie est ailleurs et c'est bien là l'essentiel. Pardon de te faire quitter Bayonne. Merci de venir vivre cette nouvelle aventure avec moi, merci à la guinguette de Gaviniès. A nos projets tous les deux.

... A Papili, au plus grand des absents aujourd'hui ; je te dédie ma thèse. Si j'en suis là, comme tu disais avec humour (quoique...), c'est grâce à toi ! J'espère que là-haut, tu es fier de moi. J'ai beaucoup de chance de t'avoir connu.

TABLE DES MATIERES

ABBREVIATIONS	8
PARTIE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	9
I. La Maladie de Cushing.....	10
A. Pronostic.....	10
B. Le traitement de la maladie de Cushing.....	10
1- La chirurgie transphénoïdale	10
2- Issues immédiates chirurgicales.....	11
3- Attester de la rémission de la maladie de Cushing : le challenge de l'évaluation post opératoire	14
II. La récurrence de la maladie de Cushing.....	16
A. Données épidémiologiques.....	16
B. Marqueurs pronostiques précoces de récurrence	16
1- L'insuffisance corticotrope	17
2- Autres critères statiques	18
3- Le test au CRH.....	18
III. Le test à la desmopressine dans le suivi de la maladie de Cushing.....	19
A. Définition et rappels de physiologie.....	19
B. Rôle dans la prédiction précoce de la récurrence	21
IV. Contexte et objectifs de travail.....	29
PARTIE II : LA REPONSE PERSISTANTE DU CORTISOL AU TEST A LA DESMOPRESSINE PREDIT LA RECURRENCE DE LA MALADIE DE CUSHING CHEZ LES PATIENTS PRESENTANT UNE INSUFFISANCE CORTICOTROPE POST-OPERATOIRE	31

PARTIE III : CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	77
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	81
RESUME EN FRANÇAIS.....	86
SERMENT D'HIPPOCRATE	87

TABLE DES ABBREVIATIONS

ACTH : Hormone adrénocorticotrope

ADH : Hormone antidiurétique

AVP : Arginine vasopressine

AUC : Aire sous la courbe

AVP : Arginine-vasopressine

CLU : Cortisol libre urinaire des 24 heures

CRH : Hormone corticolibérine

HPA : axe hypophyso-corticosurrénalien : axe corticotrope

HR : Hazard Ratio

IC : Intervalle de Confiance

OR : Odds Ratio

PARTIE I – RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I. La maladie de Cushing

A- Pronostic

La maladie de Cushing résulte d'une sécrétion inappropriée d'ACTH (hormone adrénocorticotrope) par une prolifération tumorale hypophysaire de cellules corticotropes. Elle est, dans la plupart des cas, bénigne et correspond à un adénome corticotrope. Cet adénome conduit à une stimulation excessive, pathologique, de l'axe hypophyso-cortico-surrénalien (HPA). Il entraîne la production excessive de cortisol et d'androgènes par les glandes surrénales. La maladie de Cushing est à l'origine de nombreuses comorbidités et d'une augmentation du risque de mortalité de 1.61, par rapport à la population générale (1).

En l'absence de traitement, le syndrome de Cushing est souvent fatal, la plupart des décès étant dus à des complications cardiovasculaires, thromboemboliques, hypertensives ou à des infections bactériennes ou fongiques (2).

Même si, des complications, métaboliques principalement, peuvent perdurer, et évoluer pour leur propre compte, il paraît cependant que la guérison améliore le pronostic de ces patients (taux de mortalité 1.2 vs 5.5 pour les patients non guéris) (1).

B- Le traitement de la maladie de Cushing

1- La chirurgie transphénoïdale

Les objectifs thérapeutiques de la maladie sont doubles : induire la rémission du syndrome de Cushing, par l'exérèse sélective de l'adénome corticotrope, tout en préservant une fonction hypophysaire normale, en évitant une dépendance médicamenteuse permanente, pour traiter l'hypercortisolisme en lui-même, ou les différentes insuffisances hormonales secondaires à la maladie ou aux traitements entrepris (3).

La chirurgie hypophysaire par voie transphénoïdale est actuellement la seule option thérapeutique prétendant à ces différents objectifs. Lorsqu'un adénome peut être identifié durant la chirurgie, une adénoïdectomie élargie est la procédure réalisée. Pour les patients pour lesquels l'adénome n'est pas visualisé en per-opératoire, une hypophysectomie antérieure

étendue est pratiquée. Cette dernière pratique expose notamment au risque d'insuffisance antéhypophysaire post opératoire (4) .

Lorsqu'elle est réalisée rapidement après le diagnostic, il a été démontré que la chirurgie hypophysaire abroge la mortalité accrue résultant de l'excès chronique de cortisol (1). La chirurgie de la maladie de Cushing est notoirement difficile en raison de la petite taille des adénomes corticotropes et des saignements fréquents dans le champ opératoire qui peuvent masquer la glande pituitaire.

Il est important de mentionner le rôle fondamental de l'expérience du neurochirurgien qui conditionne réellement l'issue opératoire (5). Il est donc fortement recommandé d'adresser les patients à un neurochirurgien expérimenté traitant un effectif élevé de patients atteints de maladie de Cushing. Cela contribue à la réussite de la résection de l'adénome et réduit les complications potentielles de la chirurgie hypophysaire.

D'autres facteurs influencent l'issue de la chirurgie hypophysaire, notamment le sexe, la taille de l'adénome, l'invasion de la dure-mère, la localisation de l'adénome sur l'imagerie préopératoire, la visualisation peropératoire de la tumeur et la confirmation histologique d'un adénome corticotrope *a posteriori* (6).

2- Issues immédiates chirurgicales

Cependant, même dans les meilleures conditions, le taux de guérison chirurgicale initiale de la maladie de Cushing n'est que de 65% à 80% chez les patients présentant un microadénome corticotrope, et inférieur pour les patients atteints de macroadénomes.

En 2007, l'analyse de 18 séries neurochirurgicales de plus de 40 patients recensait les données de 3047 patients, suivis depuis plus de 6 mois. Pour les patients naïfs de chirurgie, le taux de rémission observé était de 69 à 98%. Les taux de succès chirurgicaux étaient moins bons pour les macroadénomes (31 à 83%) (7). Plus récemment, les travaux de Petersenn retrouvaient des données beaucoup plus variables. Dans cette méta-analyse de 2015 sur plus de 6400 patients, le pourcentage de rémission variait entre 42.0 et 96.6% (8).

Cette grande hétérogénéité de résultats tient au fait de l'absence de définition standardisée pour définir la rémission par rapport à la persistance de la maladie dans la période post opératoire précoce. Physiopathologiquement, l'adénome entraîne une inhibition chronique de l'axe HPA. En théorie, la mise en évidence d'une insuffisance corticotrope post opératoire est alors le témoin du succès de la chirurgie. En pratique, les critères pour attester d'une telle issue sont controversés et les outils utilisés sont variables.

De nombreux critères biologiques, avec différentes gammes, ont été utilisés pour caractériser la rémission. La plupart des études publiées concernaient des séries rétrospectives comparant un nombre limité de procédures. Le suivi était souvent court et considère parfois des patients suivis depuis moins d'une année. Le tableau suivant retrace les différentes définitions de chacune des plus grandes séries retrouvées dans la littérature, portant sur plus de 100 patients. (9-24)

Les critères choisis sont très variables : l'unique suspicion clinique suggère un manque d'objectivité possible et une variabilité intra et interindividuelle certaine. Les normes biologiques ne sont bien souvent pas ou peu précisément définies, variant dans les « limites de la normale ».

Etude	Durée de suivi	n	Définition de la rémission	% rémission	Récurrence ultérieure
Bochicchio 1995 (9)	24	668	Cortisol post opératoire : de indétectable à "limite supérieure de la normale"	76,3	12,7
Boggan 1983 (10)	52,5	100	résolution clinique de l'hypercortisolisme ou concentrations post opératoires de cortisol et d'ACTH "normales" ou réponse positive à la freination par la Dexamethasone (valeur non connue)	92 (micro) / 45 (macro)	2 (micro)/ 12(macro)
Bou Khalil, 2011 (11)	50,4	127	cortisol post opératoire <138nmol/L OU normalisation du CLU ET cortisol sérique nocturne <205nmol/L	79,5	21
Chen JC, 2003 (12)		174	Cortisol <83 nmol/L après 1 mg de Dexamethasone	79	
Flitsch, 2003 (13)	61	147	Cortisol <83 nmol/L après 1 mg de Dexamethasone	93	5,6
Hammer, 2004 (14)	133,2	289	non définie	82	8,7
Invitti, 1999 (15)	6 à 180	288	signes cliniques d'insuffisance surrénalienne CLU faible ou normal et concentration plasmatiques matinales d'ACTH et cortisol normaux ou faibles	69	17
Jagan Nathan , 2009 (16)	84	261	CLU <20 µg /j ou cortisol post opératoire < 138 nmol/L ou CLU "dans les limites de la normale "	96,5	2,5
Jehle, 2008 (17)	62	193	CLU normalisé ou cortisol post opératoire <138 nmol/L et nécessité d'hydrocortisone ou cortisol < 50 nmol/L après 1 mg de Dexamethasone	80,8	13,5
Knappe, 1996 (18)	43	310	non définie	83	13,3
Nakane 1987 (19)		100	non définie		
Patil, 2008 (20)	45	215	rémission clinique de l'hypercortisolisme ET normalisation du CLU	85,6	17,4
Prevedello, 2008 (21)	100	167	rémission clinique de l'hypercortisolisme ET normalisation du CLU	88,6	12,8
Rollin, 2007 (22)	72	103	réponse positive à la freination par la Dexamethasone (valeur non connue) ou "Signes cliniques et hormonaux d'insuffisance surrénalienne" ou nécessité d'hydrocortisone	85,4	6,8
Swearingen, 1999 (23)	96	154	Cortisol post opératoire < 138 nmol/L ET CLU <55nmol/24heures	90 (micro)/ 64,7 (macro)	7
Valassi, 2010 (24)	1 à 300	620	CLU entre 70 et 80 ug/24h Cortisols sériques "dans les limites de la normale" Cortisol <138 nmol/L après 1 mg de Dexamethasone	70	13

Table 1 : Incidence de la rémission et de la récurrence selon les plus grandes séries chirurgicales

3- Attester de la rémission de la maladie de Cushing : le challenge de l'évaluation post opératoire

Au-delà des considérations méthodologiques, établir la rémission post opératoire est cruciale mais difficile. Il n'y a pas de consensus pour évaluer précisément l'axe corticotrope en post opératoire.

Il est admis qu'une unique suspicion clinique de rémission est trop imprécise pour attester du succès chirurgical. En effet, comme mentionné précédemment, certains signes cliniques liés à l'hypercortisolisme peuvent persister même plusieurs années en cas de guérison prolongée, tels que les troubles neuropsychiatriques ou les comorbidités associées du syndrome métabolique.

On considère que la persistance d'un hypercortisolisme biologique par les différents outils utiles au diagnostic de syndrome de Cushing (Cortisol libre urinaire (CLU), absence de réponse au test de freinage à la dexaméthasone, élévation du cortisol plasmatique ou salivaire nocturne) signe l'absence de rémission de la maladie.

En dehors de cela, il peut exister un large spectre, de l'insuffisance corticotrope profonde à l'eucortisolisme biologique associé à la détection d'une concentration d'ACTH « normale », chez des patients en rémission persistante attestée par leur suivi prolongé. En effet, divers facteurs peuvent moduler la réponse de l'axe corticotrope post opératoire.

Tout d'abord, la période périopératoire génère un stress physiologique activant de manière importante l'axe corticotrope et être ainsi à l'origine de faux négatifs, particulièrement lors de la survenue de complications aiguës. A l'inverse, l'administration exogène de glucocorticoïdes pour diverses raisons (substitutives ou thérapeutiques) peut freiner l'axe et donc conduire à un diagnostic faussement rassurant de rémission par constatation d'un cortisol post opératoire abaissé. Également, les maladies de Cushing avec une sécrétion cyclique, intermittente, peuvent permettre une intégrité persistante de la sécrétion corticotrope saine en post opératoire malgré l'exérèse satisfaisante de l'adénome. Enfin, il a été rapporté de manière non exceptionnelle des cas de rémissions secondaires, retardées, de maladie de Cushing. L'hypothèse avancée est celle d'une nécrose progressive des cellules adénomateuses, mais non démontrée à ce jour. Dans une large série multicentrique de l'équipe de Valassi, 5,6% des 620 patients (35 patients) évalués ont présenté une décroissance progressive de leur concentration de cortisol (24) .

Selon l'Endocrine Society, la rémission est généralement définie par les valeurs de cortisol sérique du matin $<5 \mu\text{g} / \text{dL}$ ($<138 \text{ nmol} / \text{L}$) ou par un CLU $<28\text{--}56 \text{ nmol} / 24\text{heures}$ ($<10\text{--}20 \mu\text{g} / \text{j}$) dans les 7 jours suivant la résection sélective de la tumeur, associé à une régression ultérieure des signes cliniques du syndrome de Cushing (22).

Comme il n'y a pas d'accord sur la définition de rémission ou d'échec chirurgical, il est donc difficile de faire la distinction entre récurrence après rémission réelle et progression de l'intensité de la maladie après rémission « imparfaite ».

Au-delà des cas d'échecs immédiats au décours de la chirurgie hypophysaire, il peut survenir après plusieurs années une récurrence chez des patients considérés en « guérison apparente ». Il est donc recommandé d'utiliser plutôt le terme de **rémission** post opératoire, car une guérison définitive ne peut être déclarée qu'après une absence de récurrence plusieurs décennies après la chirurgie initiale.

II. Récidive de la maladie de Cushing

A. Données épidémiologiques

Un défi majeur dans le traitement de la maladie de Cushing est que, malgré la rémission initiale, des récurrences surviennent chez un nombre non négligeable de patients.

Dans la revue récente de Petersenn, portant sur 17 études utilisant des critères biologiques, seuls ou combinés avec des critères cliniques, le taux de récurrence moyen était de 15,2%, mais variait de 5,0 à 47,4%. Le délai moyen de récurrence était de 50,8 mois, avec un intervalle de 3 à 158 mois. Un taux de guérison à long terme est difficile à définir, en partie à cause de critères admis entre les études, et aussi en raison d'un suivi parfois trop court.

Cependant, le délai de récurrence est en partie artéfacté par la durée relativement courte de suivi de nombreux patients. Le risque augmente avec le suivi à long terme (25,26,27), puisque certaines récurrences sont observées même 20 ans après la chirurgie. Cependant, la plupart des récurrences surviennent au cours des 15 années qui suivent la chirurgie. Une étude a analysé de manière prospective le taux de récurrence chez 79 patients considérés en rémission immédiate. Parmi eux, 19% ont présenté une récurrence au bout de cinq ans et le taux de récurrence cumulé était de 26% à 10 ans (28). Atkinson *et al.* retrouvaient un taux de récurrence à peu près similaire, de 22% chez 45 patients à un recul moyen de neuf ans (29).

Le délai variable de la récurrence traduit une différence d'agressivité des adénomes corticotropes : les adénomes agressifs récidiveraient plus tôt. Là encore, soulignons le rôle primordial du neurochirurgien. La méta-analyse de Petersenn a montré des taux de récurrence les plus élevés dans les études où seulement 10 patients ou moins étaient opérés par année de durée de l'étude. A l'inverse, les taux les plus faibles ont été observés lorsque 31 à 40 patients ont été opérés par an (8).

Ces données constituent la base des recommandations de l'Endocrine Society selon laquelle les patients atteints de maladie de Cushing devraient être opérés par un chirurgien expert et bénéficier d'un suivi à vie après une intervention chirurgicale réussie (3).

B. Marqueurs pronostiques précoces de récurrence

Conscientes que seule une minorité de patients récidivera et qu'un suivi à vie est nécessaire, plusieurs équipes ont tenté d'identifier les marqueurs prédictifs de récurrence post opératoire chez les patients en rémission, l'objectif ultime étant de stratifier les patients en fonction de leur risque de récurrence et de définir les groupes à haut risque et à faible risque pour lesquels la durée et la fréquence nécessaire des examens de suivi peuvent différer.

1) L'insuffisance corticotrope post opératoire

Basé sur l'hypothèse d'une freination de l'axe HPA persistante en post opératoire, la concentration sérique de cortisol matinal a été le critère le plus étudié dans la littérature pour établir une probabilité de récurrence à long terme. L'insuffisance corticotrope post opératoire précoce s'est révélée être un marqueur de rémission prolongée dans de nombreuses études, mais de manière non univoque.

Par exemple, dans la grande série rapportée par Patil *et al.*, les patients dont le cortisol sérique post opératoire était supérieur à 2 µg/dl (50 nmol/L) avaient 2,5 fois plus de risque de récurrence que ceux dont le cortisol était inférieur ou égal à 2 µg/dl (OR = 2,5; IC à 95% 1,12-5,52 ; p = 0,022)(20). Dans l'étude de Chandler *et al* (30), 13% des patients présentant une insuffisance corticotrope (cortisol plasmatique matinal < 3 µg / dl soit 82 nmol/L) ont récidivé au cours du suivi, contre 50% des patients eucortisoliques (cortisol plasmatique matinal et cortisol libre urinaire dans l'intervalle de la normale).

