



LABQUIZ

Cortisol en het syndroom van Cushing

Judith A.P. Bons, Bas Havekes en Paul P.C.A. Menheere

Hypercortisolisme kan leiden tot het syndroom van Cushing. Voor de diagnostiek is het bepalen van de cortisolconcentratie in het bloed niet voldoende. In deze LabQuiz worden de overige mogelijkheden uiteengezet.

CASUS 1 **Patiënt A**, een 66-jarige man, wordt verwezen naar de internist in verband met oedeem aan benen en vermoeidheid. Hij is bekend wegens diabetes mellitus type 2, obstructief slaapapneusyndroom en hij heeft een onderwandinfarct van het hart doorgemaakt. Bij lichamelijk onderzoek worden geen hematomen op de benen waargenomen, maar er is wel sprake van een dunne huid en verminderde spierkracht. Patiënt is 8 kg aangekomen in 1 jaar tijd. Laboratoriumonderzoek laat het volgende zien (referentiewaarden tussen haakjes): cortisolconcentratie in de urine: 243 nmol/24 h, bij herhaling van de meting: 260 nmol/24 h (30-230), cortisolconcentratie in het serum na een suppressietest met dexamethason 1 mg: 77 nmol/l, na herhaling van de test: 102 nmol/l (≤ 50), concentratie adenocorticotroop hormoon (ACTH): 46 ng/l (10-60) en concentratie thyroïdstimulerend hormoon (TSH): 1,1 mU/l (0,4-3,5).

WAT IS UW WAARSCHIJNLIJKHEIDSDIAGNOSE? KIES ÉÉN VAN DE ONDERSTAANDE MOGELIJKHEDEN.

- 1a De ziekte van Cushing
- 1b ACTH-onafhankelijk syndroom van Cushing
- 1c Decompensatio cordis
- 1d Hypothyreoïdie

CASUS 2 **Patiënt B**, een 64-jarige man, wordt verwezen naar de Spoedeisende Hulp in verband met een ernstige hypokaliëmie. Hij had sinds enkele weken hypertensie en vochtretentie. De echtgenote van patiënt zag de afgelopen 12 weken een duidelijke gedragsverandering bij haar man. Het beeld lijkt sterk progressief. Bij laboratoriumonderzoek wordt het volgende gezien (referentiewaarden tussen haakjes): kaliumconcentratie: 1,7 nmol/l (3,6-5,0) en cortisolconcentratie in de urine: 30.200 nmol/24 h (30-230).

WAT IS UW WAARSCHIJNLIJKHEIDSDIAGNOSE? KIES ÉÉN VAN DE ONDERSTAANDE MOGELIJKHEDEN.

- 2a De ziekte van Cushing
- 2b Ectopische ACTH-productie
- 2c ACTH-onafhankelijk syndroom van Cushing
- 2d Bijwerking van diuretica

[▶ Antwoorden en uitleg elders in dit nummer](#)

ANTWOORDEN OP DE LABQUIZ

Cortisol en het syndroom van Cushing

Judith A.P. Bons, Bas Havekes en Paul P.C.A. Menheere

ANTWOORD CASUS 1: A; DE ZIEKTE VAN CUSHING

Patiënt A is een 66-jarige man met diabetes mellitus type 2, obstructief slaapapneusyndroom en een doorgemaakt myocardinfarct in de voorgeschiedenis. Patiënt werd verwezen naar de internist in verband met oedeem aan benen en vermoeidheid. Bij lichamelijk onderzoek werden geen hematomen waargenomen, maar was er wel sprake van een dunne huid, verminderde spierkracht en een mild cushingoïd uiterlijk (vollemaansgezicht en obesitas van de romp met 'buffalo hump'; bij deze patiënt slechts subtiel zichtbaar). Hij was 8 kg aangekomen in het laatste jaar met voornamelijk centrale adipositas.

Elders was een verhoogde cortisolsecretie in de 24 uursurine gemeten en was onvoldoende suppressie van cortisol gezien na een dexamethason-suppressietest, waarop patiënt naar ons werd verwezen. Ter bevestiging werd nog 2 maal een meting van de cortisolsecretie in een 24 uursurineverzameling en 2 maal een suppressietest met dexamethason 1 mg verricht. De uitslagen van de cortisolsecretie in de 24 uursurineverzamelingen waren verhoogd: 243 en 260 nmol/24 h (referentiewaarde: 30-230). De serumcortisolconcentraties na dexamethasontoediening waren eveneens verhoogd: 77 en 102 nmol/l (referentiewaarde: ≤ 50). Er was tevens adenocorticotroop hormoon (ACTH) aantoonbaar: 46 ng/l (referentiewaarde: 10-60).

