



www.associazionemedicendocrinologi.it



www.aaace.com

## 12° Congresso Nazionale AME

Associazione Medici Endocrinologi

## 6<sup>th</sup> Joint Meeting with AAACE

American Association of Clinical Endocrinologists

## Update in Endocrinologia Clinica

7-10 novembre 2013

Bari, Sheraton Nicolaus Hotel & Conference Center

Segreteria Organizzativa

nord est | congressi

Via Portanuova, 3 - 33100 Udine

Tel. 0432 21391 - Fax 0432 506687

mail@nordestcongressi.it



## Inquadramento di Laboratorio della patologia cortico - surrenalica

### Take home messages

## Lino Furlani

Servizio di Endocrinologia  
Osp. «Sacro Cuore – Don Calabria»  
Negrar - Verona



# Inquadramento di Laboratorio della patologia cortico - surrenalica



Bari,  
7-10 novembre 2013

**ECLIA ?**

**EIA ?**

**Cortisolo  
salivare ?**

**ARR ?**

**HPLC ?**



**RIA ?**

**ELISA ?**

**Cortisolo  
libero  
urinario ?**

**PRA o PRC ?**



# Inquadramento di Laboratorio della patologia cortico - surrenalica



Bari,  
7-10 novembre 2013

## CORTISOLO

- Ritmo circadiano: h. 8:00, (18:00), 24:00
  - (< 207 nmol/L = 7,5 mcg/dl / < 50 nmol/L si = 1,8 mcg/dl)
- Cortisolo libero urinario (più determinazioni)
- **Cortisolo Salivare h. 23 - 24**
- Test Desametazone: 1 – 2 – 8 mg (cut off 50 nmol/L = 1,8 mcg/dl)
- Test CRH + DSMZ
- Test Desmopressina + CRH
- **Test Synachten (basse dosi = 1 mcg)**
  - Cortisolo 5 – 13 mcg/dl = 138 – 365 nmol/L
- **Test ITT**



# Inquadramento di Laboratorio della patologia cortico - surrenalica



Bari,  
7-10 novembre 2013



## CORTISOLO SALIVARE

### ➤ Vantaggi

- Buona sensibilità e specificità per la “presentazione moderna” della sindrome di Cushing
- Possibilità di campionamenti multipli in ambiente ambulatoriale, non-stressato
- Semplice, poco costoso

### ➤ Svantaggi

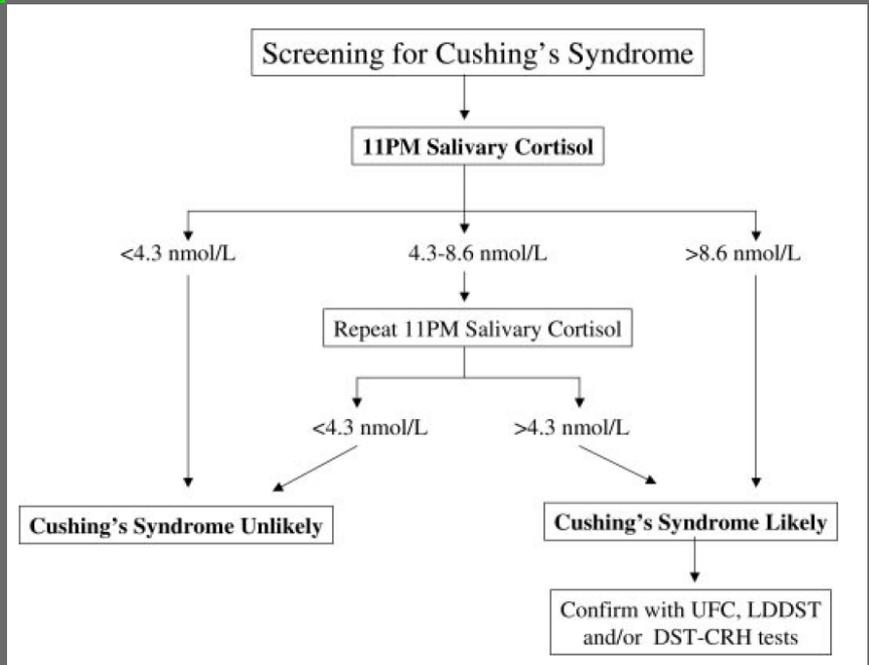
- Specificità (evening stress, ritmo sonno-veglia, uso di liquirizia e tabacco)
- Interferenza dei sistemi di raccolta (cotone, polietilene, polistire...) )
- Livelli di riferimento dipendenti dalla metodica: necessità di «costruire» livelli di riferimento locali su larga fascia di popolazione