Cependant, la probabilité de récurrence ne peut être prédite que partiellement par les mesures post opératoires de cortisol sérique. Dans une série anglaise portant sur l'issue de 97 patients, 11,5% ayant présenté des concentrations indétectables post opératoires ont récidivé (31). A l'inverse, certains patients avec des cortisols post opératoires non effondrés persistent en rémission prolongée : c'est le cas pour 57% des 35 patients ayant présenté une rémission biologique retardée, de l'étude de Valassi *et al.* (suivi médian de 4,5 ans) (24).

Certains auteurs ont affirmé que la probabilité de rechute était corrélée négativement avec la profondeur de l'insuffisance corticotrope, mais pas tous. Par exemple, Linday *et al* retrouvaient des taux de récurrence non différents, en comparant des patients ayant un nadir de cortisol post opératoire inférieur à 2 µg / dl (9,5% de récurrence), par rapport à des valeurs inférieures à 5 µg / dl (10,4% de récurrence) (32).

En outre, il a été montré que le délai de récurrence est plus long chez les patients présentant une insuffisance corticotrope post opératoire par rapport aux patients eucortisoliques(11). Cette découverte pourrait suggérer qu'un nombre plus petit de cellules adénomateuses corticotropes subsistait chez ces patients en insuffisance corticotrope.

Bien qu'étant un marqueur pronostique favorable, l'insuffisance corticotrope n'est pas un critère absolu pour prédire une guérison définitive.

2) Autres critères statiques

D'autres critères hormonaux ont été étudiés pour leurs informations pronostiques. Une durée prolongée d'insuffisance corticotrope a pu être retrouvée par certaines équipes associée à un risque de récurrence significativement inférieur. Dans une étude anglaise de 2013, la récupération après 6 mois, 1 an et 2 ans avait une valeur prédictive positive décroissante de récurrence de 64%, 61% et 59%, respectivement et aucun patient présentant une insuffisance corticotrope durant plus de 3 ans n'a présenté de récurrence (26).

La concentration d'ACTH plasmatique a été évaluée chez 46 patients présentant une insuffisance corticotrope ($<3\mu\text{g/dL}$ dans cette étude). Une concentration supérieure ou égale à 20pg/mL chez ces patients était fortement associée au risque de récurrence ultérieur (33). Plus récemment, quelques études ont suggéré qu'une concentration basse de cortisol salivaire nocturne avait des performances à peu près équivalentes pour le diagnostic de la rémission qu'une combinaison de divers tests biochimiques comprenant le cortisol sérique du matin (34).

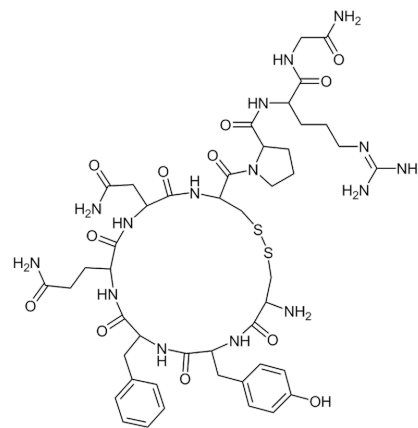
3) Le test au CRH

Cette évaluation dynamique des réponses de l'ACTH et du cortisol post opératoire a été initiée dès les années 1980, et repose sur l'hypothèse que la stimulation par le CRH (hormone corticolibérine) informerait plus précisément sur le degré d'insuffisance corticotrope qu'une unique valeur basale. Il pourrait alors avoir un intérêt dans les situations intermédiaires ou douteuses post opératoires, lorsque l'insuffisance corticotrope n'est pas profonde, ou lorsque l'on observe un eucortisolisme persistant. Linday *et al* ont étudié de manière prospective 332 patients dont 39 récurrences lors d'un suivi médian de 11 ans pour lesquels avait été réalisé de manière précoce un test au CRH (32). Après stimulation, les concentrations de cortisol et d'ACTH étaient significativement plus importantes dans le groupe de patients récidivant :

$p < 0.002$ pour le cortisol et $p < 0.04$ pour l'ACTH. En revanche, ces critères prédictifs n'étaient pas statistiquement meilleurs que la valeur unique du cortisol post opératoire avec un grand chevauchement des valeurs entre les deux groupes. L'interprétation est délicate puisque la réponse au test au CRH peut être le témoin de celle de cellules adénomateuses persistantes mais également de l'axe corticotrope sain lui-même, de manière physiologique.

III. Le test à la desmopressine dans la prédiction de la récurrence

A. Définition et rappels de physiologie



Structure de la vasopressine

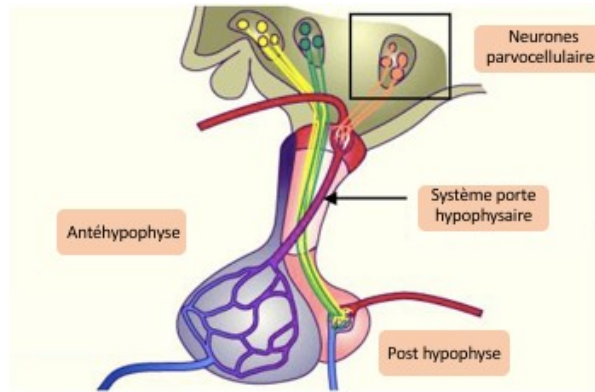
L'arginine-vasopressine (AVP), ou hormone anti-diurétique (ADH), est une hormone peptidique, constituée de neuf acides aminés.

Elle est synthétisée au niveau de l'hypothalamus par deux structures :

- à partir de neurones magnocellulaires du noyau supra optique et paraventriculaire
- ainsi que par des neurones parvocellulaires du noyau paraventriculaire

Les neurones magnocellulaires projettent leurs granules de sécrétion directement sur la post hypophyse puis exercent leur action systémique (35).

L'AVP a également une action sur l'antéhypophyse. Du fait de sa sécrétion par les neurones parvocellulaires, où elle est co-sécrétée avec la CRH (hormone corticolibérine), elle est déversée au niveau de l'éminence médiane par le système porte hypophysaire.



Synthèse et action de la vasopressine dans l'hypophyse

Elle favorise alors la sécrétion d'ACTH via l'activation du récepteur 1B de l'arginine-vasopressine (appelé récepteur V1B ou V3) présent au niveau des cellules corticotropes saines (36).

Par ailleurs l'AVP exerce physiologiquement d'autres fonctions :

- au niveau vasculaire et hépatique via les récepteurs V1A, en activant notamment la synthèse de prostaglandines
- rénales via les récepteurs V2 : elle exerce son action antidiurétique en favorisant la réabsorption de l'eau au niveau du tube collecteur du néphron par la translocation des aquaporines.

La desmopressine (1-deamino-8-D-Arginine Vasopressine ou DDAVP) est un analogue de l'AVP qui a une affinité particulière pour le récepteur V2, et une affinité plus faible pour les récepteurs V1 et V3. De ce fait, il est communément utilisé à visée thérapeutique dans le diabète insipide central, d'origine post hypophysaire, en se substituant à la production de vasopressine déficitaire.

De par la sélectivité de cet analogue de la vasopressine, l'effet sur la stimulation de sécrétion d'ACTH par les cellules corticotropes saines n'est pas attendu. Les premières études in vivo chez des sujets humains sains n'ont pas montré d'effet de la desmopressine sur la sécrétion d'ACTH, à des doses de 4 à 16 µg (37). Par contre, les adénomes corticotropes peuvent surexprimer les récepteurs V3 à la vasopressine, **mais surtout, exprimer les récepteurs V2, de façon aberrante**, ce qui implique une réponse positive de la sécrétion d'ACTH adénomateuse (et par conséquent, cortisolique) après stimulation de desmopressine.

L'administration intraveineuse de 10 microgrammes de desmopressine induit une réponse biologique corticotrope (augmentation de la concentration plasmatique de cortisol et d'ACTH) chez la plupart des patients présentant une maladie de Cushing, *a contrario* des sujets sains (38). Wang *et al* ont retrouvé une corrélation dans une étude prospective portant sur 29 adénomes corticotropes entre la réponse au test à la desmopressine (pourcentage d'augmentation de l'ACTH) et l'importance de l'expression des récepteurs V2 en immunohistochimie, après ajustement sur le volume tumoral (39). Cette caractéristique moléculaire permet au test à la desmopressine d'apporter une aide diagnostique dans deux situations diagnostiques préopératoires : la distinction entre maladie de Cushing et sécrétion ectopique d'ACTH, ainsi qu'entre les adénomes corticotropes et les hypercortisolismes fonctionnels (pseudoCushing). Ces situations ne seront pas développées dans cette revue.

B. Rôle dans la prédiction précoce de la récurrence

De par la sélectivité de cet analogue de la vasopressine, l'effet sur la stimulation de sécrétion d'ACTH par les cellules corticotropes saines n'est pas attendu. Contrairement aux autres marqueurs et tests qui explorent la fonctionnalité ou l'inhibition de l'axe corticotrope en post opératoire, l'utilisation du test à la desmopressine aurait l'avantage théorique, de détecter uniquement d'éventuelles cellules corticotropes adénomateuses répondant à ce stimulus, et donc de dépister précocement un risque éventuel de rechute à plus long terme. Une réponse « paradoxale » à la desmopressine indiquerait donc la persistance, malgré la rémission clinico-biologique d'un faible contingent de cellules adénomateuses exprimant de manière aberrante les récepteurs V2. Ces cellules tumorales résiduelles seraient alors susceptibles d'induire une récurrence tardive de la maladie de Cushing.

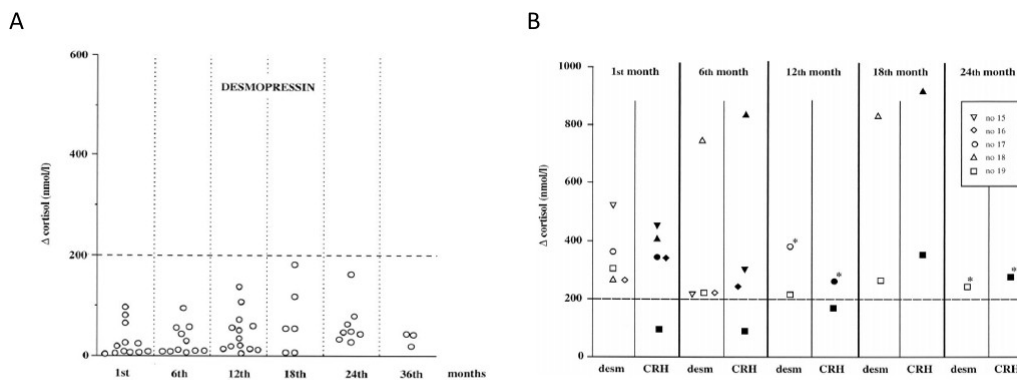
L'un des prérequis et une limite de ce test est qu'il ne serait informatif que chez les patients présentant une réponse positive avant la chirurgie, ce qui est le cas de 82 à 100% des patients atteints de la maladie de Cushing (40,41).

Il y a une grande disparité, cependant, parmi les études, relatives à la définition de la réponse, les critères appliqués pour la rémission et la récurrence et le délai post opératoire selon lequel le test était effectué. Il existe moins de 10 séries dans la littérature explorant l'intérêt de ce test,

relativement disparates en termes de performances pronostiques. Les différentes études (42-49) sont décrites plus précisément dans le tableau suivant.

Comme évoqué précédemment, les critères appliqués pour définir la rémission précoce et la récurrence ultérieure sont très variables.

Colombo *et al.* ont défini la rémission certaine par l'obtention d'un cortisol post opératoire <140nmol/L. (42). Dans cette étude, 14 patients répondaient à ce critère et aucun ne gardait une positivité au test à la desmopressine sur les différentes évaluations post opératoires. Parmi les cinq patients eucortisoliques, conservant une réponse en post opératoire, deux ont été considérés comme en récurrence. Néanmoins, le cortisol post opératoire de ces patients variait de 201 à 622 nmol/L et questionne sur la réelle rémission immédiate au regard de ces valeurs, ce d'autant plus que la durée de suivi était courte (36 mois au maximum).



Adapté de Colombo *et al.*

- A. Absence de réponse au DDAVP test (incrément de cortisol) chez les patients en rémission prolongée
- B. Données des 5 patients répondeurs en post opératoire. La réponse au DDAVP test est en figure blanche

En 2004, l'étude de Valéro *et al.* définissait la rémission post opératoire par l'obtention d'une guérison clinique, associée à une normalisation du cortisol libre urinaire et une reprise du cycle nyctéméral du cortisol (avec l'obtention d'un cortisol sérique nocturne <50 nmol/L) +/- une réponse positive au test de freinage minute à la dexaméthasone (45). L'hypocortisolisme matinal n'était donc pas nécessaire dans cette définition. Le test à la desmopressine était réalisé tardivement : au minimum, 3 mois après la chirurgie. De plus, il n'est pas fait mention de la réponse pré opératoire de ces patients au test à la desmopressine.

Les résultats sont tout de même encourageants mais ne comparent que vingt rémissions prolongées aux cinq récurrences ultérieures. Les pics d'ACTH et de cortisol au cours du test

étaient significativement plus bas dans le groupe « Rémission » que dans le groupe « Récurrence ultérieure » ($p = 0,003$ et $p = 0,013$ respectivement). Les critères de positivité du test issus de courbes ROC sont présentés dans le tableau suivant, ainsi que leurs performances pronostiques.

R vs LR	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Positive PV (%)	Negative PV (%)
Peak ACTH ≥ 22 pg/ml	80	100	100	92
ACTH rise $\geq 35\%$	80	75	57	90
Peak cortisol ≥ 350 nmol/l	80	92	80	92
Cortisol rise $\geq 14\%$	100	67	56	100

Adapté de Valero *et al.*(45)

R : rémission prolongée / LR : récurrence ultérieure

Peak ACTH et Peak cortisol : valeurs maximales après le DDAVP test

ACTH and Cortisol rises : augmentation relative des valeurs entre T0 et la valeur maximale

Romanholi et son équipe ont justifié dans leur étude le choix de la définition de la rémission. L'analyse de données de 207 patients suivis au préalable dans leur centre résultait qu'une concentration de cortisol matinal < 165 nmol/L permettait de définir un critère suffisant d'hypocortisolisme (43). Les données post opératoires de 41 patients considérés en rémission immédiate ont été analysées, dont 11 récurrences ultérieures. La réponse post opératoire de l'ACTH au test n'est pas mentionnée dans l'étude en raison de l'utilisation de kits de dosage trop différents. Seul l'incrément de cortisol a été étudié. Une augmentation de 193 nmol /L était capable de prédire la récurrence avec spécificité de 100% mais une sensibilité seulement de 33%.

A l'inverse, les résultats de 24 rémissions comparées à 15 récurrences de l'étude de Barbot *et al.* appuyaient la valeur pronostique de l'ACTH post opératoire (46). Pour une concentration seuil d'ACTH de 9pg / ml, les résultats retrouvaient sensibilité de 93% et une spécificité de 82%. Les valeurs seuils pour le test à la desmopressine ont également été calculées pour le pic d'ACTH, l'incrément absolu et relatif du cortisol, mais leurs valeurs pronostiques étaient moindres. Les répondeurs aux tests étaient 18 fois plus susceptibles d'avoir une récurrence que les patients sans réponse (HR = 18.6; IC 95% 2.4 à 141.6; $p = 0.0048$). Peu de données sont disponibles dans les caractéristiques post opératoires immédiates de ces patients, ce d'autant plus que les critères de rémission sont un peu « flous », puisque les patients devaient présenter deux des critères suivants :

- nécessité d'un traitement substitutif par hydrocortisone (à l'appréciation médicale)
- cortisol post opératoire matinal < 55 nmol/L

- Valeurs de cortisol matinal sériques et/ou Cortisol libre urinaire : « normales ou basses »

La positivité du test à la desmopressine pré opératoire n'était également pas retrouvée dans l'étude.

L'étude de Losa porte sur le plus grand effectif, de 164 patients (44). Le suivi est conséquent, de 58 mois mais très variable, de 6 mois à 148 mois post opératoire. La définition de la rémission précoce peut être critiquable puisqu'elle était définie comme une normalisation du cortisol libre urinaire associée à une concentration de cortisol inférieure à 5 ug/dL (138 nmol/L) après 1mg de Dexaméthasone. Ce choix pourrait suggérer un potentiel manque de sensibilité dans la détection précoce des échecs chirurgicaux.

La méthodologie de cette étude était différente. Les critères de positivité du test étaient définis au préalable (50) : augmentation de plus de 30% de la concentration d'ACTH et de 20% de la concentration de cortisol, associé à un incrément absolu d'au moins 10 pg/mL et 2 ug/dL, pour l'ACTH et le cortisol, respectivement. Ce choix reste discutable car les seuils de positivité pré opératoire du test sont non univoques dans la littérature et ont été définis à des fins différentes, diagnostiques, et donc, restent difficilement transposables dans la situation de prédiction de la récurrence où le contingent sécrétoire est différent.