Op een MRI-scan van de hypofyse was geen hypofyseadenoom zichtbaar. Dit sluit echter een hypofysaire oorzaak voor het syndroom van Cushing niet geheel uit. Daarvoor is ACTH-bepaling van het bloed uit de sinus petrosus inferior (sinus petrosussampling) noodzakelijk. Dit werd uiteindelijk bij patiënt uitgevoerd. De resultaten wezen op een ACTH-producerend adenoom links in de hypofyse. Patiënt onderging hierna een chirurgische transnasale hemi-exploratie van de hypofyse; hij heeft tot op heden geen klachten.

Maastricht Universitair

Medisch Centrum, Maastricht.

Afd. Klinische Chemie: dr. J.A.P. Bons, klinisch
chemicus in opleiding; dr. P.P.C.A. Menheere,

klinisch chemicus-endocrinoloog.

Afd. Interne Geneeskunde: dr. B. Havekes,
internist-endocrinoloog.

Contactpersoon: dr. J.A.P. Bons
(judith.bons@mumc.nl).

ANTWOORD CASUS 2: B; ECTOPISCHE ACTH-PRODUCTIE

Patiënt B, een 64-jarige man, werd verwezen naar de Spoedeisende Hulp vanwege een ernstige hypokaliëmie van 1,7 nmol/l (referentiewaarde: 3,6-5,0). Hij had sinds enkele weken last van duizeligheid, hypertensie en vochtretentie waarvoor hij een lisdiureticum gebruikte. De bloeddruk op de SEH was 152/68 mmHg. De echtgenote gaf aan dat zij sinds 3 maanden een gedragsverandering met toenemende onrust en verwardheid bij haar man zag.

De cortisolsecretie in de 24 uursurine bedroeg 30.200 nmol/24 h (referentiewaarde: 30-230). De ACTH-concentratie in het plasma was sterk verhoogd: 143 ng/l (10-60). Ondanks forse kaliumsuppletie via een centrale lijn (dosering: > 240 mmol/24 h), was de kaliumconcentratie slechts moeizaam te corrigeren. Omdat patiënt buikpijn had, werd een CT-scan van het abdomen verricht: die liet een sigmoïdperforatie zien. Patiënt werd hiervoor met spoed geopereerd.

De postoperatieve zorg op de IC werd gecompliceerd door wonddehiscentie en patiënt onderging een relaparotomie. Het snel-progressieve klinische beeld en de laboratoriumuitslagen deden een ectopische ACTH-productie vermoeden, waarbij differentiaaldiagnostisch aan een kleincellig longcarcinoom gedacht werd. Op een CT-thorax werden pathologisch vergrote lymfeklieren gevonden rechts hilar en in station 2 (volgens de American Thoracic Society: paratracheaal) en 4 (in de tracheobronchiale hoek) rechts. Middels mediastinoscopie werden bipten verkregen, histopathologisch onderzoek hiervan toonde een kleincellig carcinoom van waarschijnlijk primaire pulmonale origine.

Ter overbrugging naar een definitieve therapie werd getracht de cortisolproductie te remmen met medicatie (ketoconazol en etomidat). Desondanks bleef bij patiënt het cortisol erg hoog en de situatie dermate kritiek dat hij niet in aanmerking kwam voor chemotherapie. Uiteindelijk is hij overleden aan de gemetastaseerde ziekte in combinatie met een sepsis vanuit de buikabcessen die ontstaan waren na de sigmoïdperforatie.