# Inquadramento di Laboratorio della patologia cortico - surrenalica



**Table 2** Percentage of positive results with salivary cortisol and urine free cortisol in 11 patients with surgically proven Cushing's syndrome

Patient no.	% Abnormal urine free cortisol	% Abnormal nocturnal salivary cortisol
1	50	78
2	50	29
3	0	14
4	25	100
5	0	100
6	0	100
7	0	100
8	0	100
9	0	71
10	66	33
11	0	100



# Inquadramento di Laboratorio della patologia cortico - surrenalica



## DIAGNOSI di SINDROME di CUSHING

- cortisolo libero urinario
- cortisolo **salivare**/sierico alle h 23-h24
- cortisolo sierico dopo OST
- cortisolo sierico durante test al CRH
- cortisolo sierico dopo 8 mg desametasone



## NEL POSTINTERVENTO

### remissione

- cortisolo libero urinario
- cortisolo **salivare**/sierico alle h8
- cortisolo sierico durante test al Synacthen

### ricidiva

- cortisolo libero urinario
- cortisolo **salivare**/sierico alle h 23-h24
- cortisolo sierico dopo OST

## DURANTE TERAPIA FARMACOLOGICA

- cortisolo libero urinario
- cortisolo **salivare**/sierico alle h24
- cortisolo sierico dopo OST

**Scegliere il test più adatto  
alla situazione clinica in  
esame, eventualmente  
ripetendolo, secondo le  
disponibilità locali**



# Inquadramento di Laboratorio della patologia cortico - surrenalica



Bari,  
7-10 novembre 2013

## ARR

Il rapporto ALDOSTERONE ( $> 15$  ng/dl) /  
RENINA (ARR) [PRA / PRC] è attualmente il  
modo più affidabile di **screening**  
dell' Iperaldosteronismo Primario.

**Cut-off ?**

**Standardizzare col proprio Laboratorio**



# Inquadramento di Laboratorio della patologia cortico - surrenalica



Bari,  
7-10 novembre 2013

## ARR

### Postura

- 1 Campione dopo 5-15 minuti in posizione seduta
- No 2 campioni (ortostatismo/1 ora-clinostatismo)

### Ora del prelievo

- Metà mattina (ritmo circadiano di ACTH), no pomeriggio

### Dieta sodica

- Dieta libera; No restrizione sodica

### Concentrazione del potassio

- Ipopotassiemia associata con risultati falsi negativi: correzione
- Iperpotassiemia fattizia: corretto prelievo di plasma

**Età > 65 anni livelli di Renina si riducono più dell' Aldosterone → ARR falsi positivi**

**Funzione Renale: insufficienza → ARR falsi positivi**

### Farmaci

- Induttori di falsi positivi: beta-bloccanti, metildopa, clonidina, FANS
- Induttori di falsi positivi: diuretici, calcio-antagonisti, ACE-inibitori, ARBs
- Effetti complessi: Inibitori renina, estroprogestinici, antidepressivi
- **Farmaci ammessi ?**



# Inquadramento di Laboratorio della patologia cortico - surrenalica



Bari,  
7-10 novembre 2013

## Farmaci relativamente poco interferenti

3270 Funder *et al.* Management of Patients with Primary Aldosteronism

J Clin Endocrinol Metab, September 2008, 93(9):3266–3281

**TABLE 2.** Medications that have minimal effects on plasma aldosterone levels and can be used to control hypertension during case finding and confirmatory testing for PA

Drug	Class	Usual dose	Comments
Verapamil slow-release	Non-dihydropyridine calcium channel antagonist	90–120 mg twice daily	Use singly or in combination with the other agents listed in this table.
Hydralazine	Vasodilator	10–12.5 mg twice daily, increasing as required	Commence verapamil slow release first to prevent reflex tachycardia. Commencement at low doses reduces risk of side effects (including headaches, flushing, and palpitations).
Prazosin hydrochloride	$\alpha$ -Adrenergic blocker	0.5–1 mg two to three times daily, increasing as required	Monitor for postural hypotension
Doxazosin mesylate	$\alpha$ -Adrenergic blocker	1–2 mg once daily, increasing as required	Monitor for postural hypotension
Terazosin hydrochloride	$\alpha$ -Adrenergic blocker	1–2 mg once daily, increasing as required	Monitor for postural hypotension

Consensus Congresso Europeo di Ipertensione **ESH 2013**: è necessario sospendere solamente **beta bloccanti** e, ovviamente, i **diuretici e risparmiatori di potassio**. Gli altri antiipertensivi modificano renina e aldosterone in maniera consensuale e quindi non alterano rapporto.