Selon une courbe de Kaplan Meier, les patients conservant une réponse positive de l'ACTH présentaient une moindre « survie » à 5 ans sans récurrence de 82,6% (IC à 95%, de 70,6 - 94,6%) contre 94,0% (IC à 95% de 88,2 - 99,8% ; $p=0,01$) chez les patients non répondeurs. En revanche, le résultat était non significatif concernant la réponse du cortisol ($p=0,07$).

L'équipe de Marseille a comparé le test à la desmopressine au test combiné Dexaméthasone-Desmopressine (47). Parmi les 38 patients ayant bénéficié d'un test à la desmopressine 3 mois après la chirurgie, 10 patients ont récidivé. A 3 mois post opératoire, une augmentation relative de la concentration d'ACTH de 21% et un incrément positif du cortisol prédisaient la récurrence avec une sensibilité de 70%, spécificité de 57%, et des valeurs prédictives positive et négative respectivement de 37 et 84%. Au cours du suivi, une augmentation de l'ACTH > 66% et une augmentation de cortisol > 25% conduisaient à une sensibilité de 70%, une spécificité de 22%, une valeur prédictive positive et une valeur prédictive négative de 72%. Cependant certains patients ont récidivé dès 3 mois post opératoire, conduisant à supposer que la réalisation du test concordait déjà chronologiquement avec le moment de la récurrence.

Vassiliadi *et al.* ont confronté les performances du test à la desmopressine à la valeur de la concentration de cortisol post opératoire (48). Après avoir exclus les patients non répondeurs au test en pré opératoire, 32 patients en rémission prolongée étaient comparés à 7 patients ayant récidivé. L'incrément de cortisol avait la meilleure performance de diagnostic. Une augmentation de 7,4 ug/dL avait une sensibilité de 97% pour détecter la rémission. Il est important de noter que les concentrations basales (T0) d'ACTH et cortisol, avant l'injection de desmopressine différaient statistiquement entre les deux groupes : 3.7± 4.2 ug/dL (103 ± 116 nmol/L) vs 9.1±6.6 ug/dL (251 ±183 nmol/L). Se pose alors la question de la comparabilité des deux groupes au moment de la réalisation du test. En effet, les patients ayant récidivé ultérieurement présentaient déjà des concentrations de cortisol matinales plus élevées que les rémissions prolongées, avec une large variabilité (5.8± 7.8 ug/dL, soit 160 ± 216 nmol/L).

Table 2. Comparison Between Patients With Recurrence and Those in Remission With Regard to Their Early Postoperative Cortisol Levels, as Well as the Biochemical Parameters During Postoperative DT

	Long-Term Remission	Recurrence	P Value
n	32	7	
Early postoperative cortisol	2.4 ± 3.0	5.8 ± 7.8	.06
DT			
Timing of desmopressin after TSS (months)	1.7 ± 2.3	2.7 ± 3.0	NS
Cort ₀	3.7 ± 4.2	9.1 ± 6.6	.01
Peak Cort _{30,45}	4.6 ± 4.7	20.7 ± 12.2	.01
ΔCort	0.9 ± 3.0	11.6 ± 7.9	.01
%ΔCort	54.0 ± 135.5	148.2 ± 107.6	.09
ACTH ₀	13.4 ± 13.8	30.4 ± 21.4	.01
Peak ACTH _{15,30}	22.9 ± 29.8	101.8 ± 65.5	.02
ΔACTH	9.8 ± 19.2	71.4 ± 45.9	.01
%ΔACTH	56.7 ± 73.3	236.1 ± 125.1	<.001

Abbreviations: ACTH₀, ACTH at time 0; Cort₀, cortisol at time 0; peak ACTH_{15,30}, peak ACTH at 15 or 30 min; peak Cort_{30,45}, peak cortisol at 30 or 45 min; ΔACTH = peak ACTH_{15,30} - ACTH₀; ΔCort = peak Cort_{30,45} - Cort₀; %ΔACTH = (ΔACTH/ACTH₀) × 100; %ΔCort = (ΔCort/Cort₀) × 100. Values are expressed as mean ± SD.

Adapté de Vassiliadi *et al.*(48)

Les principales conclusions de ces précédentes études sont répertoriées dans les tableaux suivants. Afin d'expliquer les variabilités des résultats, les principales limites issues de notre analyse de la littérature sont les suivantes :

- Les définitions sont différentes pour classifier un patient en rémission, ou bien non guéri par la chirurgie.
- Le critère de positivité du test à la desmopressine varie selon les études. Pour les équipes ayant utilisé des critères d'augmentation relative de l'ACTH ou de cortisol (Pourcentage d'augmentation), les concentrations basses d'ACTH et de cortisol lorsque le patient est

en profonde insuffisance occasionnent plus volontiers un risque de faux positifs (45, 44).

- La positivité du test à la desmopressine pré opératoire n'est pas toujours mentionnée ou nécessaire dans les critères d'inclusion (45, 46, 47). On peut aisément comprendre la moindre pertinence de cette évaluation post opératoire lorsqu'un patient était déjà non répondeur en pré opératoire.
- La chronologie de réalisation du test à la desmopressine est parfois bien plus tardive que la période post opératoire précoce ou non connue (49).
- Le délai de suivi peut être très bref (42) et questionne sur la survenue possible d'une récurrence ultérieure.

Etude	Définition de la rémission	Définition de la récurrence
Colombo, 2000 (42)	Cortisol à 8 <140 nmol/L	non définie
Valero, 2004 (45)	Guérison clinique ET "Hypocortisolisme" ET/OU normalisation du CLU avec reprise du cycle nyctéméral du cortisol et de l'ACTH (cortisol à minuit <50 nmol/L) ET (lorsque disponible) : cortisol <50 nmol/L après 1mg de Dexaméthasone	Identique à celui du diagnostic de la MC
Romanholi, 2008 (43)	Cortisol à 8 <165 nmol/L	non définie
Losa, 2009 (44)	Normalisation du CLU ET cortisol <5ug/dL (138nmol/L) après 1 mg de Dexaméthasone	Signes cliniques d'hypercortisolisme Augmentation du CLU ET Absence de réponse au test de freinage à la Dexaméthasone
Barbot, 2013 (46)	2/3 critères : x Nécessité d'une substitution par hydrocortisone x Cortisol à 8h < 55nmol/L x Concentration de cortisol matinale faible et CLU faible ou normal pendant au mois 6 mois	non définie
Le Marchadour, 2015 (47)	Cortisol à 8h <100 nmol/L OU eucortisolisme : normalisation du rythme nyctéméral et du CLU OU nécessité d'une substitution par hydrocortisone	2/3 critères : Cortisol > 50 nmol/L après 1 mg de Dexaméthasone Moyenne de 2 CLU pathologiques Perte du cycle nyctéméral du cortisol et de l'ACTH
Vassiliadi, 2017 (48)	Cortisol à 8h <138 nmol/L OU signes cliniques d'insuffisance corticotrope OU normalisation du CLU et cortisol <5ug/dL (138nmol/L) après 1 mg de Dexaméthasone	Réapparition signes cliniques d'hypercortisolisme et 2/3 critères : x Cortisol > 50 nmol/L après 1 mg de Dexaméthasone x Augmentation du cortisol sérique nocturne x Augmentation du CLU (2 échantillons)
Ambrogio, 2017 (49)	Normalisation du CLU et cortisol sérique matinal bas signes cliniques d'insuffisance corticotrope	Augmentation du CLU Cortisol > 80 nmol/L après 1 mg de Dexaméthasone et réapparition de signes cliniques d'hypercortisolisme

Table 2 : Définitions de la rémission et de la récurrence en fonction des études portant sur l'intérêt du test à la desmopressine en post opératoire

CLU : Cortisol libre urinaire

Étude	Rémission initiale	Récidive	Positivité du test pré-opératoire	Délai de réalisation desmopressine	Critères de positivité	Se	Spe	VPP	VPN	Durée de suivi
Colombo, 2000 (42)	19	2	19	1, 6, 12, 18 24 et 36 mois	Augmentation de cortisol >7.3 ug/dL	100	82	40	100	1 à 36 mois
Valero, 2004 (45)	17	5	Non connue	3 à 6 mois	Pic d'ACTH > 22pg/mL	80	100	100	92	24 à 141 mois
					Pourcentage d'Augm d'ACTH > 35%	80	75			
					Pic de cortisol > 12.7 ug/dL	80	92	80	92	
					Pourcentage d'Augm de cortisol > 14%	100	67			
Romanholi, 2008 (43)	41	11	41	15 à 30 jours	Augmentation de cortisol >7 ug/dL	46	100	100	83	20 à 161 mois
Losa, 2009 (44)	164	18	164	4 à 6 jours	Pourcentage d'Augm d'ACTH > 30%	56	65	16	92	6 à 148 mois
	150	17			Pourcentage d'Augm de cortisol > 20%	24	85	17	90	
Barbot, 2013 (46)	39	15	non connue	6 mois	Augmentation d'ACTH > 9pg/mL	93	83	78	95	24 à 123 mois
Le Marchadour, 2015 (47)	38	10	non connue	3 mois	Pourcentage d'Augm d'ACTH > 21% et increment de cortisol positif	70	57	37	84	18 à 180 mois
Vassiliadi 2017 -48	39	7	39	6 mois	Augmentation d'ACTH > 52pg/mL	71	97	83	94	12 à 199 mois
	37	7			Pourcentage d'Augm d'ACTH >111%	86	83	55	96	
	39	7			Augmentation de cortisol >7.4 ug/dL	86	97	86	97	
	37	7			Pourcentage d'Augm de cortisol > 63%	86	81	50	96	
Ambrogio, 2017 (49)	43	10	39	Non connue	Augmentation d'ACTH > 27pg/mL	20	86	33	76	2 à 23 ans

Table 3 : Valeur pronostique du test à la desmopressine post-opératoire selon les différentes études

Augm : augmentation

Se : Sensibilité ; Spe : Spécificité ; VPP : Valeur prédictive positive ; VPN : Valeur prédictive négative

Le test combiné à la dexaméthasone et à la desmopressine a également été étudié. La freination par la dexaméthasone aurait l'intérêt de diminuer la réponse non spécifique possible des cellules corticotropes saines à la desmopressine. Castinetti *et al* ont rapporté les résultats de ce test sur 38 patients ayant eu une chirurgie hypophysaire réussie pour la maladie de Cushing. Une augmentation de plus de 50% du cortisol plasmatique sérique et de l'ACTH était un facteur prédictif précoce de la récurrence avec des performances diagnostiques encourageantes (sensibilité de 100%, spécificité de 89%). Cependant dans cette étude, les réponses positives au test étaient considérées jusqu'à 24 mois post opératoire, lorsqu'elles précédaient le diagnostic de récurrence (51).

IV. Contexte et objectifs de travail

La place de la chirurgie transphénoïdale est centrale puisqu'actuellement, elle est la seule option permettant à ces malades atteints de maladie de Cushing d'espérer une rémission à long terme (3). Cependant, des récurrences peuvent survenir pour environ 15 à 30 % des cas (30,52,53).

Les connaissances actuelles recommandent de ce fait un suivi à vie des patients considérés en rémission sans qu'il n'existe toutefois de consensus sur le protocole à suivre (3). Étant donné la durée du suivi recommandée, un suivi uniformisé et approfondi pour tous les patients expose 70 à 85% des patients en rémission à un suivi excessif, source potentielle de stress et de dépenses de santé. L'objectif de notre travail est donc de participer à l'établissement d'une catégorisation des patients selon leur risque de récurrence afin de poser les bases d'une médecine personnalisée adaptant la fréquence, voire la durée du suivi selon le risque individuel de récurrence.

Même si l'identification d'un marqueur aux performances absolues est illusoire, une approche probabiliste semble envisageable. Pour stratifier précocement le risque de récurrence, des précautions méthodologiques sont essentielles. Ainsi, l'évaluation de l'axe corticotrope en post opératoire, pour affirmer la rémission immédiate, doit être précise. Des critères trop « lâches » de rémission, variant de l'insuffisance corticotrope profonde à l'unique normalisation du CLU impliquent un manque de spécificité certain. Le risque est de méconnaître des patients étant déjà en échec de leur chirurgie. L'évaluation doit être précoce pour rester dans une notion de prédiction ultérieure d'un événement. Effectivement, évaluer ces patients trop tardivement pourrait conduire à confondre l'intérêt prédictif de ces marqueurs alors que la situation est déjà

celle du diagnostic de la récurrence, lorsque le patient a récupéré la fonctionnalité de l'axe corticotrope.

Le test à la desmopressine est basé sur l'expression aberrante de récepteurs V2 à la vasopressine par les cellules adénomateuses corticotropes, que cible préférentiellement la desmopressine, analogue de l'AVP (38). Il est conceptuellement un outil intéressant pour dépister un faible contingent ou paucisécrétoire de cellules adénomateuses corticotropes. Ceci constitue un rationnel pour justifier de son utilisation dans la situation des patients en insuffisance corticotrope post opératoire : la persistance d'une réponse paradoxale traduirait *in fine* la présence de cellules adénomateuses alors que le patient est considéré en rémission clinique et biologique.

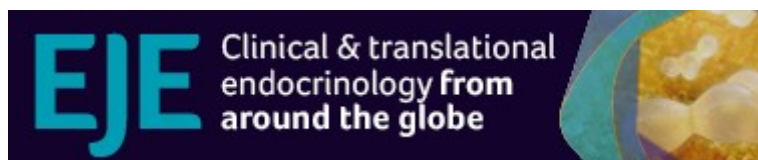
En effet, sa capacité à dépister le caractère tumoral devant un hypercortisolisme très modéré a été déjà démontré, pour distinguer par exemple les maladies du Cushing aux « pseudo Cushing » (54,55). De plus, les travaux de Boukhalil *et al.* ont montré dans des évaluations séquentielles la capacité du test à la desmopressine à dépister précocement la récurrence, et ce même avant l'élévation du CLU, pour 71% des patients (11).

Un nombre limité d'études s'est intéressé à ce caractère prédictif précoce du test à la desmopressine, (42-49). Les biais méthodologiques sont importants. La plupart des effectifs sont faibles (<50 patients) et concernent un nombre limité d'évènements. Les définitions de la rémission sont parfois critiquables, d'une « suspicion clinique d'hypocortisolisme », à des « concentrations de cortisol post opératoire basses ». La positivité du test à la desmopressine en post opératoire n'était pas toujours connue.

Identifier précocement ces patients les plus à risque reste néanmoins primordial : la persistance de complications liées au syndrome de Cushing, semble liée à la durée d'exposition à l'hypocortisolisme. La détection précoce de la récurrence par un suivi dont la fréquence et la durée seraient calquées sur cette stratification de risque semble alors essentielle.

L'objectif de ce travail de thèse était d'évaluer dans une grande cohorte la pertinence du test à la desmopressine réalisé de façon précoce dans la prédiction de la récurrence ultérieure de la maladie de Cushing de patients opérés et considérés en rémission initiale.

**PARTIE II - LA REPONSE PERSISTANTE DU CORTISOL AU TEST A LA
DESMOPRESSINE PREDIT LA RECIDIVE DE LA MALADIE DE CUSHING CHEZ
LES PATIENTS PRESENTANT UNE INSUFFISANCE CORTICOTROPE POST-
OPERATOIRE**



Persistent cortisol response to desmopressin predicts recurrence of Cushing's Disease in patients with post-operative corticotrophic insufficiency

Journal:	<i>European Journal of Endocrinology</i>
Manuscript ID	Draft
mstype:	Invited Review
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	<p>Cambos, Sophie; Hôpital Haut Lévêque-CHU de Bordeaux, Department of Endocrinology Mohammedi, Kamel; Hôpital Haut Lévêque-CHU de Bordeaux, Department of Endocrinology Castinetti, Frédéric; Aix-Marseille université, Assistance-Publique-Hôpitaux de Marseille, centre de référence des maladies rares d'origine hypophysaire, Department of endocrinology SAIE, Clotilde; Hopitaux Universitaires Pitie Salpetriere-Charles Foix, endocrinology Young, Jacques; APHP-Univ Paris Sud 11 -INSERM, Endocrinology; Université Paris Saclay, Univ Paris-Sud,, Faculté de Médecine Paris-Sud, UMR-S1185 Chanson, Philippe; Hopitaux de Paris (Bicetre), Endocrinology; Université Paris Saclay, Univ Paris-Sud,, Faculté de Médecine Paris-Sud, UMR-S1185 Tabarin, Antoine; Hôpital Haut Lévêque-CHU de Bordeaux, Department of Endocrinology; INSERM and University of Bordeaux, Neurocentre Magendie, U1215</p>
Keywords:	Cushing disease, recurrence, desmopressin test, corticotrophic insufficiency

SCHOLARONE™
Manuscripts

1 Persistent cortisol response to desmopressin predicts recurrence of Cushing's
2 Disease in patients with post-operative corticotropic insufficiency

3 Short title : Desmopressin predicts Cushing's recurrence

4
5 S. Cambos^a, K. Mohammadi^a, F. Castinetti^c, C. Saie^d, J. Young^{d,e,f}, P.Chanson^{d,e,f} and
6 A.Tabarin^{a,b}

7 Affiliations

8 a- CHU Bordeaux, Hôpital Haut-Lévêque, Service d'Endocrinologie, Diabétologie et
9 Nutrition, Pessac, France

10
11 b- INSERM and University of Bordeaux Neurocentre Magendie, U1215, Bordeaux,
12 France

13
14 c- Aix Marseille University, Marseille Medical Genetics, INSERM, and Assistance
15 Publique- Hopitaux de Marseille, Department of Endocrinology, French reference
16 center for rare pituitary diseases, Marseille, France

17
18 d- Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpitaux Universitaires Paris-Saclay, Hôpital
19 de Bicêtre, Service d'Endocrinologie et des Maladies de la Reproduction, Le Kremlin
20 Bicêtre, F-94275, France;

21
22 e- Université Paris Saclay, Univ Paris-Sud, Faculté de Médecine Paris-Sud, UMR-
23 S1185, Le Kremlin Bicêtre, F-94276, France

24

25 f- INSERM 1185, Fac Med Paris Sud, Université Paris-Saclay, Le Kremlin-Bicêtre, F-
26 94276, France

27 Author for correspondence: antoine.tabarin@chu-bordeaux.fr

28 **KEY WORDS**

29 Cushing disease, recurrence, desmopressin test, corticotropic insufficiency

30 **ABSTRACT COUNT**

31 **249**

32 **WORD COUNT**

33 4650

34

35

Manuscript submitted for review to European Journal of Endocrinology

36 Abstract

37 Objective: Cushing's disease (CD) may recur despite corticotropic insufficiency (CI)
38 following pituitary surgery. The predictive value of the desmopressin test (DT) for recurrence
39 in this setting remains controversial. We have evaluated whether persistent response to DT
40 predicts recurrence in patients with post-operative CI, in a large cohort using robust reference
41 standards.