Citeer als: Ned Tijdschr Geneesk. 2012;156:A3556

➤ Voor verdieping en achtergronden, zie
www.ntvg.nl, zoeken op A3556

Cortisol en het syndroom van Cushing

Judith A.P. Bons, Bas Havekes en Paul P.C.A. Menheere

ACHTERGROND

Gewoonlijk wordt onder invloed van adenocorticotroop hormoon (ACTH) dagelijks ongeveer 20-70 μmol (8-25 mg) van het glucocorticoïd cortisol gesynthetiseerd in de bijnierschors. Cortisol is voor circa 10% aanwezig in een vrije, ongebonden vorm, voor 75% gebonden aan cortisolbindend globuline (CBG), en voor circa 15% gebonden aan albumine. De halfwaardetijd van cortisol in bloed bedraagt ongeveer 1,5 h.¹ Omdat cortisol via de nier wordt geklaard en alleen het vrije hormoon de glomerulus kan passeren, wordt er dagelijks maar weinig cortisol uitgescheiden. Opvallend is dat cortisol een dag-en-nachtritme vertoont met de hoogste concentratie rond 8:00 uur en de laagste concentratie rond 23:00 uur.

Syndroom van Cushing Het syndroom van Cushing wordt veroorzaakt door een overproductie van glucocorticoïden (cortisol).² Lokale vetstapeling, gewichtstoename, striae, hypertensie, glucose-intolerantie, psychische klachten, proximale myopathie, menstruatiestoornissen en moeheid zijn kenmerkend voor dit syndroom.^{3,4}

Het syndroom van Cushing is bij 80-85% van de patiënten ACTH-afhankelijk. Er wordt onderscheid gemaakt in het syndroom van Cushing veroorzaakt door hypofyseadenomen (de ziekte van Cushing; 80%) en het syndroom veroorzaakt door ectopische ACTH-productie (20%). Bij 15-20% van de patiënten is er sprake van ACTH-onafhankelijkheid, dan is er autonome cortisolsecretie door de bijnier.^{3,5,6}

De meest voorkomende oorzaak van hypercortisolisme is het gebruik van grote hoeveelheden niet-lichaamseigen glucocorticoïden.³ Hypercortisolisme in afwezigheid van het syndroom van Cushing komt voor bij zwangerschap, depressie en alcoholisme.⁷ Bij ectopische ACTH-productie door bijvoorbeeld een kleincellig longcarcinoom, bestaat er vaak een ernstig progressief klinisch beeld.^{3,6,8,9}

BEPALING VAN CORTISOL

Cortisol kan gemeten worden in bloed, urine en speeksel.¹⁰ Voor serumcortisol geldt dat zowel de gebonden als ongebonden fractie wordt gemeten. Variaties in de concentratie van CBG en albumine hebben hierdoor invloed op de totale cortisolconcentratie die gemeten wordt in het serum. De cortisolconcentratie gemeten in urine daarentegen, weerspiegelt de concentratie van de biologisch actieve, vrije fractie van cortisol in het bloed, en

wordt dan ook niet beïnvloed door variatie in de CBG-concentratie.⁶ Ook het relatief gemakkelijk te meten speekselcortisol wordt nauwelijks beïnvloed door eiwitbinding en is een goede afspiegeling voor de vrije fractie cortisol.¹

De cortisolconcentratie kan op verschillende manieren bepaald worden, zoals met een immunoassay of hogedruk-vloeistofchromatografie (HPLC). Vanwege de aanwezigheid van cortisolmetabolieten zijn immunoassays vaak niet specifiek genoeg voor de meting van cortisol in urine. Deze problemen kunnen ten dele worden opgelost door de monsters eerst te extraheren, waardoor metabolieten grotendeels verwijderd kunnen worden. Tegenwoordig is voor de bepaling van cortisol specifiekere vloeistofchromatografie-tandemmassaspectrometrie (LC-MS/MS) sterk in opkomst.

De verschillende laboratoriummethoden kunnen leiden tot variatie in de referentiewaarden; het is dus belangrijk dat elk laboratorium zijn eigen referentiewaarden bepaalt en bekend maakt.¹¹

CORTISOL IN DE DIAGNOSTIEK VAN HET SYNDROOM VAN CUSHING

Wanneer men bij een patiënt denkt aan hypercortisolisme, is het belangrijk om het gebruik van niet-lichaamseigen glucocorticoïden in hoge dosering uit te sluiten, voordat men start met testen.⁷

Diagnostische testen die worden gebruikt om het syndroom van Cushing aan te tonen, zijn er op gericht om een verhoogde cortisolsecretie, een verlies van circadiaans ritme van de cortisolconcentratie en een afwijkende regulatie van de hypothalamus-hypofyse-bijnieras aan te tonen.^{5,6} Een verhoging van de absolute cortisolconcentraties of een verstoring in het dag-en-nachtritme van de cortisolconcentratie zijn de eerste aanwijzingen voor het syndroom van Cushing. Het bepalen van een willekeurige serumcortisolconcentratie is echter niet zinvol voor de diagnostiek van het syndroom van Cushing.