# Inquadramento di Laboratorio della patologia cortico - surrenalica



Bari,  
7-10 novembre 2013



## Tests di conferma

Test	Sigla	Procedura	Analiti	Raccomandazioni
Carico orale di sodio	OSL	>200mmol/die	UA	Young, Mulatero, ES
Infusione di sodio	SIT	2 L 0.9% NaCl	PAC, PRA/PRC, K	Mulatero, ES, JES
Captopril challenge test	CCT	Captopril	PAC, PRA/PRC, Cortisolo	ES, JES
Test di soppressione con fludrocortisone	FST	Fludrocortisone	PAC, PRA/PRC, Cortisolo	Mulatero, ES
Furosemide upright test	FUT	Furosemide	PAC/PRA/PRC, Cortisolo	JES



# Inquadramento di Laboratorio della patologia cortico - surrenalica



Bari,  
7-10 novembre 2013

## ARR: proposta di standardizzazione

Characteristic	Proposal	EBM
Time of venipuncture	Midmorning (2 hours out of bed, 5-15 minutes seating)	ES Guidelines
Sample	Plasma, urine	ES Guidelines
Type of method	CLIA, HPLC	?
Aldosterone	Automated Direct	?
Renin	Automated PRC	?
Manufacturer	The same	?
Cut-off	Method, Age, Gender-dependent	?
Reference sample	Healthy Adults (97.5%ile)	?
Units	SI Units	ES guidelines
Other Conditions	Aldosterone > 400 pmol/L	?



# Inquadramento di Laboratorio della patologia cortico - surrenalica



Bari,  
7-10 novembre 2013

## Take home messages

- «saper fare con quello che si ha»
- Introduzione di nuove metodiche
- Interpretazione critica dei risultati alla luce della «clinica»
- **Anamnesi farmacologica**
- **Ripetizione dei tests nei casi dubbi**
- **Adeguate istruzione del paziente** (raccolta urine delle 24 ore, raccolta della saliva, dieta, farmaci...)
- Standardizzazione delle procedure e delle determinazioni di Laboratorio
- Interpretare i dati di Laboratorio alla luce della metodica utilizzata



# Inquadramento di Laboratorio della patologia cortico - surrenalica



Bari,  
7-10 novembre 2013



*George Bernard Shaw's Doctor's Dilemma, 1927*

***I medico agisce secondo il principio di efficacia delle cure .....  
tenendo conto dell'uso appropriato delle risorse***

***Art. 30 Codice Deontologico***



Bari,  
7-10 novembre 2013



# Adrenal Insufficiency

Suspected hypothalamic-pituitary disorder in ambulatory patient with no acute illness

## Basal cortisol\*

**< 5  $\mu\text{g/dl}$**   
(138 nmol/l)  
Probability HPAI > 92%  
(95% CI 75-99)

**5–13  $\mu\text{g/dl}$**   
(138–365 nmol/l)  
Probability HPAI 40%  
(95% CI 31-47)

**> 13  $\mu\text{g/dl}$**   
(365 nmol/l)  
Probability HPAI < 9%  
(95% CI 3-18)

## Low-dose corticotropin stimulation test (30-minute cortisol)

**< 16  $\mu\text{g/dl}$**   
(440 nmol/l)  
Probability HPAI > 83%  
(95% CI 67-94)

**16–22  $\mu\text{g/dl}$**   
(440–600 nmol/l)  
Probability HPAI 33%  
(95% CI 21-48)

**> 22  $\mu\text{g/dl}$**   
(600 nmol/l)  
Probability HPAI < 5%  
(95% CI 1-18)

## Insulin tolerance test or overnight metyrapone test

Abnormal

Normal

**Glucocorticoid stress supplementation  
and replacement**

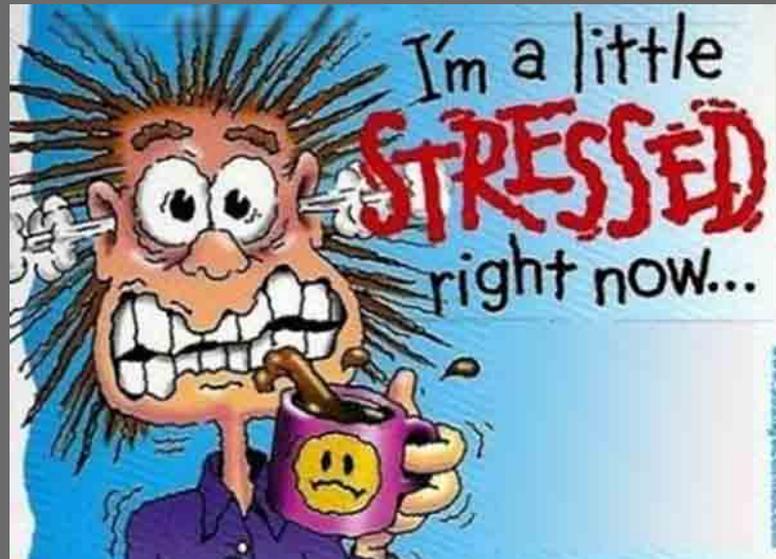
**No glucocorticoid supplementation,  
unless high clinical suspicion†**