42 Design: Multicentre retrospective study

43 Methods: 95 patients with CD (women 82%, age 41 ± 14 years), responding preoperatively to
44 desmopressin, and with early post-operative CI (8-am cortisol < 138 nmol/L), underwent a DT
45 within 3 months post-surgery. Association between DT findings and the prediction of
46 recurrence was tested using regression and ROC analyses.

47 Results: Recurrence occurred in 17/95 patients within 29 to 91 months. Post-operative cortisol
48 was increased in recurrence *versus* remission group: 63 ± 39 *versus* 44 ± 29 nmol/L, $p=0.03$.
49 The cortisol peak during DT was greater in the recurrence *versus* remission group (327, 95%
50 confidence interval [237-417] *versus* 121 [79-164] nmol/L, $p=0.0001$). This association
51 persisted after multiple adjustments, without interaction with early post-operative cortisol
52 concentrations. In the context of CI, cortisol peak >100 nmol/l had the best
53 specificity/sensitivity combination, predicting recurrence better than early post-operative 8am
54 cortisol ≤ 50 nmol/L: AUC 0.758 (0.657–0.857) *versus* 0.600 (0.460–0.734), $p<0.0001$. A
55 cortisol peak >100 nmol/l was associated with 8-fold increased risk of recurrence (odds ratio
56 8.30 [2.45–38.35], $p=0.0004$).

57 Conclusion: The cortisol peak during the post-operative DT is independently associated with
58 CD recurrence, and offers an incremental prognostic value, which may help to stratify patients
59 with CI and refine their follow-up according to the risk of recurrence.

60

Manuscript Review

61 INTRODUCTION

62 Cushing's disease (CD) is a severe condition responsible for numerous comorbidities and
63 increased mortality (1, 2). Transphenoidal Surgery (TSS) is the only therapeutic option that
64 offers definitive remission of hypercortisolism. However, despite initial post-operative
65 remission, recurrence of the disease occurs in 5 to 47% of patients depending on the series
66 and the criterion of remission used (3- 5). Therefore, life-long follow-up is recommended for
67 all patients, although, currently, there is no actual consensus on the modalities and frequency
68 of follow-up evaluations (4).

69 Given the median reported rate of recurrence, a systematic follow-up for all patients implies
70 that approximately 2/3 of patients in post-operative remission will have avoidable
71 examinations and tests that can lead to both unnecessary cost and possibly to increased stress.
72 Consequently, several studies have addressed the issue of the risk of recurrence in order to
73 define groups at high and low risk for whom the duration and frequency of follow-up
74 examinations could differ. Although controversy persists with regard to the threshold
75 concentrations of plasma cortisol, currently the most commonly admitted prognostic factor for
76 long-term remission is an early post-operative corticotrophic insufficiency (CI) (3, 4, 6, 7, 8),
77 defined by the Endocrine Society as an 8-am cortisol concentration ≤ 138 nmol/L (4).
78 However, recurrence may still occur in 12 to 26% patients with post-operative CI,
79 emphasizing the need for other prognostic factors (8, 9, 10, 11). The predictive values of
80 other factors for the recurrence of CD in patients with CI, including increased late night
81 salivary cortisol (LNSC) (12), CRH test (13, 14) and coupled dexamethasone-desmopressin
82 test (6); have been previously examined but none has emerged as a reliable predictor of long-
83 term CD recurrence.

84 Desmopressin is a synthetic analog of vasopressin, specific for the vasopressin V2 receptor
85 (V2R) that is physiologically absent in pituitary corticotrophs. By contrast, adenomatous
86 corticotrophs may aberrantly express the V2R (15) and a “paradoxical” *in vivo* increase in
87 plasma cortisol and ACTH is observed following desmopressin injection in 82 to 100% of
88 patients with CD (16, 17). Several studies have evaluated the desmopressin test as a
89 prognostic tool for post-operative recurrence of CD, based on the assumption that a response
90 reflects the persistence of adenomatous cells that will lead to recurrence of the disease (6, 18
91 - 24). These studies have produced conflicting results but suffer from various methodological
92 limitations. These include the limited size of cohorts (19, 20, 21), short duration of follow-up
93 (19) which inherently reduces the number of recurrences (19, 20), and limited statistical
94 power to detect the investigated associations. The criteria used to diagnose post-operative
95 remission and recurrence are also sometimes debatable (17), or imprecise (22, 23, 24), leading
96 to potential bias in the classification of patients according to their endocrine status.
97 Methodological concerns also apply to the desmopressin test including an arbitrary definition
98 of response (18), delayed timing of the test following surgery (22), and a lack of pre-operative
99 evaluation of patients with the test (6, 20, 23), a condition that favours the inclusion of
100 patients who are non-responders and thereby reduces the capacity of the test to predict
101 recurrence. Therefore, additional studies, conducted in large cohorts of carefully evaluated
102 patients, are needed to reach a conclusion on the usefulness of the desmopressin test in
103 predicting the recurrence of CD in operated patients, and more specifically in patients with
104 post-operative CI.

105 To assess this issue, we retrospectively evaluated the predictive performance of the test in a
106 large cohort of consecutive patients who were accurately evaluated pre-operatively, with
107 confirmed post-operative CI and who were followed over a long period.

108108

109 PATIENTS AND METHODS

110 Patients

111 An extensive retrospective search for CD patients was conducted in two University Hospitals
112 (CHU) in France between 1998 and 2018 (Bordeaux Hospital and Kremlin Bicêtre Hospital).
113 The data were collected under conditions of regular clinical care and patients gave their
114 consent to participate in the study. The use of the data was approved by the local ethics
115 committee of Bordeaux CHU. This study was possible since these two endocrine departments
116 followed the same procedure for investigating patients with ACTH-dependent CD and
117 suspected of CD over many years. Amongst the other usual investigations this included a pre-
118 operative desmopressin test; evaluation of post-operative 8 am plasma cortisol within 7 days
119 following TSS, and a desmopressin test during the early post-operative period. In addition,
120 data from 11 patients from the University Hospital La Conception (Marseille, France), which
121 was included in a prior study and satisfied the criteria described below, were included in the
122 present study after updating the patient follow-up data (6). Diagnosis of CD was based on the
123 combination of overt clinical Cushing's syndrome and biochemical assessment consistent
124 with non-suppressed ACTH concentrations according to international guidelines (25).

125 To be included in the study, patients were required to fulfill the following criteria:

- 126 1. Have a paradoxical response to the pre-operative desmopressin test according to our
127 locally established criteria (see below)
- 128 2. Have undergone TSS
- 129 3. Have an early post-operative CI, defined according to the recommendation of the
130 Endocrine Society as an 8.00 am serum cortisol <138nmol/L (5 µg/L) within 7 days
131 following TSS (4)

132 4. Be evaluated with a post-operative desmopressin test within 3 months following TSS
133 (median 7 [6, 30] days)

134 5. Have been followed for at least 12 months

135135

136 **Follow-up**

137 According to the current practice of each center, patients were seen every 3 to 6 months
138 during the period of CI following TSS. A detailed analysis of the hypothalamic-pituitary-
139 adrenal axis function was performed at the time of recovery from CI. Patients in remission
140 were then regularly followed at 6-12 months intervals. Biochemical evaluation, performed at
141 each evaluation to screen for recurrence, varied and included a clinical examination by an
142 expert endocrinologist and at least one biochemical investigation such as 24h urinary free
143 cortisol (UFC), LNSC or 1 mg dexamethasone suppression test (DST).

144 Persistent remission at the end of follow-up was defined as the lack of recurrent clinical
145 symptoms and association of at least two of the following biochemical criteria; normal 24h
146 UFC, cortisol suppression after 1mg DST (<50 nmol/L), and normal LNSC concentration.

147 Recurrence of CD was defined as the reappearance of clinical symptoms of hypercortisolism
148 after examination by an expert endocrinologist and at least one of the following biochemical
149 tests being abnormal: consistently increased UFC, increased LNSC, non-suppressibility of
150 cortisol after 1mg DST (4).

151151

152 **Desmopressin test**

153 After an overnight fast, all subjects were administered a 10 µg desmopressin injection
154 (Minirin® parenteral solution, Ferring laboratories, Milano, Italy). Consecutive samples of

155 cortisol and ACTH were collected before injection (baseline time = T0) and after 15, 30, 45,
156 60, and 90 minutes as previously described (26).

157 To determine the threshold for the positivity of the desmopressin test performed
158 preoperatively, we used the results of a specific prospective study conducted in Bordeaux
159 hospital involving 68 patients (age: 42.0 ± 15.8 years, F/M ratio = 5.8) with an active CD and
160 a control group of 56 patients (28 patients with functional non-neoplastic hypercortisolism
161 (age 43.2 ± 19.6 years, F/M ratio = 4.7); 18 patients with a non-corticotrophic pituitary adenoma
162 (age 42.1 ± 15.2 years, F/M ratio = 1.3) and 10 overweight/obese subjects (age 35.8 ± 15.3
163 years, F/M ratio = 2.3)). Using the receiver operator characteristic (ROC) analyses, a
164 combined criterion based on an absolute ACTH increase over baseline ≥ 27 pg/mL and/or an
165 absolute cortisol increment ≥ 106 nmol/L was chosen to define a paradoxical response during
166 the desmopressin test, consistent with the diagnosis of CD.

167 **Measurements**

168 Radioimmunoassays (RIAs), Chemiluminescence immunoassays (CLIAs) and Liquid
169 Chromatography using mass spectrometry (LC-MS) were used over the study period in
170 endocrine reference laboratories of each center to measure plasma and urinary cortisol and
171 ACTH concentrations. UFC concentrations were analyzed by comparison with normal ranges
172 used in each center. Details on all assay methods are listed in Supplemental data. In patients
173 with undetectable concentrations of plasma cortisol and ACTH, a value corresponding to the
174 detection limit of the assay (see supplemental data) was used for statistical purposes.

175175

176 **Statistical analysis**

177 Continuous variables are expressed as mean \pm SD or median (25th, 75th percentiles) for those
178 variables with a skewed distribution. Categorical variables are presented as number of patients

179 with corresponding percentage. Characteristics of participants with CD recurrence versus
180 those with sustained remission during follow-up were compared using chi-squared, ANOVA,
181 or Wilcoxon tests. Variables with skewed distribution were log-transformed for statistical
182 analyses.

183 Linear regression analysis was used to test associations between hormonal parameters during
184 the desmopressin test (baseline, peak and absolute increment (peak minus baseline) of cortisol
185 and ACTH concentrations) and the likelihood of CD recurrence in univariate and multi-
186 variate models. Adjustment was performed for gender, age at diagnosis and immediate post-
187 operative 8am plasma cortisol concentrations (model 1). Furthermore, we tested the
188 interaction between the immediate post-operative 8am cortisol and different hormonal
189 responses during the test on their association with CD recurrence.

190 We also conducted a series of sensitivity analyses to assess associations between various
191 criteria for response to the desmopressin test and the likelihood of CD recurrence after
192 adjustment for: (i) baseline desmopressin cortisol (for cortisol analyses) or ACTH
193 concentrations (for ACTH analyses); (ii) cortisol peak (for ACTH analysis) or ACTH peak
194 (for cortisol analysis) further to model 1.

195 The areas under the curve (AUC) and associated 95% confidence interval were plotted, using
196 ROC analyses, to compare the prognostic values of different hormonal criteria of response to
197 the desmopressin test versus the immediate postoperative 8am cortisol concentrations for the
198 prediction of CD recurrence. The best cut-off to predict CD recurrence was determined based
199 on the best combination of specificity and sensitivity. A logistic regression model was used to
200 test for association between the selected cut-off and CD recurrence, expressed as an odds ratio
201 with related 95% confidence interval.

202 Statistics were performed using JMP 14 SW software (SAS Institute, www.sas.com) and Stata
203 software version 13 (StataCorp, www.stata.com). Two-sided P-values less than 0.05 were
204 considered as significant.

205205

206206

207207

Manuscript Review

209 RESULTS

210 Characteristics of participants at time of study inclusion

211 232 patients with CD were followed after pituitary TSS, of these, 128 participants were pre-
212 selected based on a positive pre-operative desmopressin test (as defined above). Thirty-three
213 participants were excluded because of early post-operative plasma concentrations of 8am
214 cortisol > 138 nmol/L. Thus, 95 patients with post-operative CI were included in the current
215 study (Figure 1). The patients were mainly women (82%), the mean age was 41.0 ± 13.9 years
216 and they were followed for a median duration of 61 (29, 91) months.

217 Seventeen patients (18%) experienced a recurrence of CD after 30 (15, 60) months following
218 TSS (recurrence group), while 78 patients (82%) were still in remission at the end of the study
219 follow-up period (remission group). All patients diagnosed with a recurrence of CD required a
220 complementary treatment of Cushing's disease. Characteristics of patients of both groups at
221 time of study inclusion are depicted in Table 1. Patients in the remission group were older
222 than those in the recurrence group (42.5 ± 13.6 vs 34.5 ± 13.9 years, $p=0.03$). The main
223 hormonal and morphological characteristics were comparable between the groups, including
224 the duration of follow-up: 54 (24, 91) months in the remission group and 82 (48, 106) months
225 in the recurrence group, respectively ($p=0.13$).

226 Pre-operative desmopressin test according to recurrence status

227 The results of the desmopressin test performed before TSS are presented in Supplemental
228 Table 1. No difference was observed between the two groups of patients in terms of baseline,
229 peak and absolute increment of cortisol and ACTH concentrations during the desmopressin
230 test.

231 Post-operative desmopressin test according to recurrence status

232 Although all patients had CI, the mean early post-operative 8am cortisol concentration was
233 increased in participants with recurrence of CD compared to those with sustained remission:
234 63 ± 39 vs 44 ± 29 nmol/L, $p=0.03$. This association remained significant after adjustment for
235 sex and age ($p=0.002$). The results of the desmopressin test in patients of the recurrence and
236 remission groups are presented in Table 2. Compared to patients in the remission group, those
237 in the recurrence group had increased cortisol and ACTH concentrations in different
238 desmopressin test settings (baseline concentrations, peak concentration and absolute
239 increment) in the univariate model. The peak and absolute increment of cortisol remained
240 significantly increased in the recurrence group compared to the remission group in the multi-
241 variable analysis. Significant associations between baseline and ACTH peaks during the
242 desmopressin test and the recurrence of CD also persisted after adjustment for confounding
243 variables. No significant interaction between the early post-operative 8am cortisol and cortisol
244 or ACTH concentrations during the different desmopressin test settings were observed (all p-
245 values for interaction > 0.05).

246246

247 **Sensitivity analyses**

248 To test the independence (of their association with the recurrence of CD) between the baseline
249 values on one hand and the peak and increment during the test on the other hand, we included
250 the baseline value in the multi-adjusted model. The peak cortisol level remained significantly
251 associated with recurrence after adjustment for baseline cortisol during the test, while the
252 ACTH peak-recurrence association disappeared after adjustment for baseline ACTH
253 (Supplemental Table 2). We also tested the independence between cortisol and ACTH
254 concentrations during the desmopressin test, and observed that the peak of cortisol remained
255 significantly increased in patients with recurrence (252 nmol/L, confidence interval [$162 -$
256 342]) compared to those with sustained remission (98 [$60 - 135$] nmol/L) after adjustment for

257 ACTH peak according to model 1 ($p=0.005$). However, the association between the ACTH
258 peak and recurrence completely disappeared after adjustment for the cortisol peak (22.8 [16.3
259 – 29.3] vs 20.6 [4.4 – 36.8] pg/mL in remission and recurrence groups, respectively, $p=0.91$).