Er zijn 3 belangrijke testen voor het stellen van de diagnose 'syndroom van Cushing': de bepaling van de concentratie vrij cortisol in 24 uursurine, een dexamethason-suppressietest en de bepaling van de cortisolconcentratie in het speeksel rond middernacht.^{3,7,8} Er is geen gouden standaard, maar de 24 uursurinebepaling en dexamethason-suppressietest zijn meestal de methoden van eerste keus, daarna volgt de bepaling van cortisol in het speeksel rond middernacht.⁹

Bij de suppressietest wordt om 23:00 uur synthetisch dexamethason toegediend. Dit geeft een negatieve terugkoppeling op de lichaamseigen cortisolproductie via de hypothalamus-hypofyse-as. Als de cortisolregulatie niet afwijkend is (bijvoorbeeld door productie in een adenoom), zorgt deze extra dosis dexamethason voor een remming van de eigen cortisolproductie. Deze wordt in het serum gemeten tussen 8:00 en 9:00 uur op de ochtend volgend op de inname van de dexamethason. Gebruikelijk wordt er een concentratie van ≤ 50 nmol/l gevonden.⁵ Indien de cortisolconcentratie in het serum > 50 nmol/l is, is dit een aanwijzing voor het syndroom van Cushing.⁷ Indien bij de overige testen de 24 uursurineseecretie van cortisol hoger is dan de referentiewaarden (afhankelijk van de gebruikte methode en laboratorium) of de concentratie cortisol in het middernachtspeeksel > 4 nmol/l is, zijn dit ook criteria voor het syndroom van Cushing.⁷ Nadat het hypercortisolisme is aangetoond met behulp van de bovengenoemde testen, zullen andere aanvullende onderzoeken verricht moeten worden om de origine van het hypercortisolisme nader te onderzoeken. Dit zijn bijvoorbeeld het bepalen van de concentratie ACTH en cortisolsuppressie met langere suppressietesten (zoals dexamethason-inname gedurende 48 h).

SENSITIVITEIT EN SPECIFICITEIT VAN CORTISOLBEPALING

De sensitiviteit en specificiteit van de verschillende laboratoriumbepalingen of functietesten zijn sterk afhankelijk van de gebruikte methoden en de vastgestelde referentiewaarden. De sensitiviteit en specificiteit zoals hieronder gerapporteerd zijn afkomstig uit de in 2008 opgestelde internationale criteria van de Endocrine Society.⁷

Dexamethason-suppressietest Voor het stellen van de diagnose 'syndroom van Cushing' met de standaardtest (dexamethason 1 mg en een referentiewaarde van ≤ 50 nmol/l) voor het serumcortisol is de sensitiviteit $> 95\%$ en de specificiteit 80% .⁷ Met de lange suppressietest (dexamethason 2 mg/dag gedurende 48 h) is de sensitiviteit $> 95\%$ voor volwassenen en 94% voor kinderen. Deze lange suppressietest in combinatie met toediening van corticotropinevrijmakend hormoon (CRH) leidt tot een sensitiviteit van 98% met een specificiteit van slechts 60% .

Cortisolconcentratie in speeksel rond middernacht In verschillende studies wordt een sensitiviteit van $92-100\%$ en een specificiteit van $93-100\%$ voor de speekselcortisolconcentratie rond middernacht gerapporteerd, waarbij verschillende diagnostische criteria worden gehanteerd. De meest gebruikte referentiewaarde voor de speekselcortisolconcentratie rond middernacht is ≤ 4 nmol/l.⁷ Het is tevens mogelijk de cortisolconcentratie in het serum rond middernacht te bepalen. In de praktijk wordt deze bepaling nauwelijks gebruikt en kan worden volstaan met de bepaling in het speeksel.