# Inquadramento di Laboratorio della patologia cortico - surrenalica



Bari,  
7-10 novembre 2013

Quali metodiche, rispettivamente per  
Cortisolo e per Aldosterone (Renina)  
sono da abbandonare ? E quali da  
preferire ?





# Inquadramento di Laboratorio della patologia cortico - surrenalica



Bari,  
7-10 novembre 2013



Take home messages

## ARR

Il rapporto ALDOSTERONE / RENINA (ARR) è attualmente il modo più affidabile di screening dell' Iperaldosteronismo Primario.

Cut-offs ?

Standardizzare col proprio Laboratorio

**Quando valutarlo ?**



# Inquadramento di Laboratorio della patologia cortico - surrenalica



Bari,  
7-10 novembre 2013

## Take home messages

- Tutti gli Ipertesi Grado 2 ( $>160-179$  mmHg/ $100-109$  mmHg) e di grado 3 ( $>180/110$ )
- Iperensione Resistente (iperTA con + 3 farmaci a piena dose)
- Iperensione + Ipopotassiemia (spontanea o indotta da basse dosi di diuretico)
- Ipereso con Incidentaloma surrenalico
- Storia familiare di ipertensione precoce o accidente cerebrovascolare in età giovanile ( $<40$  aa)
- Ipertesi, parenti di primo grado di pazienti con Iperaldosteronismo Primitivo



# Inquadramento di Laboratorio della patologia cortico - surrenalica



Bari,  
7-10 novembre 2013



## ARR measurement

### A. Preparation for ARR measurement: agenda

1. Attempt to correct hypokalemia, after measuring plasma potassium in blood collected slowly with a syringe and needle (preferably not a Vacutainer to minimize the risk of spuriously raising potassium); avoid fist clenching during collection; wait at least 5 sec after tourniquet release (if used to achieve insertion of needle) and ensure separation of plasma from cells within 30 min of collection.
2. Encourage patient to liberalize (rather than restrict) sodium intake.
3. Withdraw agents that markedly affect the ARR (48) for at least 4 wk:
  - a. Spironolactone, eplerenone, amiloride, and triamterene
  - b. Potassium-wasting diuretics
  - c. Products derived from licorice root (e.g. confectionary licorice, chewing tobacco)
4. If the results of ARR off the above agents are not diagnostic, and if hypertension can be controlled with relatively noninterfering medications (see Table 2), withdraw other medications that may affect the ARR (48) for at least 2 wk:
  - a.  $\beta$ -Adrenergic blockers, central  $\alpha$ -2 agonists (e.g. clonidine and  $\alpha$ -methyl dopa), nonsteroidal antiinflammatory drugs
  - b. Angiotensin-converting enzyme inhibitors, angiotensin receptor blockers, renin inhibitors, dihydropyridine calcium channel antagonists
5. If necessary to maintain hypertension control, commence other antihypertensive medications that have lesser effects on the ARR [e.g. verapamil slow-release, hydralazine (with verapamil slow-release, to avoid reflex tachycardia), prazosin, doxazosin, terazosin; see Table 2].
6. Establish OC and HRT status, because estrogen-containing medications may lower DRC and cause false-positive ARR when DRC (rather than PRA) is measured. Do not withdraw OC unless confident of alternative effective contraception.

### B. Conditions for collection of blood

1. Collect blood mid-morning, after the patient has been up (sitting, standing, or walking) for at least 2 h and seated for 5–15 min.
2. Collect blood carefully, avoiding stasis and hemolysis (see A.1 above).
3. Maintain sample at room temperature (and not on ice, because this will promote conversion of inactive to active renin) during delivery to laboratory and before centrifugation and rapid freezing of plasma component pending assay.

### C. Factors to take into account when interpreting results (see Table 4)

1. Age: in patients aged  $>65$  yr, renin can be lowered more than aldosterone by age alone, leading to a raised ARR
2. Time of day, recent diet, posture, and length of time in that posture
3. Medications
4. Method of blood collection, including any difficulty doing so
5. Level of potassium
6. Level of creatinine (renal failure can lead to false-positive ARR)

HRT, Hormone replacement therapy; OC, oral contraceptive.