260260

261 **Prognostic value of the post-operative desmopressin test for the prediction of CD** 262 **recurrence**

263 The AUC (95% confidence interval) using ROC analyses to determine the prognostic values
264 of plasma concentrations of early postoperative 8am cortisol concentrations and the different
265 hormonal criteria of the post-operative desmopressin test are displayed in Table 3 and plotted
266 in Figure 2. The peak of cortisol during the desmopressin test predicted recurrence of CD
267 significantly better than did the early post-operative 8am cortisol level (0.786 [0.670 - 0.902]
268 versus 0.655 [0.505 - 0.804], $p=0.04$). The absolute cortisol increment also improved the
269 prediction of CD recurrence, but did not reach statistical significance (Table 3 and Figure 2-
270 A). No significant improvement in the prediction of CD recurrence was observed with the
271 other criteria of the desmopressin test (Table 3 and Figures 2).

272272

273 Cut-offs and related specificities and sensitivities, computed using ROC analyses, of the early
274 post-operative 8am cortisol and the peak of cortisol during the desmopressin test are presented
275 in Table 4. An early post-operative 8am cortisol > 50 nmol/l and cut-off > 100 nmol/L for the
276 cortisol peak during the post-operative desmopressin test displayed the best combinations of
277 specificity and sensitivity for the prediction of recurrence (Table 4). In the context of CI
278 (defined in our series by an 8 am early post-operative cortisol < 138 nmol/L), the cortisol
279 peak (> 100 vs ≤ 100 nmol/L) predicted recurrence better than did early post-operative 8am
280 cortisol (> 50 vs ≤ 50 nmol/l): AUC 0.758 (0.657 – 0.857) vs 0.600 (0.460 – 0.734),
281 $p<0.0001$ (Figure 3). Patients with a cortisol peak during the desmopressin test >100 nmol/L

282 were 8-fold more likely to have CD recurrence than those with a cortisol peak ≤ 100 nmol/L:
283 odds ratio 8.30 (95% confidence interval, 2.45 – 38.35), $p=0.0004$. However, the cut-off
284 based on the immediate post-operative 8am cortisol (>50 vs ≤ 50 nmol/L) was not significantly
285 associated with the likelihood of CD recurrence: odds ratio 2.21 (0.74 – 6.58), $p=0.15$.

286286

287 DISCUSSION

288 The present study demonstrates that a persistent paradoxical postoperative response to
289 desmopressin is a significant early prognostic biomarker for the recurrence of CD in patients
290 with post-operative CI. Our results show a strong and consistent association between the peak
291 of cortisol during the desmopressin test and the recurrence of CD. This association was
292 independent of confounding variables including age, sex and early post-operative 8am
293 cortisol. No significant interaction was observed between the early post-operative 8am
294 cortisol and the peak of cortisol within the test on their association with CD recurrence.
295 Importantly, the association between the peak of cortisol and recurrence was statistically
296 independent of the baseline cortisol concentration and the ACTH peak during the
297 desmopressin test.

298 For subjects in a state of CI, the cortisol peak during the DT had a higher prognostic value
299 than the early post-operative 8am cortisol for predicting the recurrence of CD. This greatest
300 prognostic value was reliable when we considered the cortisol peak under the test both as a
301 quantitative variable or a categorical trait (based on the best combination of specificity and
302 sensitivity). Interestingly, a cortisol peak > 100 nmol/L (vs ≤ 100 nmol/L) was associated
303 with an 8-fold increased risk of CD recurrence.

304 Our results further significantly expand on the results of previous studies since they satisfy all
305 of the major methodological requirements for ensuring the reliability of results. The use of

306 unquestionable reference standards for an accurate classification of patients is of primary
307 importance. Given the prognostic importance of early postoperative 8am cortisol
308 concentrations to establish CD remission and the residual probability of recurrence, the
309 desmopressin test may be of value for refining this prediction, mostly in those patients with
310 definitive CI. Contrary to our previous study that used an admitted criterion of CI, (early post-
311 operative 8am cortisol < 138 nmol/L (4)), various combinations of criteria, sometimes
312 debatable, have been used in previous studies that could have resulted in the erroneous
313 inclusion of eucortisolic patients, e.g. patients at a higher risk of recurrence, in the remission
314 group.

315 Elsewhere it has been shown that the responsiveness to the desmopressin test can be an early
316 biomarker of recurrence (22, 27, 28), a use for a specific purpose that is different from the
317 scope of our study. However, with regard to the issue of the timing of the test *e.g.* during the
318 transient phase of CI, is important to differentiate between the predictive value for recurrence
319 and the early diagnosis of recurrence. Delayed timing of the test, by up to 6 months post-
320 operatively in several studies, and analysis of the baseline cortisol during the test in some of
321 these (21, 23), suggests that a number of patients had already recovered from CI, a situation
322 that may cause some confusion between the predictive and diagnostic performances of the
323 test. Elsewhere, the criteria used to diagnose recurrence are lacking in some previously
324 published studies (19, 23, 24). It should be emphasized that all patients in our study, who
325 were diagnosed with recurrence, required additional treatment for Cushing's disease,
326 information that is rarely provided in published studies, and that strengthens this diagnosis.
327 As the rationale of the post-operative desmopressin test is to demonstrate the persistent
328 presence of a small amount of adenomatous remnant, selection of patients harbouring
329 adenomatous corticotrophs responsive to the test is another important pre-requisite. Inclusion
330 of non-responding patients during the active phase of CD is likely to limit the predictive

331 performance of the test. As opposed to some studies that do not report the results of the
332 preoperative test (6, 20, 23), in this study we carefully selected our patients based on the
333 results of the preoperative desmopressin test after establishing our own criteria for
334 responsiveness using appropriate control groups. Interestingly, our criterion of an absolute
335 ACTH increase over baseline ≥ 27 pg/mL, is in accordance with the few previously published
336 independent studies on DT in Cushing's disease (29, 30, 31). Therefore, a strength of our
337 study is to satisfy the various crucial methodological criteria to evaluate the predictive
338 performance of the test for recurrence of CD in patients with clear and confirmed early post-
339 operative CI. Lastly, another strength of our study is the size of the cohort in comparison with
340 previously published studies, with one exception (18). This is a necessary condition if a
341 significant number of recurrences are to be observed and also to provide adequate statistical
342 power for the study. In this regard, it is interesting to note that 18% of our patients with CI
343 experienced a recurrence of CD within a median of 30 months, which is comparable to
344 published reports of patients with CI (9, 10, 24).

345 Some authors have advocated the analysis of ACTH concentrations, during the test, rather
346 than cortisol concentrations. Indeed, baseline and peak ACTH during the test were also
347 associated with the recurrence of CD, but these associations were inconsistent and dependent
348 on confounding variables, particularly when we adjusted for cortisol peak or baseline ACTH
349 during the desmopressin test (Table 2). Compared to the immediate post-operative 8am
350 cortisol, the ACTH results during the desmopressin test did not provide any incremental
351 prognostic improvement for the prediction of CD recurrence (Figure 2).

352 Furthermore, the use of pre-operative diagnostic criteria for the ACTH response, a situation in
353 which the probability of response is around 80%, to analyse the post-operative test, a very
354 different situation characterized by dramatically decreased ACTH concentrations and a
355 probability of recurrence of the disease around 15%, seems inappropriate (18). Other authors,

356 while acknowledging the pertinence of a threshold based on cortisol, recommend the
357 preferential use of absolute increments in cortisol concentrations (21, 24). As previously
358 reported by Romanholi *et al* (24) and Vassiliadi *et al*, (21), in this study we also found that the
359 cortisol increment was associated with the recurrence of CD.

360 In our study, the cortisol increment during the test was associated with CD recurrence in the
361 principal multi-adjusted model (age, sex, and early 8am cortisol), but such an association was
362 no longer present after further adjustment for baseline cortisol under the test. Moreover, the
363 cortisol increment did not give a significantly increased value in the prediction of CD
364 recurrence. On the other hand, the association between the peak of cortisol and CD recurrence
365 was independent of a range wide of confounding variables and was reliable in other
366 sensitivity analyses. The prognostic analyses highlighted that the cortisol peak during the test
367 showed the best performance in prediction of future recurrence. The cortisol peak was a
368 valuable prognostic biomarker not only as a continuous variable, but also as a binary one,
369 especially using of threshold value of 100 nmol/L, which was associated with a more than 8-
370 fold increased risk of CD recurrence.

371 Differences in hormone assays may also account for the differences between our study and
372 those of Romanholi *et al* (24) and Vassiliadi *et al* (21) in analysing the respective prognostic
373 value of the peak and cortisol increments. However, it should also be noted that, consistent
374 with a situation of CI, around 15% of patients in our series had undetectable plasma cortisol.
375 In this situation, the limit of detection of the assay was used for calculation purposes.

376 However, and contrary to the use of the cortisol peak, this widely accepted procedure induces
377 some bias in the calculation of the true cortisol increment and thus the evaluation of the
378 prognostic value.

379 Some published studies have suggested that a more stringent criterion for corticotropic
380 insufficiency (e.g. post-operative plasma cortisol concentration < 50 nmol/L) is required to
381 predict long-term remission (3, 6, 8, 32, 33). We also observed that, within the spectrum of
382 CI, the lowest post-operative cortisol concentrations were associated with a lower rate of
383 recurrence. However, in our study, a 50 nmol/L cut-off for 8 am cortisol measured within 7
384 days following surgery showed limited sensitivity and specificity of 56% and 69%
385 respectively, in predicting recurrence. Moreover, using ROC analysis, the predictive value of
386 early post-operative cortisol concentration within the range of CI (≤ 50 nmol/L vs > 50
387 nmol/L and < 138 nmol/L), was not predictive of the recurrence of CD, while a cortisol peak
388 > 100 nmol/l (versus ≤ 100 nmol/L) was robustly associated with an 8-fold increased risk of
389 recurrence of CD. An hypothesis based on underlying pathophysiology may explain the better
390 prognostic performance of the desmopressin test as compared to cortisol concentrations, since
391 these two investigations assess very different processes: while cortisol concentrations reflect
392 the spontaneous activity of non-adenomatous corticotrophs, the DT directly assesses the
393 presence of residual adenomatous corticotrophs. In patients who exhibit recurrence despite
394 early post-operative CI, it is speculated that microscopic residual adenomatous corticotrophs
395 persist at the adenoma margin, but that their amount immediately following surgery is
396 insufficient to induce hypercortisolism. While the DT in our study and in other series
397 demonstrates its ability to identify a small amount of adenomatous corticotrophs, it is
398 conceivable that the level of post-operative cortisol and the intensity of post-operative CI may
399 be influenced by a number of factors that are not involved in recurrence, such as the intensity
400 and duration of previous hypercortisolism as well as the individual sensitivity of normal
401 pituitary tissue to cortisol excess. An evident limitation of the DT is its ability to detect only
402 residual adenomatous cells that aberrantly express the V2R (15), emphasizing the importance
403 of pre-operative testing. Moreover, and despite its significant prognostic value, it should be

404 emphasized that the prediction of recurrence is still a probabilistic approach, since 18% of our
405 patients who had recurrence did not exhibit an early response to the DT. Previous studies
406 have shown that when desmopressin is injected in combination with CRH, larger ACTH and
407 cortisol responses are seen in patients with CD than when each of the peptides is injected
408 alone (34). Therefore, further studies are required to assess if the predictive value of the
409 desmopressin test for recurrence is improved by a combined CRH-Desmopressin test.

410 Apart from the methodological merits detailed above, our study does have some limitations.
411 Despite being performed in consecutive patients, the study suffers from its retrospective
412 design and inherent selection bias. However, our two study groups were well balanced; all
413 participants were in CI according to a robust definition, the results of the pre-operative
414 desmopressin test were similar between groups; and the characteristics of participants at the
415 time of study inclusion were comparable across groups, except for age. It is also noteworthy
416 that our findings remained significant after adjustment for age. The duration of the study is
417 also a limitation and we cannot exclude that some of the patients classified as in remission
418 will experience a later recurrence, resulting in an overestimation of the positive predictive
419 value of the test. However, it should be noted that the duration of the follow-up was similar
420 between patients who had recurrence and those in persistent remission, and that the duration
421 of follow-up in our study (61 (29, 91) months) is among the longest of those published (23).
422 Re-evaluation of our conclusion after an extended follow-up will be important. Finally, as is
423 the case in any study, the thresholds for cortisol and ACTH concentrations quoted here may
424 not be strictly applicable to other centres using different assays.

425 In conclusion, the search for the best strategy for follow-up of patients operated for CD is a
426 major study topic as listed in the “future directions and recommended research” in the clinical
427 practice guidelines of the Endocrine Society for the treatment of Cushing’s syndrome (4). In
428 this perspective, identification of early prognostic markers that can stratify patients according

429 to their long-term risk of recurrence may help to refine the planning of postoperative
430 management and the follow-up of patients in remission. Our study demonstrates that the DT is
431 able to identify a subgroup of patients within patients with CI who are at high risk of
432 recurrence and is an independent and significantly better prognostic biomarker than early
433 post-operative cortisol concentrations. Long-term recurrence may still occur in patients with
434 cortisol peak values not exceeding 100 nmol/L during the test, a finding that supports the
435 recommendation of life-long follow-up in all patients operated for CD. However, due to
436 reduced probability of recurrence, the frequency and intensity of follow-up procedures may be
437 reduced in patients with CI who show a disappearance of the response to the DT, thereby
438 reducing the cost of superfluous investigations and the stress of excessive follow-up in
439 susceptible individuals. Conversely, closer follow-up may be required when the persistence of
440 a small residual amount of adenomatous cells is suggested by results of the DT. Whether
441 follow-up investigations in the two groups of patients could differ, (LNSC in responsive
442 patients) (12, 28) or repetition of the desmopressin test in patients with a negative post-
443 operative test (27, 35, 36), remains to be studied.

444444

445 **DECLARATION OF INTEREST**

446 The authors have no conflict of interest to declare concerning this work.

447447

448 **FUNDINGS**

449 This work did not receive any specific grant from any funding agency in the public
450 commercial, not-for-profit sector or industry

451 REFERENCES

- 452 1. Feelders RA, Pulgar SJ, Kempel A, Pereira AM. The burden of Cushing's disease: clinical and
453 health-related quality of life aspects. *Eur J Endocrinol.* 2012 Sep;167(3):311–26.
- 454 2. Van Haalen FM, Broersen LHA, Jorgensen JO, Pereira AM, Dekkers OM. Management of
455 endocrine disease: Mortality remains increased in Cushing's disease despite biochemical remission: a
456 systematic review and meta-analysis. *Eur J Endocrinol.* 2015 Apr;172(4):R143–9.
- 457 3. Petersenn S, Beckers A, Ferone D, van der Lely A, Bollerslev J, Boscaro M, et al. Therapy of
458 endocrine disease: outcomes in patients with Cushing's disease undergoing transsphenoidal surgery:
459 systematic review assessing criteria used to define remission and recurrence. *Eur J Endocrinol.* 2015
460 Jun;172(6):R227–39.
- 461 4. Nieman LK, Biller BMK, Findling JW, Murad MH, Newell-Price J, Savage MO, et al.
462 Treatment of Cushing's Syndrome: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin*
463 *Endocrinol Metab.* 2015 Aug;100(8):2807–31.
- 464 5. Tritos NA, Biller BMK, Swearingen B. Management of Cushing disease. *Nat Rev Endocrinol.*
465 2011 May;7(5):279–89.
- 466 6. Le Marc'hadour P, Muller M, Albarel F, Coulon A-L, Morange I, Martinie M, et al.
467 Postoperative follow-up of Cushing's disease using cortisol, desmopressin and coupled
468 dexamethasone-desmopressin tests: a head-to-head comparison. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2015
469 Aug;83(2):216–22.
- 470 7. Pereira AM, van Aken MO, van Dulken H, Schutte PJ, Biermasz NR, Smit JWA, et al. Long-
471 term predictive value of postsurgical cortisol concentrations for cure and risk of recurrence in
472 Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 Dec;88(12):5858–64.
- 473 8. Patil CG, Prevedello DM, Lad SP, Vance ML, Thorner MO, Katznelson L, et al. Late
474 recurrences of Cushing's disease after initial successful transsphenoidal surgery. *J Clin Endocrinol*

475 Metab. 2008 Feb;93(2):358–62.

476 9. Yap LB, Turner HE, Adams CBT, Wass J a. H. Undetectable postoperative cortisol does not
477 always predict long-term remission in Cushing's disease: a single centre audit. Clin Endocrinol (Oxf).
478 2002 Jan;56(1):25–31.

479 10. Chandler WF, Barkan AL, Hollon T, Sakharova A, Sack J, Brahma B, et al. Outcome of
480 Transsphenoidal Surgery for Cushing Disease: A Single-Center Experience Over 32 Years.
481 Neurosurgery. 2016 Feb;78(2):216–23.