Cortisolconcentratie in urine In de internationale criteria van de Endocrine Society wordt voor de cortisolbepaling in urine geen sensitiviteit en specificiteit genoemd voor volwassenen, omdat deze sterk afhankelijk zijn van de geselecteerde referentiewaarden. Er wordt verwezen naar een studie van Pecori et al. waarin een specificiteit van 91% wordt gerapporteerd (referentiewaarde: 220 nmol/24 h).¹² In de opgestelde criteria wordt tevens genoemd dat de sensitiviteit van de urinebepaling hoog (circa 89%) is bij kinderen. In een publicatie van Findling et al. werden meerdere studies vergeleken, waarbij geconcludeerd werd dat de sensitiviteit de bepaling van de cortisolconcentratie in 24 uursurine lager is dan die van de speekselbepaling.⁴

REFERENTIEWAARDEN

De referentiewaarden van de verschillende cortisolbepalingen zijn zoals gezegd sterk afhankelijk van de gebruikte methode en het laboratorium waar de bepaling is uitgevoerd. In het Maastricht Universitair Medisch Centrum worden de referentiewaarden gehanteerd die zijn weergegeven in de tabel. De omrekeningsfactor van $\mu\text{g/dl}$ naar nmol/l is $\times 27,59$.

KOSTEN

Het tarief opgesteld door het College Tarieven Gezondheidszorg (CTG) voor de bepaling van de cortisolconcentratie in serum bedraagt € 7,92. Het tarief voor de bepaling van vrij cortisol in de urine is € 9,91. Er is geen apart CTG-tarief voor de cortisolbepaling in speeksel.

WANNEER IS DE SERUMCORTISOL-UITSLAG KLINISCH SIGNIFICANT VERSCHILLENDE TEN OPZICHTE VAN DE VORIGE UITSLAG?

Bij herhaalde metingen van het cortisol is het belangrijk om te achterhalen of de verschillende metingen significant van elkaar verschillen. Deze significantie wordt aangegeven met het kritisch verschil. Dat wordt berekend met een betrouwbaarheidsinterval van 95% op basis van de biologische en analytische variatie. Een kritisch verschil van minimaal 65% toont een klinisch significant verschil aan tussen 2 bepalingen.

Voor de bepaling van cortisol in het serum is de intra-

TABEL Referentiewaarden van cortisol in serum, urine en speeksel voor volwassenen

monstermateriaal	tijdstip afname	referentiewaarde
serum	09:00 h	200-500 nmol/l
urine		30-230 nmol/24 h
♂		30-95 nmol/24 h
♀		30-95 nmol/24 h
speeksel	23:00 h	≤ 4 nmol/l

individuele biologische variatiecoëfficiënt (VC_B) 20,9%, de analytische variatiecoëfficiënt (VC_A) is 10,5% (Sectie Endocrinologie, Stichting Kwaliteitsbewaking Medische Laboratoria, schriftelijke mededeling, 2007).

Op basis van deze getallen kan het kritisch verschil berekend worden aan de hand van de volgende formule: $2,8 \times \sqrt{(VC_A^2 + VC_B^2)}$.¹³ Voor de serumcortisolbepaling is het kritisch verschil 65%, wat een klinische significantie aantoonst. Hierbij moet wel opgemerkt worden dat de analytische variatiecoëfficiënt sterk afhankelijk is van de gebruikte methode.

VALKUILEN

Het glucocorticoïdmetabolisme wordt beïnvloed door verschillende factoren zoals alcohol, overgewicht, depressie, diabetes mellitus, zwangerschap, medicatie en anorexie.¹⁴ De meest voorkomende oorzaak van het syndroom van Cushing is het gebruik van hoge doseringen niet-lichaamseigen glucocorticoïden. Een adequaat medicatieoverzicht van de patiënt is dus noodzakelijk.³ Door het dag-en-nachtritme van de cortisolsecretie is het willekeurig bepalen van de cortisolconcentratie in het bloed niet zinvol.