# Inquadramento di Laboratorio della patologia cortico - surrenalica



Bari,  
7-10 novembre 2013

## ARR

### ARR measurement

#### A. Preparation for ARR measurement: agenda

1. Attempt to correct hypokalemia, after measuring plasma potassium in blood collected slowly with a syringe and needle (preferably not a Vacutainer to minimize the risk of spuriously raising potassium); avoid fist clenching during collection; wait at least 5 sec after tourniquet release (if used to achieve insertion of needle) and ensure separation of plasma from cells within 30 min of collection.
2. Encourage patient to liberalize (rather than restrict) sodium intake.
3. Withdraw agents that markedly affect the ARR (48) for at least 4 wk:
  - a. Spironolactone, eplerenone, amiloride, and triamterene
  - b. Potassium-wasting diuretics
  - c. Products derived from licorice root (e.g. confectionary licorice, chewing tobacco)
4. If the results of ARR off the above agents are not diagnostic, and if hypertension can be controlled with relatively noninterfering medications (see Table 2), withdraw other medications that may affect the ARR (48) for at least 2 wk:
  - a.  $\beta$ -Adrenergic blockers, central  $\alpha$ -2 agonists (e.g. clonidine and  $\alpha$ -methyldopa), nonsteroidal antiinflammatory drugs
  - b. Angiotensin-converting enzyme inhibitors, angiotensin receptor blockers, renin inhibitors, dihydropyridine calcium channel antagonists
5. If necessary to maintain hypertension control, commence other antihypertensive medications that have lesser effects on the ARR [e.g. verapamil slow-release, hydralazine (with verapamil slow-release, to avoid reflex tachycardia), prazosin, doxazosin, terazosin; see Table 2].
6. Establish OC and HRT status, because estrogen-containing medications may lower DRC and cause false-positive ARR when DRC (rather than PRA) is measured. Do not withdraw OC unless confident of alternative effective contraception.



# Inquadramento di Laboratorio della patologia cortico - surrenalica



Bari,  
7-10 novembre 2013



**TABLE 4.** Factors that may affect the ARR and thus lead to false-positive or false-negative results

Factor	Effect on aldosterone levels	Effect on renin levels	Effect on ARR
<b>Medications</b>			
$\beta$ -Adrenergic blockers	↓	↓ ↓	↑ (FP)
Central $\alpha$ -2 agonists (e.g. clonidine and $\alpha$ -methyldopa)	↓	↓ ↓	↑ (FP)
NSAIDs	↓	↓ ↓	↑ (FP)
K <sup>+</sup> -wasting diuretics	→ ↑	↑ ↑	↓ (FN)
K <sup>+</sup> -sparing diuretics	↑	↑ ↑	↓ (FN)
ACE inhibitors	↓	↑ ↑	↓ (FN)
ARBs	↓	↑ ↑	↓ (FN)
Ca <sup>2+</sup> blockers (DHPs)	→ ↓	↑	↓ (FN)
Renin inhibitors	↓	↓ ↑ <sup>a</sup>	↑ (FP) <sup>a</sup> ↓ (FN) <sup>a</sup>
<b>Potassium status</b>			
Hypokalemia	↓	→ ↑	↓ (FN)
Potassium loading	↑	→ ↓	↑ (FP)
<b>Dietary sodium</b>			
Sodium restricted	↑	↑ ↑	↓ (FN)
Sodium loaded	↓	↓ ↓	↑ (FP)
<b>Advancing age</b>			
	↓	↓ ↓	↑ (FP)
<b>Other conditions</b>			
Renal impairment	→	↓	↑ (FP)
PHA-2	→	↓	↑ (FP)
Pregnancy	↑	↑ ↑	↓ (FN)
Renovascular HT	↑	↑ ↑	↓ (FN)
Malignant HT	↑	↑ ↑	↓ (FN)

ACE, Angiotensin-converting enzyme; ARB, angiotensin II type 1 receptor blocker; DHP, dihydropyridine; FP, false positive; FN, false negative; HT, hypertension; NSAID, nonsteroidal antiinflammatory drug; PHA-2, pseudohypoaldosteronism type 2 (familial hypertension and hyperkalemia with normal glomerular filtration rate).

<sup>a</sup> Renin inhibitors lower PRA but raise DRC. This would be expected to result in false-positive ARR levels for renin measured as PRA and false negatives for renin measured as DRC.