482 11. Biller BMK, Grossman AB, Stewart PM, Melmed S, Bertagna X, Bertherat J, et al. Treatment
483 of adrenocorticotropin-dependent Cushing's syndrome: a consensus statement. J Clin Endocrinol
484 Metab. 2008 Jul;93(7):2454–62.

485 12. Amlashi FG, Swearingen B, Faje AT, Nachtigall LB, Miller KK, Klibanski A, et al. Accuracy
486 of Late-Night Salivary Cortisol in Evaluating Postoperative Remission and Recurrence in Cushing's
487 Disease. J Clin Endocrinol Metab. 2015 Oct 1;100(10):3770–7.

488 13. Lindsay JR, Oldfield EH, Stratakis CA, Nieman LK. The Postoperative Basal Cortisol and
489 CRH Tests for Prediction of Long-Term Remission from Cushing's Disease after Transsphenoidal
490 Surgery. J Clin Endocrinol Metab. 2011 Jul 1;96(7):2057–64.

491 14. Alwani RA, de Herder WW, van Aken MO, van den Berge JH, Delwel EJ, Dallenga AHG, et
492 al. Biochemical predictors of outcome of pituitary surgery for Cushing's disease. Neuroendocrinology.
493 2010;91(2):169–78.

494 15. Wang F-F, Tang K-T, Yen Y-S, Ho DM-T, Yang A-H, Huang C-I, et al. Plasma
495 corticotrophin response to desmopressin in patients with Cushing's disease correlates with the
496 expression of vasopressin receptor 2, but not with that of vasopressin receptor 1 or 3, in their pituitary
497 tumours. Clin Endocrinol (Oxf). 2012 Feb;76(2):253–63.

498 16. Terzolo M, Reimondo G, Ali A, Borretta G, Cesario F, Pia A, et al. The limited value of the
499 desmopressin test in the diagnostic approach to Cushing's syndrome. Clin Endocrinol (Oxf). 2001

500 May;54(5):609–16.

501 17. Vassiliadi DA, Tsagarakis S. DIAGNOSIS OF ENDOCRINE DISEASE: The role of the
502 desmopressin test in the diagnosis and follow-up of Cushing's syndrome. *Eur J Endocrinol.* 2018
503 May;178(5):R201–14.

504 18. Losa M, Bianchi R, Barzaghi R, Giovanelli M, Mortini P. Persistent adrenocorticotropin
505 response to desmopressin in the early postoperative period predicts recurrence of Cushing's disease. *J*
506 *Clin Endocrinol Metab.* 2009 Sep;94(9):3322–8.

507 19. Colombo P, Dall'Asta C, Barbetta L, Re T, Passini E, Faglia G, et al. Usefulness of the
508 desmopressin test in the postoperative evaluation of patients with Cushing's disease. *Eur J Endocrinol.*
509 2000 Aug;143(2):227–34.

510 20. Valero R, Vallette-Kasic S, Conte-Devolx B, Jaquet P, Brue T. The desmopressin test as a
511 predictive factor of outcome after pituitary surgery for Cushing's disease. *Eur J Endocrinol.* 2004 Dec
512 1;151(6):727–33.

513 21. Vassiliadi DA, Balomenaki M, Asimakopoulou A, Botoula E, Tzanela M, Tsagarakis S. The
514 Desmopressin Test Predicts Better Than Basal Cortisol the Long-Term Surgical Outcome of
515 Cushing's Disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101(12):4878–85.

516 22. Ambrogio AG, Andrioli M, De Martin M, Cavagnini F, Pecori Giraldi F. Usefulness of
517 desmopressin testing to predict relapse during long-term follow-up in patients in remission from
518 Cushing's disease. *Endocr Connect.* 2017 Nov;6(8):791–9.

519 23. Barbot M, Albiger N, Koutroumpi S, Ceccato F, Frigo AC, Manara R, et al. Predicting late
520 recurrence in surgically treated patients with Cushing's disease. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2013
521 Sep;79(3):394–401.

522 24. Romanholi DJPC, Machado MC, Pereira CC, Danilovic DS, Pereira MAA, Cescato VAS, et
523 al. Role for postoperative cortisol response to desmopressin in predicting the risk for recurrent
524 Cushing's disease. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2008 Jul;69(1):117–22.

- 525 25. Nieman LK, Biller BMK, Findling JW, Newell-Price J, Savage MO, Stewart PM, et al. The
526 diagnosis of Cushing's syndrome: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol*
527 *Metab.* 2008 May;93(5):1526–40.
- 528 26. Losa M, Mortini P, Dylgjeri S, Barzaghi R, Franzin A, Mandelli C, et al. Desmopressin
529 stimulation test before and after pituitary surgery in patients with Cushing's disease. *Clin Endocrinol*
530 *(Oxf)*. 2001 Jul;55(1):61–8.
- 531 27. Bou Khalil R, Baudry C, Guignat L, Carrasco C, Guibourdenche J, Gaillard S, et al.
532 Sequential hormonal changes in 21 patients with recurrent Cushing's disease after successful pituitary
533 surgery. *Eur J Endocrinol.* 2011 Nov;165(5):729–37.
- 534 28. Danet-Lamasou M, Asselineau J, Perez P, Vivot A, Nunes M-L, Loiseau H, et al. Accuracy of
535 repeated measurements of late-night salivary cortisol to screen for early-stage recurrence of Cushing's
536 disease following pituitary surgery. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015 Feb;82(2):260–6.
- 537 29. Tirabassi G, Faloia E, Papa R, Furlani G, Boscaro M, Arnaldi G. Use of the desmopressin test
538 in the differential diagnosis of pseudo-Cushing state from Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab.*
539 2010 Mar;95(3):1115–22.
- 540 30. Pecori Giraldi F, Pivonello R, Ambrogio AG, De Martino MC, De Martin M, Scacchi M, et al.
541 The dexamethasone-suppressed corticotropin-releasing hormone stimulation test and the desmopressin
542 test to distinguish Cushing's syndrome from pseudo-Cushing's states. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2007
543 Feb;66(2):251–7.
- 544 31. Findling JW, Raff H. DIAGNOSIS OF ENDOCRINE DISEASE: Differentiation of
545 pathologic/neoplastic hypercortisolism (Cushing's syndrome) from physiologic/non-neoplastic
546 hypercortisolism (formerly known as pseudo-Cushing's syndrome). *Eur J Endocrinol.* 2017
547 May;176(5):R205–16.
- 548 32. Ironside N, Chatain G, Asuzu D, Benzo S, Lodish M, Sharma S, et al. Earlier post-operative
549 hypocortisolemia may predict durable remission from Cushing's disease. *Eur J Endocrinol.* 2018

550 Mar;178(3):255–63.

551 33. Trainer PJ, Lawrie HS, Verhelst J, Howlett TA, Lowe DG, Grossman AB, et al.

552 Transsphenoidal resection in Cushing's disease: undetectable serum cortisol as the definition of

553 successful treatment. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1993 Jan;38(1):73–8.

554 34. Newell-Price J, Perry L, Medbak S, Monson J, Savage M, Besser M, et al. A combined test

555 using desmopressin and corticotropin-releasing hormone in the differential diagnosis of Cushing's

556 syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997 Jan;82(1):176–81.

557 35. Dall'Asta C, Barbetta L, Bonavina L, Beck-Peccoz P, Ambrosi B. Recurrence of Cushing's

558 disease preceded by the reappearance of ACTH and cortisol responses to desmopressin test. *Pituitary*.

559 2004;7(3):183–8.

560 36. Ambrosi B, Malavazos AE, Passeri E, Dall'Asta C. Desmopressin test may predict the risk of

561 recurrence in Cushing's disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2009 May;70(5):811.

562

563

564 Legends of Tables and Figures**565 Table 1. Characteristics of participants according to CD recurrence status**

566 Categorical variables are expressed as frequency (percentage), and continuous variables as median
567 (25th, 75th percentiles), except for age, presented as mean±SD. Comparisons were performed using
568 Chi-2, Wilcoxon, or ANOVA test. P-value<0.05 was considered as significant.

569 CD: Cushing's disease; ULN: upper limit of normal range.

570570

**571 Table 2. Analysis of the post-operative desmopressin test according to CD recurrence
572 status**

573 Data presented as mean (95% confidence interval). Comparisons performed using linear regression
574 analyses in univariate and multivariate models. *Adjustment for gender, age at diagnosis of CD
575 (Cushing's disease) and early post-operative 8am cortisol (model 1). Cortisol and ACTH values were
576 log-transformed for generating p-values. P-value < 0.05 was considered as significant

577577

**578 Table 3. Comparison of the prognostic values between the post-operative desmopressin
579 test and the early post-operative 8am cortisol for the prediction of CD recurrence**

580 Area under the curve (AUC) and 95% confidence interval computed using the Receiver Operator
581 Characteristic (ROC) analyses comparing the desmopressin test versus the early post-operative 8am
582 cortisol as a reference standard (Ref). P<0.05 considered as significant.

583 CD: Cushing's disease.

584584

585 Table 4. Sensitivity and specificity of plasma concentrations of cortisol for the prediction
586 of CD recurrence

587 Cut-offs, and related sensitivities and specificities, were computed using the Receiver Operator

588 Characteristic analyses.

589 CD: Cushing's disease

590590

591 Figure 1. Flow chart

592 CD : Cushing's Disease; TSS : Transsphenoidal Surgery; CI : Corticotropin insufficiency; DT :

593 Desmopressin test

594594

595 Figure 2. Receiver operator characteristic curves comparing the prediction of CD
596 recurrence during the desmopressin test (dashed line) versus the early post-operative
597 8am cortisol (solid line).

598 A: Peak of cortisol; B: Peak of ACTH; C: Increment of cortisol; D: Increment of ACTH

599 CD: Cushing's disease.

600600

601 Figure 3. Receiver operator characteristic curves comparing the prediction of CD 602
recurrence according to peak of cortisol concentration during the desmopressin test 603
(dashed line) versus the early post-operative 8am cortisol (solid line).

604 Peak of cortisol during the desmopressin test (>100 versus ≤ 100 nmol/L) and early post-operative 8am

605 cortisol test (>50 versus ≤ 50 nmol/L) were considered as categorical variables.

606 A: Peak of cortisol; B: Peak of ACTH; C: Increment of cortisol;; D: Increment of ACTH

607 CD: Cushing's disease.

608

Manuscript Review

Table 1. Characteristics of participants according to CD recurrence status

	All	Remission	Recurrence	P value
N (%)	95	78 (82)	17 (18)	
Age at diagnosis (years)	41.0 ± 13.9	42.5 ± 13.6	34.5 ± 13.9	0.03
Women	78 (82)	63 (81)	15 (88)	0.73
Negative MRI	20 (18)	22 (21)	4 (23)	0.75
Baseline 24h UFC (x ULN)	2.0 (1.3, 3.5)	2.0 (1.2, 3.1)	2.0 (1.4, 4.5)	0.61
Baseline ACTH (pg/mL)	59 (39, 81)	59 (38, 80)	60 (42, 84)	0.59
Duration of follow-up (months)	61 (29, 91)	54 (24, 91)	82 (48, 106)	0.13

Table 2. Analysis of the post-operative desmopressin test according to CD recurrence status

		Univariate model			Multivariate model*		
		Remission	Recurrence	P	Remission	Recurrence	p
Cortisol concentration during the desmopressin test (nmol/L)	Baseline	66 (52 - 81)	95 (64 - 126)	0.01	72 (58 - 86)	91 (61 - 121)	0.08
	Peak	121 (79-164)	327 (237 - 417)	0.0001	138 (93 - 183)	313 (221 - 406)	0.001
	Increment	56 (22 - 90)	208 (136 - 280)	0.005	62 (28 - 96)	196 (118 - 275)	0.01
ACTH concentration during the desmopressin test (pg/mL)	Baseline	11.3 (9.1 - 13.5)	19.0 (14.4 - 23.7)	0.008	10.6 (8.3 - 13.0)	19.0 (14.1 - 23.8)	0.02
	Peak	21.5 (14.7 - 28.4)	42.2 (27.9 - 56.6)	0.001	22.5 (15.0 - 30.0)	41.1 (25.7 - 56.5)	0.01
	Increment	10.3	23.6	0.04	11.1	21.9	0.32

		(4.6 - 16.0)	(11.6 - 35.6)		(5.3 - 16.9)	(8.7 - 35.1)	
--	--	--------------	---------------	--	--------------	--------------	--

For Review Only

Table 3. Comparison of the prognostic values between the post-operative desmopressin test and the early post-operative 8am cortisol for the prediction of CD recurrence

		AUC (95% confidence interval)	P value
Early post-operative 8am cortisol		0.655 (0.505 - 0.804)	Ref.
Cortisol concentration during the desmopressin test	Baseline	0.709 (0.571 – 0.848)	0.26
	Peak	0.786 (0.670 - 0.902)	0.04
	Increment	0.793 (0.672 - 0.914)	0.07
ACTH concentration during the desmopressin test	Baseline	0.701 (0.544 – 0.859)	0.61
	Peak	0.740 (0.608 - 0.872)	0.24
	Increment	0.726 (0.580 - 0.871)	0.44

Table 4. Sensitivity and specificity of plasma concentrations of cortisol for the prediction of CD recurrence

Early post-operative 8am cortisol			Peak of cortisol concentration during the desmopressin test		
Cut-off (nmol/L)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Cut-off (nmol/L)	Sensitivity (%)	Specificity (%)
>20	100	13	>27	100	19
>30	75	43	>55	88	53
>50	56	69	>100	88	64
>70	31	83	>150	58	73
>100	31	95	>220	47	80
>120	13	96	≥500	24	95

Figure 1. Flow chart

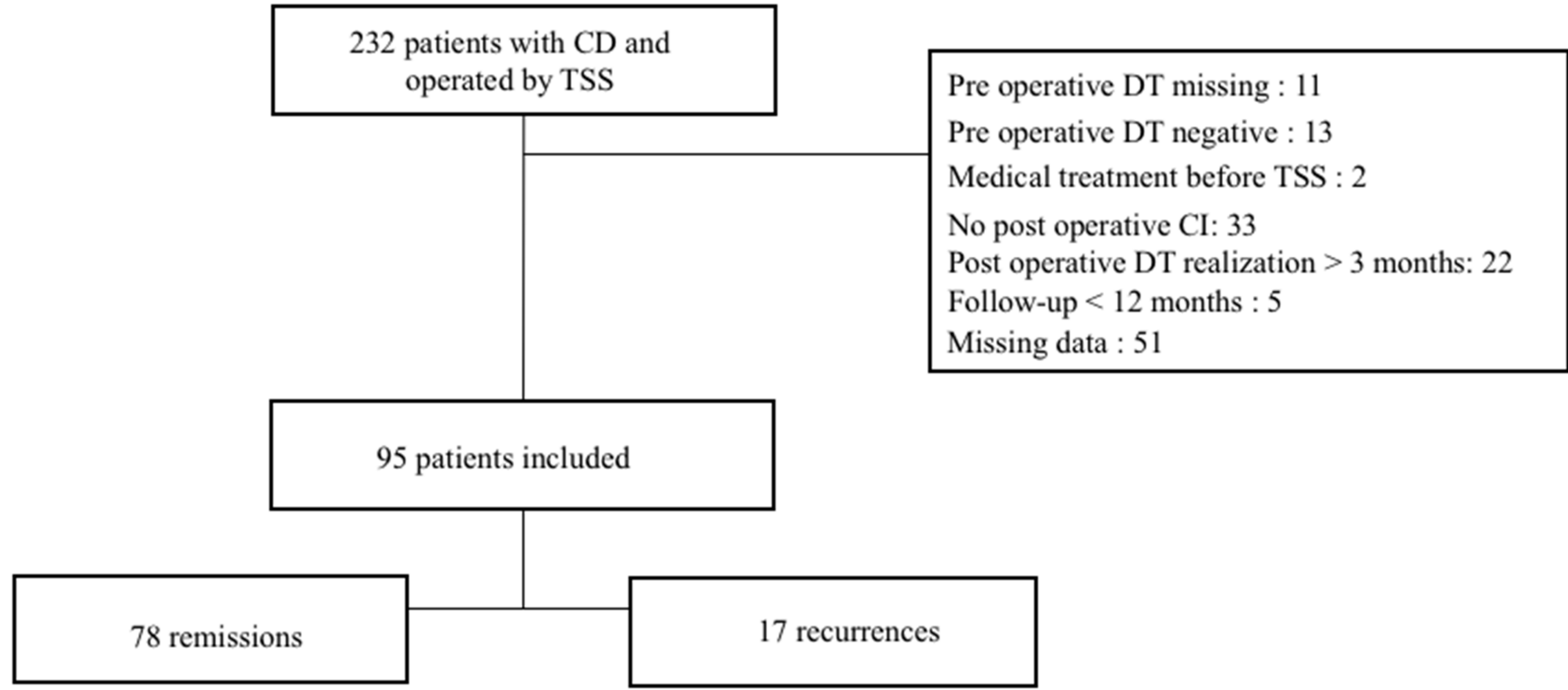


Figure 2. Receiver operator characteristic curves comparing the prediction of CD recurrence during the desmopressin test (dashed line) versus the early post-operative 8am cortisol (solid line).