Eiwitten Onder invloed van oestrogenen (bijvoorbeeld tijdens de zwangerschap of bij gebruik van orale anticonceptiva) neemt het cortisolbindende globuline (CBG) en daarmee de totale serumconcentratie cortisol toe zonder dat dit fysiologische betekenis heeft. Oestrogeentherapie dient dus bij voorkeur gestaakt te worden voordat men de dexamethason-suppressietest gaat verrichten. Hoewel een verandering in de hoeveelheid eiwit in het serum direct effect heeft op cortisolconcentratie, worden de bepalingen in urine en speeksel hier niet door verstoord, daarbij wordt immers de vrije fractie cortisol bepaald.^{7,15}

Urine Een 24 uursurineverzameling moet minimaal 2 keer worden afgenomen. Tevens moet daarbij het creatinine gemeten worden om te bepalen of de urineverzameling correct heeft plaatsgevonden.^{6,7,9} Bij patiënten met een ernstig verslechterde nierfunctie kan de urineverzameling vals-negatieve uitslagen geven.^{5,8}

Glucocorticoïden Men moet zich realiseren dat het gebruik van prednison of prednisolon kan zorgen voor interferentie in sommige methoden, omdat er kruisreactiviteit bestaat met cortisol. De meting van urinecortisolconcentratie met behulp van immunoassays wordt beïnvloed door verschillende metabolieten van cortisol en sommige synthetische glucocorticoïden. Bepalingen middels HPLC en massaspectrometrie hebben hier geen of nauwelijks last van en zijn te verkiezen boven methoden die wel beïnvloed kunnen worden.^{6,7}

Speeksel Vals-positieve uitslagen voor de concentratie cortisol in het speeksel kunnen veroorzaakt worden door bloedcontaminatie, dropgebruik of kauwtabak.⁵ Er wordt geadviseerd om de speekselverzameling rond middernacht minimaal in tweevoud uit te voeren.

Voor de dexamethason-suppressietest moet potentiële malabsorptie van dexamethason en medicatie die interfereert met de klaring van dexamethason, zoals anti-epileptica, in het oordeel worden meegewogen.^{7,8}

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

Aanvaard op 29 september 2011

Citeer als: Ned Tijdschr Geneeskd. 2012;156:A3556

 [Meer op www.ntvg.nl/verdiepinglabquiz](http://www.ntvg.nl/verdiepinglabquiz)

LITERATUUR

- Gardner DG, Shoback D. Greenspan's basic & clinical endocrinology. 8th ed. New York: McGraw-Hill; 2007.
- Isidori AM, Kaltsas GA, Pozza C, et al. The ectopic adrenocorticotropin syndrome: clinical features, diagnosis, management, and long-term follow-up. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:371-7.
- Newell-Price J, Bertagna X, Grossman AB, Nieman LK. Cushing's syndrome. *Lancet.* 2006;367:1605-17.
- Findling JW, Raff H. Screening and diagnosis of Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2005;34:385-402.
- Newell-Price J. Diagnosis/differential diagnosis of Cushing's syndrome: a review of best practice. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2009;23(Suppl 1):S5-S14.
- Arnaldi G, Angeli A, Atkinson AB, et al. Diagnosis and complications of Cushing's syndrome: a consensus statement. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:593-602.
- Nieman LK, Biller BM, Findling JW, et al. The diagnosis of Cushing's syndrome: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:1526-40.
- Newell-Price J. Cushing's syndrome. *Clin Med.* 2008;8:204-8.
- Orth DN. Cushing's syndrome. *N Engl J Med.* 1995;332:791-803.
- Thomson S, Koren G, Fraser LA, Rieder M, Friedman TC, Van Uum SH. Hair analysis provides a historical record of cortisol levels in Cushing's syndrome. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2010;118:133-8.
- De Bos Kuil MJ, Ender E, Fliers E, Prummel MF, Romijn JA, Wiersinga WM. Establishment of reference values for endocrine tests. I: Cushing's syndrome. *Neth J Med.* 1998;53:153-63.
- Pecori Giralaldi F, Ambrogio AG, De Martin M, Fatti LM, Scacchi M, Cavagnini F. Specificity of first-line tests for the diagnosis of Cushing's syndrome: assessment in a large series. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:4123-9.

- 13 Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV, et al. Current databases on biological variation: pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest.* 1999;59:491-500.
- 14 Jubiz W, Meikle AW. Alterations of glucocorticoid actions by other drugs and disease states. *Drugs.* 1979;18:113-21.
- 15 Qureshi AC, Bahri A, Breen LA, et al. The influence of the route of oestrogen administration on serum levels of cortisol-binding globulin and total cortisol. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2007;66:632-5.