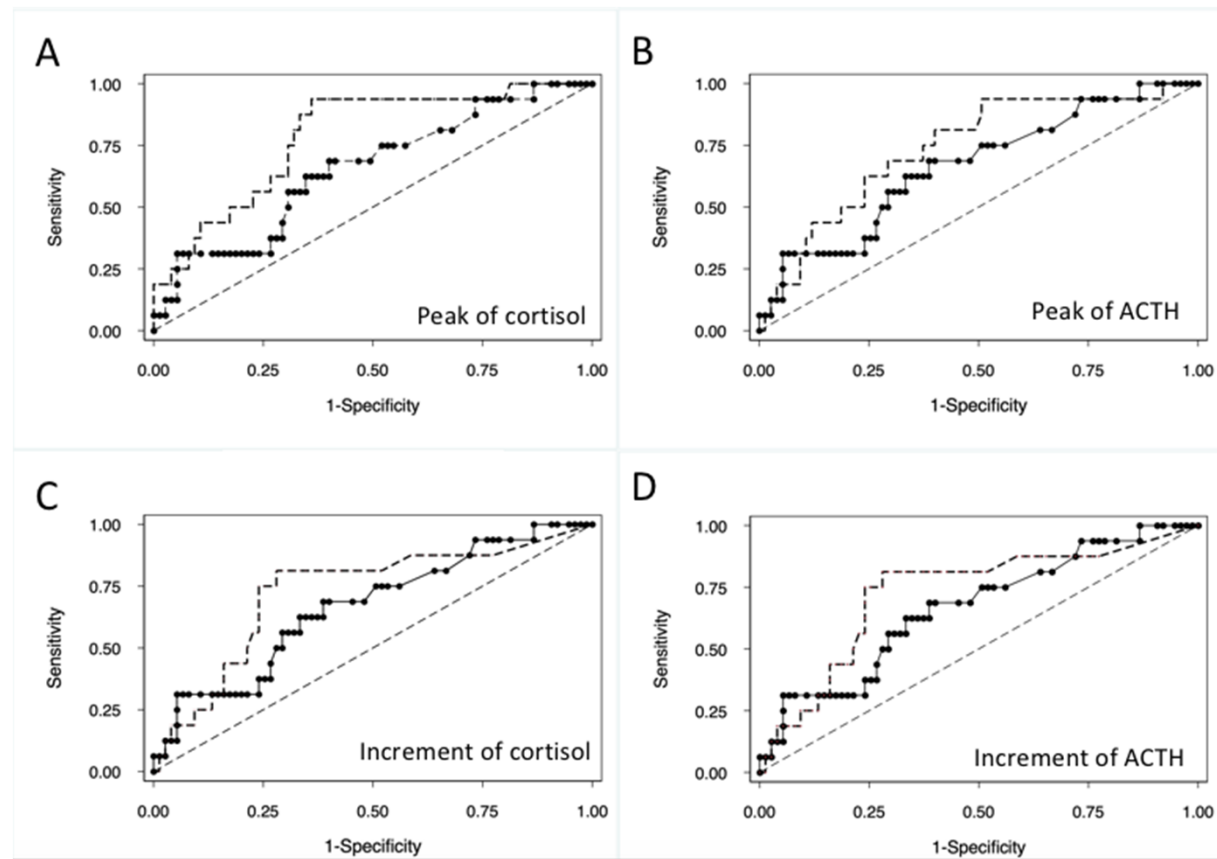
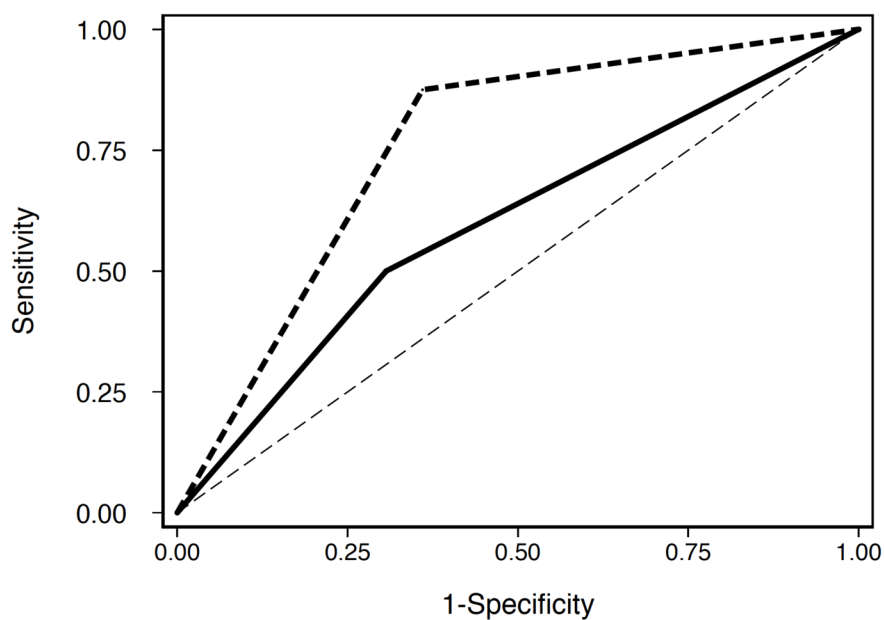


Figure 3. Receiver operator characteristic curves comparing the prediction of CD recurrence according to peak of cortisol concentration during the desmopressin test (dashed line) versus the early post-operative 8am cortisol (solid line).



Supplemental Table 1. Pre-operative desmopressin test according to CD recurrence status

		All	Remission	Recurrence	P
Cortisol concentration during the desmopressin test (nmol/L)	Baseline	529 (400, 662)	526 (394, 644)	530 (454, 733)	0.54
	Peak	826 (688, 1101)	824 (680, 1114)	842 (705, 1102)	0.93
	Increment	320 (181, 415)	319 (208, 410)	370 (127, 434)	0.71
ACTH concentration during the desmopressin test (pg/mL)	Baseline	45 (32, 75)	45 (32, 74)	45 (36, 76)	0.69
	Peak	132 (85, 204)	144 (80, 237)	125 (102, 154)	0.54
	Increment	73 (35, 143)	74 (31, 158)	73 (42, 103)	0.55

For Review Only

Supplemental Table 2. Post-operative desmopressin test according to CD recurrence status after adjustment for baseline concentrations of cortisol or ACTH during the test

		Remission	Recurrence	p
Cortisol concentration during the desmopressin test (nmol/L)	Peak	136 (102 – 171)	240 (159 – 321)	0.01
	Increment	65 (31 – 99)	174 (94 – 254)	0.05
ACTH concentration during the desmopressin test (pg/mL)	Peak	23.9 (17.9 – 29.9)	32.6 (18.6 – 46.6)	0.22
	Increment	11.9 (6.3 – 17.5)	18.0 (4.9 – 31.2)	0.63

Supplemental Table 1. Pre-operative desmopressin test according to CD recurrence status

Data presented as median (25th, 75th percentiles). Comparisons performed using Wilcoxon test. P-value < 0.05 was considered as significant.

CD: Cushing's disease.

Supplemental Table 2. Post-operative desmopressin test according to CD recurrence status after adjustment for baseline concentrations of cortisol or ACTH during the test

Data presented as mean (95% confidence interval). Comparisons performed using linear regression analyses adjusted as in model 1 (gender, age at diagnosis of Cushing's disease (CD) and early post-operative 8am cortisol) plus baseline cortisol (for cortisol analyses) or baseline ACTH (for ACTH analyses) during the desmopressin test. Cortisol and ACTH values were log-transformed for generating p-values. P-value < 0.05 was considered as significant.

Supplemental Methods

For Bordeaux :

Before 06/05/2010: Cortisol concentrations were determined by competitive RIA (Gamma Coat; Dia Sorin, Stillwater, MN). The intra assay coefficients of variation were 8.3 and 8.3%, respectively, at a concentration of 130 and 650 nmol/L. The inter assay coefficients of variation were 7.0, 4.6 and 6.0, respectively, at a concentration of 94, 571, and 962 nmol/L. The detection limit was 27 nmol/L.

After 06/05/2010: Cortisol concentrations were determined by automatic system Unicel Dxi (Beckman Coulter). The intra assay coefficients of variation were 6.0, 6.0 and 4.0 respectively, at a concentration of 72, 454 and 819 nmol/L. The inter assay coefficients of variation were 9.0, 4.0 and 5, respectively, at a concentration of 68, 429 and 788 nmol/L. The detection limit was 15 nmol/L.

ACTH concentrations were determined by Immunoradiometric assay (ACTH IRMA, B.R.A.H.M.S., Germany). The detection limit was 5.4 pg/mL. The intra assay coefficients of variation were 4 and 4.2 % at a concentration of 7.7 and 73 pmol/L, respectively. ACTH normal range was 9.1 at 59 pg/mL at 8h00.

Before 18/02/2013: UFC concentrations were determined by radioimmunoassay Spectria CORTISOL RIA (IDS France), with a normal range between 20 to 90 µg/24h.

After 18/02/2013: UFC concentrations were determined by mass spectroscopy, with normal range between 10 and 60 µg/24h.

For Kremlin Bicêtre :

Cortisol concentrations were determined by a solid-phase, competitive chemiluminescent enzyme immunoassay (Siemens Healthcare Diagnostics Products Llanberis, UK). The intra- and inter-assay coefficients of variation were 6.1% and 8.2%, respectively, at a concentration of 33 ng/mL (91 nmol/L), and 5.3% and 7.2% at a concentration of 180 ng/mL (496 nmol/L). The detection limit was 10 ng/mL (28 nmol/L). Normal ranges were: 90 à 230 ng/mL, for samples taken at 8h00.

ACTH concentrations were determined by a solid-phase, two-site sequential chemiluminescent immunometric assay (Siemens Healthcare Diagnostics Products Llanberis, UK). The intra- and inter-assay coefficients of variation were 4.6% and 5%, respectively, at a concentration of 20 pg/mL (4.4 pmol/L), and 3.4% and 4.8% at a concentration of 64 pg/mL (14.2 pmol/L). The detection limit was 5 pg/mL (1.1 pmol/L). Normal ranges were: 10 à 50 pg/mL, for samples taken at 8h00.

Before March 2011, UFC concentrations were determined, after dichloromethane extraction, by a radioimmunoassay method using a polyclonal antibody (Orion Diagnostica, Spectria, Espoo, Finland). The intra- and inter-assay coefficients of variation were 4.5% and 5.5%, respectively, at a concentration 22 µg/L (62 nmol/L), and 4.2% and 4.3% at a concentration of 269 µg/L (743 nmol/L). The detection limit was 5 µg/L (14 nmol/L).

After March 2011, UFC concentrations were determined, after dichloromethane extraction by a solid-phase, using competitive chemiluminescent enzyme immunoassay (Siemens Healthcare Diagnostics Products Llanberis, UK). The intra- and inter-assay coefficients of variation were 8.1% and 10.1%, respectively, at a concentration of 39 µg/L (108 nmol/L), and 7.9% and 10.2% at a concentration of 192 µg/L (529 nmol/L). The detection limit was 5 µg/L (14 nmol/L). Normal ranges: 16 to 80 µg/24 h

For Marseille :

Plasma ACTH and cortisol, and UFC were measured by commercial radioimmunoassay kits (Beckman-Coulter-Immunotech, Marseille, France).

ACTH concentrations were determined by radioimmunoassay assay (Beckman-Coulter-Immunotech, Marseille, France). The intra- and inter-assay coefficients of variation were 6.9–9.1%, and 6.2–9.6% respectively. The detection limit was 1,2 pg/mL.

Cortisol concentrations were determined by radioimmunoassay assay (Beckman-Coulter-Immunotech, Marseille, France). The intra- and inter-assay coefficients of variation were 2.8–5.1% and 5.3–9.2% respectively. The detection limit was 10 nmol/L.

UFC concentrations were determined by radioimmunoassay (Beckman-Coulter-Immunotech, Marseille, France).

PARTIE III – CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

La prédiction précoce de récurrence chez les patients opérés d'une maladie de Cushing est essentielle afin de limiter la durée d'évolution de l'hypercortisolisme récidivant, et prévenir des comorbidités associées. L'insuffisance corticotrope post opératoire, définie par une faible concentration de cortisol sérique matinale, est actuellement le marqueur le plus étudié associé à une diminution de ce risque. Néanmoins, les conclusions quant à la valeur prédictive de ce paramètre ne sont pas univoques au sein de la littérature. L'utilisation du test à la desmopressine comme marqueur précoce de récurrence de la maladie de Cushing a été étudiée dans moins de 10 séries. La persistance d'une réponse paradoxale au test à la desmopressine en post opératoire traduirait la présence d'un faible contingent adénomateux alors que le patient est considéré en rémission. L'ensemble des précédentes études s'est intéressé aux patients avec des définitions de rémission pouvant susciter débat, et des biais méthodologiques importants (délai de réalisation du test variable, absence de réalisation de test à la desmopressine pré-opératoire, durée de suivi faible).

L'objectif de ce travail de thèse était d'étudier les performances pronostiques de ce test réalisé précocement, pour des patients présentant une rémission post opératoire certaine. En effet, tous présentaient une insuffisance corticotrope post opératoire, définie par un cortisol à 8h <138 nmol/L. Après analyse des courbes ROC, nous avons démontré que le pic de cortisol au cours du test à la desmopressine présentait une meilleure valeur pronostique que le cortisol post opératoire immédiat dans la prédiction de la récurrence de la maladie de Cushing (AUC : 0.786 (0.670 - 0.902) pour le pic de cortisol vs 0.655 (0.505 - 0.804) pour le cortisol matinal post opératoire, $p= 0.04$). Particulièrement, un pic de cortisol > 100 nmol/L lors du test à la desmopressine était 8 fois plus associé au risque de récurrence ultérieure, vs un pic ≤ 100 nmol/L, odds ratio 8.30 (95% d'intervalle de confiance, 2.45 – 38.35), $p=0.0004$. L'ensemble des marqueurs du test à la desmopressine post opératoire (dont l'incrément absolu et le pic de cortisol et d'ACTH) étaient associés significativement au risque de récurrence, même après ajustement sur la valeur du cortisol post opératoire. Nous n'avons observé aucune interaction significative entre le cortisol post opératoire matinal, et la concentration de cortisol ou d'ACTH au cours des différents paramètres du test de la desmopressine (toutes les p -value pour les tests d'interaction > 0,05). Ainsi, nous démontrons pour la première fois l'indépendance de ces deux marqueurs.

Ce dernier résultat rejoint des considérations conceptuelles. En effet, ces deux paramètres évaluent des processus très différents : alors que la concentration de cortisol postopératoire

reflète l'activité spontanée de l'axe corticotrope sain, le test de la desmopressine évalue directement la présence de cellules corticotropes adénomateuses restantes.

Nos résultats doivent être confirmés par un suivi plus long des patients, puisque des récurrences peuvent survenir même 20 ans après la chirurgie. Des effectifs plus importants, notamment du nombre de patients ayant récidivé permettraient d'augmenter la puissance statistique de nos données. Des études complémentaires prospectives, bien que difficiles à mener compte tenu de la rareté de la maladie de Cushing et du faible nombre de récurrences, seraient nécessaires.

Dans cette population de patients en insuffisance corticotrope, les concentrations basales et stimulées de cortisol et d'ACTH par la desmopressine sont, comme attendues, faibles. Il serait intéressant de proposer d'optimiser les performances du test en sensibilisant la réponse à la desmopressine de ces rares cellules adénomateuses. La co-stimulation par le CRH et la desmopressine reste une piste d'étude clinique intéressante dans cette indication. L'équipe de Newell-Price a déjà évoqué une amélioration des performances diagnostiques par rapport au test au CRH standard de cette stimulation combinée, dans la question étiologique du syndrome de Cushing ACTH dépendant (57).

Grâce aux données de notre travail, il nous semble important de proposer une harmonisation du suivi des patients opérés d'une maladie de Cushing. Chez les patients présentant une réponse pré opératoire à la desmopressine, nous proposons la réalisation systématique du test de manière précoce, dès la première évaluation post opératoire lorsque la rémission immédiate est affirmée. Ses performances pronostiques sont démontrées dès les trois premiers mois post opératoire.

Lors du suivi de ces patients opérés, la répétition séquentielle du test à la desmopressine, particulièrement chez les patients non répondeurs dans l'évaluation précoce post opératoire, mérite d'être évaluée. L'étude de Bou Khalil *et al*, permet d'éclaircir l'histoire naturelle de la récurrence des maladies de Cushing(11). Il semble que la réapparition de la réponse paradoxale à la desmopressine précède les critères patents attestant d'une reprise de l'hypercortisolisme, tels que le cortisol salivaire nocturne, ou le CLU. Cette hypothèse mérite d'être confirmée, lors d'un suivi prospectif. Le rythme de ce suivi reste à définir.

La meilleure stratégie de suivi pour les patients opérés d'une maladie de Cushing est une problématique majeure. Elle est listée dans les « future directions and recommended research

» des guides de pratique clinique de l'Endocrine Society pour le traitement du syndrome de Cushing (3), afin d'affiner la planification de la gestion postopératoire et du suivi des patients en rémission. Notre étude démontre que le test à la desmopressine est capable d'identifier un sous-groupe de patients à haut risque de récurrence dans le groupe de patients présentant une insuffisance corticotrope post opératoire. Une récurrence néanmoins peut survenir chez les patients dont les valeurs maximales du cortisol ne dépassent pas 100 nmol/L au cours du test, ce qui confirme la recommandation d'un suivi à vie chez chaque patient opéré. Stratifier le risque de récurrence par l'utilisation de marqueurs précoces permettrait de personnaliser le rythme et la fréquence du suivi actuel de ces patients. En raison de la probabilité réduite de récurrence, le suivi pourrait donc être allégé pour les patients présentant une insuffisance corticotrope et une absence de réponse au test de la desmopressine, ce qui réduit le coût des évaluations superflues et le stress du suivi excessif dans cette situation. Au contraire, un suivi plus étroit peut être nécessaire lorsque les résultats du test à la desmopressine suggèrent la persistance d'une petite quantité résiduelle de cellules adénomateuses.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Clayton RN, Jones PW, Reulen RC, Stewart PM, Hassan-Smith ZK, Ntali G, et al. Mortality in patients with Cushing's disease more than 10 years after remission: a multicentre, multinational, retrospective cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2016;4(7):569–76.
2. Dekkers OM, Horváth-Puhó E, Jørgensen JOL, Cannegieter SC, Ehrenstein V, Vandembroucke JP, et al. Multisystem morbidity and mortality in Cushing's syndrome: a cohort study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013 Jun;98(6):2277–84.
3. Nieman LK, Biller BMK, 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 Aug;100(8):2807–31.
4. Burke CW, Adams CB, Esiri MM, Morris C, Bevan JS. Transsphenoidal surgery for Cushing's disease: does what is removed determine the endocrine outcome? *Clin Endocrinol (Oxf).* 1990 Oct;33(4):525–37.
5. Burch W. A survey of results with transsphenoidal surgery in Cushing's disease. *N Engl J Med.* 1983 Jan 13;308(2):103–4.
6. Pivonello R, De Leo M, Cozzolino A, Colao A. The Treatment of Cushing's Disease. *Endocr Rev.* 2015 Aug;36(4):385–486.
7. Kelly DF. Transsphenoidal surgery for Cushing's disease: a review of success rates, remission predictors, management of failed surgery, and Nelson's Syndrome. *Neurosurg Focus.* 2007;23(3):E5.
8. Petersenn S, Beckers A, Ferone D, van der Lely A, Bollerslev J, Boscaro M, et al. Therapy of endocrine disease: outcomes in patients with Cushing's disease undergoing transsphenoidal surgery: systematic review assessing criteria used to define remission and recurrence. *Eur J Endocrinol.* 2015 Jun;172(6):R227–39.
9. Bochicchio D, Losa M, Buchfelder M. Factors influencing the immediate and late outcome of Cushing's disease treated by transsphenoidal surgery: a retrospective study by the European Cushing's Disease Survey Group. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995 Nov;80(11):3114–20.
10. Boggan JE, Tyrrell JB, Wilson CB. Transsphenoidal microsurgical management of Cushing's disease. Report of 100 cases. *J Neurosurg.* 1983 Aug;59(2):195–200.
11. Bou Khalil R, Baudry C, Guignat L, Carrasco C, Guibourdenche J, Gaillard S, et al. Sequential hormonal changes in 21 patients with recurrent Cushing's disease after successful pituitary surgery. *Eur J Endocrinol.* 2011 Nov;165(5):729–37.
12. Chen JCT, Amar AP, Choi S, Singer P, Couldwell WT, Weiss MH. Transsphenoidal microsurgical treatment of Cushing disease: postoperative assessment of surgical efficacy by application of an overnight low-dose dexamethasone suppression test. *J Neurosurg.* 2003 May;98(5):967–73.

13. Flitsch J, Knappe UJ, Lüdecke DK. The use of postoperative ACTH levels as a marker for successful transsphenoidal microsurgery in Cushing's disease. *Zentralbl Neurochir.* 2003;64(1):6–11.
14. Hammer GD, Tyrrell JB, Lamborn KR, Applebury CB, Hannegan ET, Bell S, et al. Transsphenoidal microsurgery for Cushing's disease: initial outcome and long-term results. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 Dec;89(12):6348–57.
15. Invitti C, Pecori Giraldi F, Cavagnini F. Inferior petrosal sinus sampling in patients with Cushing's syndrome and contradictory responses to dynamic testing. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1999 Aug;51(2):255–7.
16. Jagannathan J, Smith R, DeVroom HL, Vortmeyer AO, Stratakis CA, Nieman LK, et al. Outcome of using the histological pseudocapsule as a surgical capsule in Cushing disease. *J Neurosurg.* 2009 Sep;111(3):531–9.
17. Jehle S, Walsh JE, Freda PU, Post KD. Selective use of bilateral inferior petrosal sinus sampling in patients with adrenocorticotropin-dependent Cushing's syndrome prior to transsphenoidal surgery. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 Dec;93(12):4624–32.
18. Knappe UJ, Lüdecke DK. Transnasal microsurgery in children and adolescents with Cushing's disease. *Neurosurgery.* 1996 Sep;39(3):484–92; discussion 492–3.
19. Nakane T, Kuwayama A, Watanabe M, Takahashi T, Kato T, Ichihara K, et al. Long term results of transsphenoidal adenomectomy in patients with Cushing's disease. *Neurosurgery.* 1987 Aug;21(2):218–22.
20. Patil CG, Prevedello DM, Lad SP, Vance ML, Thorner MO, Katznelson L, et al. Late recurrences of Cushing's disease after initial successful transsphenoidal surgery. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 Feb;93(2):358–62.
21. Prevedello DM, Pouratian N, Sherman J, Jane JA, Vance ML, Lopes MB, et al. Management of Cushing's disease: outcome in patients with microadenoma detected on pituitary magnetic resonance imaging. *J Neurosurg.* 2008 Oct;109(4):751–9.
22. Rollin G, Ferreira NP, Czepielewski MA. Prospective evaluation of transsphenoidal pituitary surgery in 108 patients with Cushing's disease. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2007 Nov;51(8):1355–61.
23. Swearingen B, Biller BM, Barker FG, Katznelson L, Grinspoon S, Klibanski A, et al. Long-term mortality after transsphenoidal surgery for Cushing disease. *Ann Intern Med.* 1999 May 18;130(10):821–4.
24. Valassi E, Biller BMK, Swearingen B, Pecori Giraldi F, Losa M, Mortini P, et al. Delayed remission after transsphenoidal surgery in patients with Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010 Feb;95(2):601–10.
25. Pereira AM, van Aken MO, van Dulken H, Schutte PJ, Biermasz NR, Smit JWA, et al. Long-term predictive value of postsurgical cortisol concentrations for cure and risk of recurrence in Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 Dec;88(12):5858–64.

26. Alexandraki KI, Kaltsas GA, Isidori AM, Storr HL, Afshar F, Sabin I, et al. Long-term remission and recurrence rates in Cushing's disease: predictive factors in a single-centre study. *Eur J Endocrinol*. 2013 Apr;168(4):639–48.
27. Ciric I, Zhao J-C, Du H, Findling JW, Molitch ME, Weiss RE, et al. Transsphenoidal surgery for Cushing disease: experience with 136 patients. *Neurosurgery*. 2012 Jan;70(1):70–80; discussion 80–1.
28. Sonino N, Zielesny M, Fava GA, Fallo F, Boscaro M. Risk factors and long-term outcome in pituitary-dependent Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996 Jul;81(7):2647–52.
29. Atkinson AB, Kennedy A, Wiggam MI, McCance DR, Sheridan B. Long-term remission rates after pituitary surgery for Cushing's disease: the need for long-term surveillance. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005 Nov;63(5):549–59.
30. Chandler WF, Barkan AL, Hollon T, Sakharova A, Sack J, Brahma B, et al. Outcome of Transsphenoidal Surgery for Cushing Disease: A Single-Center Experience Over 32 Years. *Neurosurgery*. 2016 Feb;78(2):216–23.
31. Yap LB, Turner HE, Adams CBT, Wass J a. H. Undetectable postoperative cortisol does not always predict long-term remission in Cushing's disease: a single centre audit. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2002 Jan;56(1):25–31.
32. Lindsay JR, Oldfield EH, Stratakis CA, Nieman LK. The Postoperative Basal Cortisol and CRH Tests for Prediction of Long-Term Remission from Cushing's Disease after Transsphenoidal Surgery. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011 Jul 1;96(7):2057–64.
33. Abdelmannan D, Chaiban J, Selman WR, Arafah BM. Recurrences of ACTH-secreting adenomas after pituitary adenectomy can be accurately predicted by perioperative measurements of plasma ACTH levels. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013 Apr;98(4):1458–65.
34. Amlashi FG, Swearingen B, Faje AT, Nachtigall LB, Miller KK, Klibanski A, et al. Accuracy of Late-Night Salivary Cortisol in Evaluating Postoperative Remission and Recurrence in Cushing's Disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015 Oct 1;100(10):3770–7.
35. Scott LV, Dinan TG. Vasopressin and the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function: implications for the pathophysiology of depression. *Life Sci*. 1998;62(22):1985–98.
36. Thibonnier M, Auzan C, Madhun Z, Wilkins P, Berti-Mattera L, Clauser E. Molecular cloning, sequencing, and functional expression of a cDNA encoding the human V1a vasopressin receptor. *J Biol Chem*. 1994 Feb 4;269(5):3304–10.
37. Andersson KE, Arner B, Hedner P, Mulder JL. Effects of 8-lysine-vasopressin and synthetic analogues of release of ACTH. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1972 Apr;69(4):640–8.
38. Malerbi DA, Mendonça BB, Liberman B, Toledo SP, Corradini MC, Cunha-Neto MB, et al. The desmopressin stimulation test in the differential diagnosis of Cushing's syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1993 May;38(5):463–72.

39. Wang F-F, Tang K-T, Yen Y-S, Ho DM-T, Yang A-H, Huang C-I, et al. Plasma corticotrophin response to desmopressin in patients with Cushing's disease correlates with the expression of vasopressin receptor 2, but not with that of vasopressin receptor 1 or 3, in their pituitary tumours. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2012 Feb;76(2):253–63.
40. Pecori Giraldi F, Pivonello R, Ambrogio AG, De Martino MC, De Martin M, Scacchi M, et al. The dexamethasone-suppressed corticotropin-releasing hormone stimulation test and the desmopressin test to distinguish Cushing's syndrome from pseudo-Cushing's states. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2007 Feb;66(2):251–7.
41. Vassiliadi DA, Tsagarakis S. DIAGNOSIS OF ENDOCRINE DISEASE: The role of the desmopressin test in the diagnosis and follow-up of Cushing's syndrome. *Eur J Endocrinol*. 2018 May;178(5):R201–14.
42. Colombo P, Dall'Asta C, Barbetta L, Re T, Passini E, Faglia G, et al. Usefulness of the desmopressin test in the postoperative evaluation of patients with Cushing's disease. *Eur J Endocrinol*. 2000 Aug;143(2):227–34.
43. Romanholi DJPC, Machado MC, Pereira CC, Danilovic DS, Pereira MAA, Cescato VAS, et al. Role for postoperative cortisol response to desmopressin in predicting the risk for recurrent Cushing's disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008 Jul;69(1):117–22.
44. Losa M, Bianchi R, Barzaghi R, Giovanelli M, Mortini P. Persistent adrenocorticotropin response to desmopressin in the early postoperative period predicts recurrence of Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009 Sep;94(9):3322–8.
45. Valero R, Vallette-Kasic S, Conte-Devolx B, Jaquet P, Brue T. The desmopressin test as a predictive factor of outcome after pituitary surgery for Cushing's disease. *Eur J Endocrinol*. 2004 Dec 1;151(6):727–33.
46. Barbot M, Albiger N, Koutroumpi S, Ceccato F, Frigo AC, Manara R, et al. Predicting late recurrence in surgically treated patients with Cushing's disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2013 Sep;79(3):394–401.
47. Le Marc'hadour P, Muller M, Albarel F, Coulon A-L, Morange I, Martinie M, et al. Postoperative follow-up of Cushing's disease using cortisol, desmopressin and coupled dexamethasone-desmopressin tests: a head-to-head comparison. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015 Aug;83(2):216–22.
48. Vassiliadi DA, Balomenaki M, Asimakopoulou A, Botoula E, Tzanela M, Tsagarakis S. The Desmopressin Test Predicts Better Than Basal Cortisol the Long-Term Surgical Outcome of Cushing's Disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(12):4878–85.
49. Ambrogio AG, Andrioli M, De Martin M, Cavagnini F, Pecori Giraldi F. Usefulness of desmopressin testing to predict relapse during long-term follow-up in patients in remission from Cushing's disease. *Endocr Connect*. 2017 Nov;6(8):791–9.
50. Losa M, Mortini P, Dylgjeri S, Barzaghi R, Franzin A, Mandelli C, et al. Desmopressin stimulation test before and after pituitary surgery in patients with Cushing's disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2001 Jul;55(1):61–8.

51. Castinetti F, Martinie M, Morange I, Dufour H, Sturm N, Passagia J-G, et al. A combined dexamethasone desmopressin test as an early marker of postsurgical recurrence in Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Jun;94(6):1897–903.
52. Dimopoulou C, Schopohl J, Rachinger W, Buchfelder M, Honegger J, Reincke M, et al. Long-term remission and recurrence rates after first and second transsphenoidal surgery for Cushing's disease: care reality in the Munich Metropolitan Region. *Eur J Endocrinol.* 2014 Feb;170(2):283–92.
53. Costenaro F, Rodrigues TC, Rollin GAF, Ferreira NP, Czepielewski MA. Evaluation of Cushing's disease remission after transsphenoidal surgery based on early serum cortisol dynamics. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2014 Mar;80(3):411–8.
54. Tirabassi G, Papa R, Faloia E, Boscaro M, Arnaldi G. Corticotrophin-releasing hormone and desmopressin tests in the differential diagnosis between Cushing's disease and pseudo-Cushing state: a comparative study. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2011 Nov;75(5):666–72.
55. Rollin GAF, Costenaro F, Gerchman F, Rodrigues TC, Czepielewski MA. Evaluation of the DDAVP test in the diagnosis of Cushing's Disease. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2015 Jun;82(6):793–800.
56. Losa M, Mortini P, Dylgjeri S, Barzaghi R, Franzin A, Mandelli C, et al. Desmopressin stimulation test before and after pituitary surgery in patients with Cushing's disease. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2001 Jul;55(1):61–8.
57. Newell-Price J, Perry L, Medbak S, Monson J, Savage M, Besser M, et al. A combined test using desmopressin and corticotropin-releasing hormone in the differential diagnosis of Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997 Jan;82(1):176–81.

RESUME EN FRANÇAIS

Objectif: La maladie de Cushing (MC) peut récidiver malgré l'obtention d'une insuffisance corticotrope (IC) après chirurgie hypophysaire. Dans ce contexte, la valeur prédictive du test à la desmopressine (DT) reste controversée. Nous avons évalué, à l'aide de critères standardisés, si une réponse hormonale persistante au DT prédisait une récurrence chez les patients présentant une IC postopératoire.

Design: Étude rétrospective multicentrique

Méthodes: Le DT était réalisé pour 95 MC (femmes: 82%, âgés de 41 ± 14 ans), répondant à la desmopressine en préopératoire, présentant une IC postopératoire dans les 3 mois après la chirurgie. L'association entre les paramètres du DT et la récurrence était testée à l'aide d'analyses de régression linéaire et logistique. Sa prévision était évaluée à l'aide d'analyses ROC. *Résultats:* Une récurrence survenait chez 17/95 patients suivis 61 (29, 91) mois. Le cortisol postopératoire était augmenté dans le groupe de récurrence par rapport au groupe en rémission : 63 ± 39 vs 44 ± 29 nmol/L, $p=0,03$. Le pic de cortisol lors du DT était plus élevé dans le groupe récurrence *versus* le groupe en rémission (327 , intervalle de confiance à 95% [$237-417$] *versus* 121 [$79-164$] nmol/L, $p=0,0001$). Cette association persistait après différents ajustements, sans interaction avec le cortisol postopératoire. Le pic de cortisol lors du DT, comparé au cortisol postopératoire, permettait une amélioration significative de la prédiction de récurrence (Aire sous la courbe ROC $0,786$ [$0,670-0,902$] *versus* $0,655$ [$0,505-0,804$], $p=0,04$). Un pic de cortisol > 100 nmol/L présentait la meilleure combinaison spécificité/sensibilité et était associé à un risque de récurrence multiplié par 8 (Odds Ratio $8,30$ [$2,45-38,35$], $p=0,0004$).

Conclusion: Le pic de cortisol au cours du DT est associé indépendamment à la récurrence de la MC et offre une valeur pronostique incrémentielle, permettant une stratification des patients en IC pour affiner leur suivi en fonction du risque de récurrence.

Discipline : Endocrinologie, Diabétologie et Maladies Métaboliques

Mots clés : Maladie de Cushing ; Récurrence ; Desmopressine ; Insuffisance corticotrope

UFR Sciences Médicales Université Bordeaux

SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les Hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque.