



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE  
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia

**Conseguenze metaboliche della  
co-secrezione di aldosterone e cortisolo in  
pazienti affetti da iperaldosteronismo primario**

Relatore: Chiar.mo  
**Prof. Giancarlo Balercia**

Tesi di Laurea di:  
**Montesi Giulio**

A.A.2019/2020

# Indice

|                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Capitolo 1 : Le ghiandole surrenaliche.....                                                  | 2  |
| 1. Anatomia surrenalica .....                                                                | 2  |
| 1.1 Rapporti anatomici .....                                                                 | 2  |
| 1.2 Vascolarizzazione.....                                                                   | 3  |
| 1.3 Innervazione .....                                                                       | 3  |
| 1.4 Anatomia microscopica.....                                                               | 4  |
| 2. Fisiologia .....                                                                          | 6  |
| 2.1 La corticale surrenale .....                                                             | 6  |
| 2.2 La midollare surrenale.....                                                              | 9  |
| Capitolo 2 : L'iperaldosteronismo primario .....                                             | 11 |
| 2.1 Definizione.....                                                                         | 11 |
| 2.2 Epidemiologia.....                                                                       | 12 |
| 2.4 Clinica .....                                                                            | 12 |
| 2.5 Diagnosi .....                                                                           | 13 |
| 2.6 Terapia .....                                                                            | 19 |
| 2.7 Follow up .....                                                                          | 21 |
| Capitolo 3 : Approccio al paziente con possibile diagnosi di ipercortisolismo. ....          | 22 |
| Capitolo 4 : PARTE SPERIMENTALE.....                                                         | 27 |
| 4.1 INTRODUZIONE .....                                                                       | 27 |
| 4.1.1 Conseguenze metaboliche dell'iperaldosteronismo primario. ....                         | 27 |
| 4.1.2 Conseguenze metaboliche dell'ipercortisolismo.....                                     | 28 |
| 4.1.3 Co-secrezione aldosterone-cortisolo nei pazienti con iperaldosteronismo primario. .... | 30 |
| 4.2 OBIETTIVO DELLO STUDIO .....                                                             | 30 |
| 4.3 MATERIALI E METODI .....                                                                 | 31 |
| 4.4 RISULTATI.....                                                                           | 34 |
| 4.5 DISCUSSIONE .....                                                                        | 45 |
| 4.6 CONCLUSIONI .....                                                                        | 50 |
| Bibliografia.....                                                                            | 51 |

# Capitolo 1 : Le ghiandole surrenaliche

## 1. Anatomia surrenalica

I surreni sono due ghiandole endocrine di forma piramidale, a sede retroperitoneale, poste supero-medialmente rispetto al polo superiore del rene destro e sinistro, a guisa di cappuccio o di cappello frigio.

La ghiandola surrenalica destra si trova all'altezza di T11-T12, è situata posteriormente alla vena cava inferiore e in posizione anteromediale e craniale rispetto al polo superiore del rene e all'angolo formato dal lobo destro del fegato e dal pilastro diaframmatico omolaterale. Il surrene sinistro si trova in posizione leggermente più caudale rispetto al controlaterale, all'altezza di T12-L1, postero- lateralmente rispetto all'aorta e al pilastro diaframmatico sinistro e antero-medialmente rispetto al polo superiore del rene. Talvolta, il polo inferiore della ghiandola è contiguo con il peduncolo vascolare renale. Una porzione del pancreas o dei vasi splenici, inoltre, possono trovarsi anteriormente alla ghiandola surrenale sinistra.

Entrambi i surreni sono contenuti nella Fascia di Gerota e circondati da una quota variabile di tessuto adiposo, [1] sono separati dal rene da un setto connettivale lasso, si presentano di colore giallo carico e hanno una consistenza minore rispetto a quella renale. [2] Pesano in media 5-7 g. e misurano 5 cm sul piano verticale, 3 cm sul piano trasversale e 1 cm sul piano anteroposteriore. Normalmente, il surrene destro è più corto e tozzo rispetto al controlaterale. [1]

### 1.1 Rapporti anatomici

Per quanto riguarda i rapporti che le ghiandole surrenaliche contraggono con gli organi circostanti, alla base, ciascun surrene entra in contatto con il polo superiore del rene omolaterale; il surrene di destra, anteriormente, è in rapporto con il fegato e con la vena cava inferiore, da cui è separato dalla retrocavità degli epiploon, e si trova anteriormente al pilastro destro del diaframma, mentre la ghiandola surrenalica di sinistra contrae rapporti con lo stomaco (da cui è separato dalla retrocavità degli epiploon), con la coda del pancreas, con l'arteria splenica, con il margine posteriore della milza e con l'aorta addominale e si trova al davanti del pilastro diaframmatico sinistro. [2]

## **1.2 Vascolarizzazione**

La ghiandola surrenalica è riccamente vascolarizzata: il flusso ematico per g. di tessuto è tra i più elevati dell'organismo. [2] Entrambe le ghiandole hanno una ricca vascolarizzazione arteriosa: l'apporto di sangue è garantito dall'arteria frenica inferiore, da cui si dipartono le arterie surrenaliche superiori, dall'aorta addominale, con le arterie surrenaliche medie, e dall'arteria renale o dall'arteria gonadica da cui originano le arterie surrenaliche inferiori. I rami arteriosi principali formano, insieme a rami accessori, una ricca rete arteriosa perighiandolare sottocapsulare che si distribuisce poi all'interno del parenchima in una fitta rete capillare. [1] Il sangue, attraverso le arterie corticali brevi, giunge a una fitta rete di capillari sinusoidali, quindi si raccoglie in venule che raggiungono centro della sostanza midollare. Dal plesso sottocapsulare, partono inoltre le arterie corticali lunghe che, senza dividersi, raggiungono la zona midollare, che perciò è sede di una doppia irrorazione. [2] Il drenaggio venoso del surrene, invece, dipende dalle vene surrenaliche, una per lato, delle quali la destra è molto corta, ha decorso orizzontale e confluisce direttamente nel versante posterolaterale della vena cava inferiore; a sinistra, invece, la vena surrenalica ha un decorso più lungo, cranio – caudale, e confluisce nella vena renale omolaterale dopo aver ricevuto un ramo anastomotico dalla vena frenica inferiore. Questa differente situazione anatomica ha importanti risvolti non solo sulla diagnostica (si consideri per esempio il sampling venoso) ma sullo stesso approccio chirurgico e sui rischi di sanguinamento intraoperatorio. I vasi linfatici tributari delle ghiandole surrenaliche nascono da sottili capillari che provengono dalla componente corticale e da quella midollare e formano una rete che confluisce nei linfonodi lombo-aortici. [1]

## **1.3 Innervazione**

L'innervazione è costituita da una rete di fibre filiformi proveniente dal plesso celiaco e in parte dal plesso renale. [1]

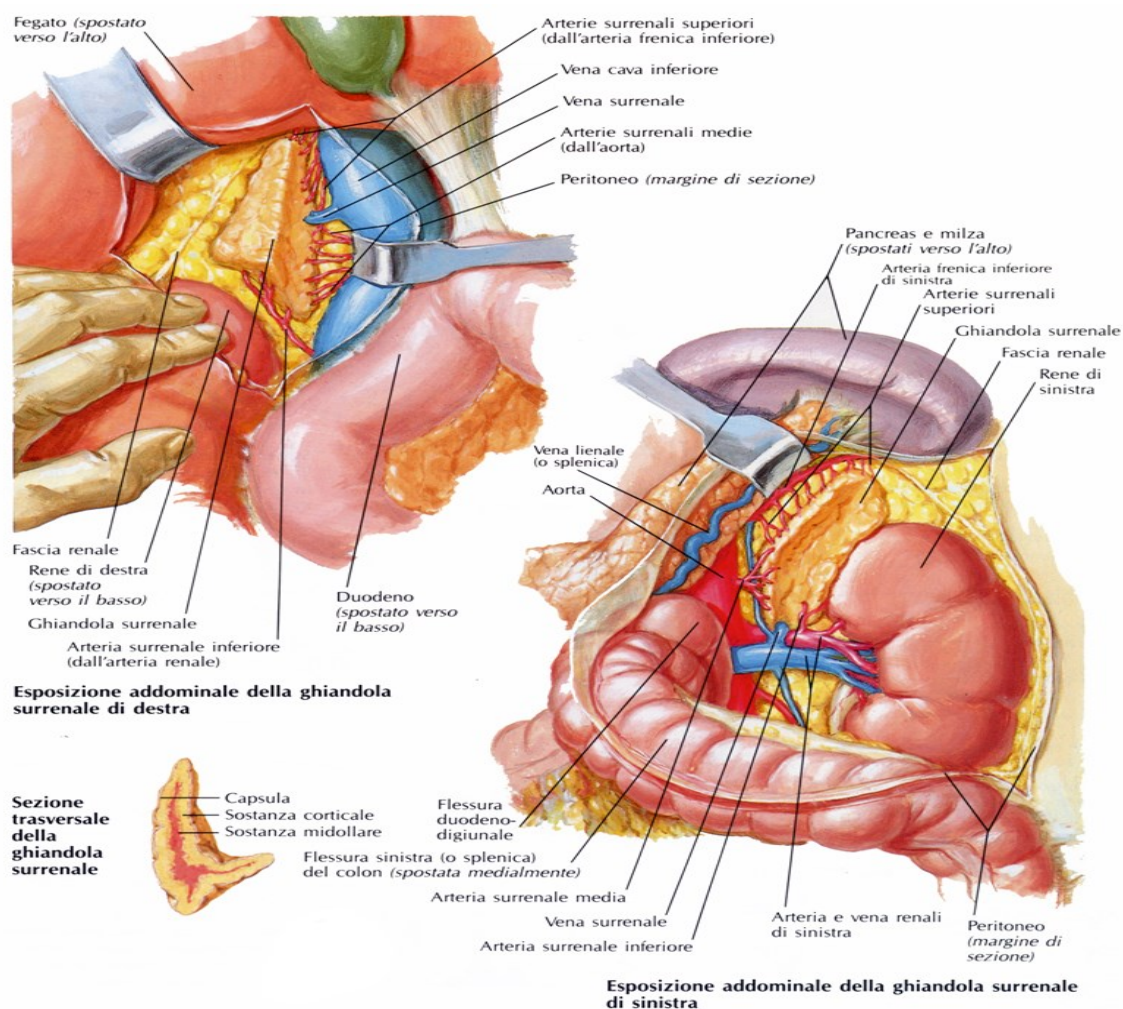


**Figura 1: vascolarizzazione e rapporti delle ghiandole surrenaliche**

## 1.4 Anatomia microscopica

Dal punto di vista anatomico e fisiologico, la ghiandola surrenalica rappresenta l'unione di due componenti ghiandolari altamente differenziate e tra loro separate per derivazione embriologica, caratteristiche istologiche, tipo di secrezione ormonale e funzioni: la corticale e la midollare.

**La sostanza corticale** origina dal mesoderma celomatico, [1] rappresenta l'80-90% del volume della ghiandola ed è costituita da cordoni di cellule epiteliali intramezzati da lamella connettivali e da vasi che modificano la loro disposizione procedendo verso l'interno. Si riconoscono tre zone differenti all'interno della corticale: **la zona glomerulare**, più esterna (con cordoni di cellule disposti ad anse o gomitoli), **la zona fascicolata**, che è una zona intermedia (i cordoni sono disposti a raggiera dalla periferia verso il centro), e **la zona reticolare**, che è la zona più interna (i cordoni sono disposti a raggiera dalla periferia verso il

centro). Tale suddivisione riflette l'organizzazione cellulare diversificata della componente corticale, nelle cui zone si vengono a trovare gruppi di cellule dotati di diversi corredi enzimatici responsabili della produzione di distinti gruppi di ormoni: **i mineralcorticoidi nella zona glomerulare, i glucocorticoidi nella zona fasciculata, gli androgeni nella zona reticolare**

**La sostanza midollare** costituisce il 10-20% del volume del surrene ed è formata da larghe cellule epitelioidi disposte circolarmente o in brevi cordoni connessi strettamente con i capillari e le venule. Sono inoltre presenti neuroni isolati o in piccoli gruppi. Le cellule della midollare vengono definite cromaffini perché contengono, nel citoplasma, granuli costituiti dalle catecolamine che si colorano in bruno con i sali di cromo. La midollare del surrene può essere paragonata a un ganglio del sistema nervoso ortosimpatico modificato, costituito da cellule post-gangliari, prive di dendriti e assoni, che liberano il mediatore rappresentato dalle **catecolamine: adrenalina, noradrenalina e dopamina** in risposta allo stimolo proveniente dalle fibre pre-gangliari dei nervi splanchnici. [2]

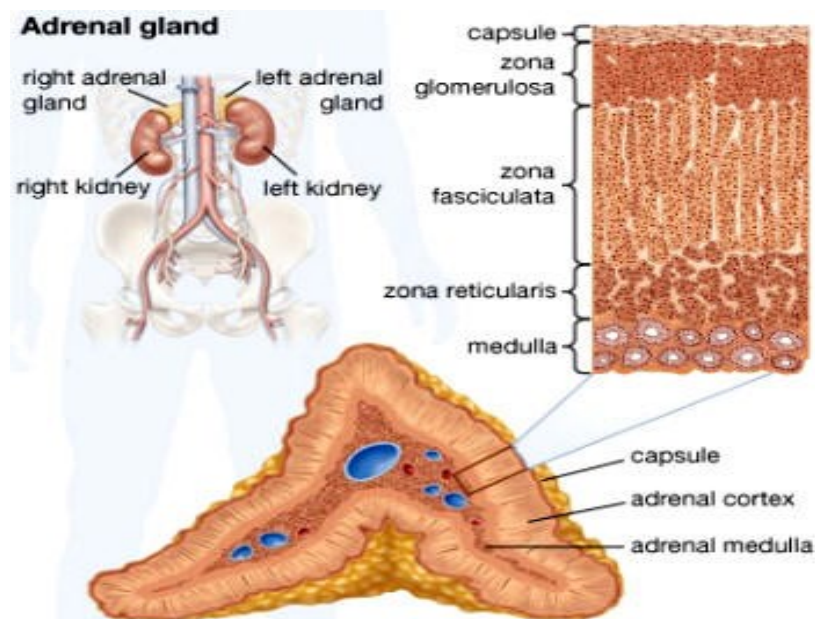


*Figura 2 anatomia microscopica delle ghiandole surrenaliche*

## 2. Fisiologia

### 2.1 La corticale surrenale

La corteccia surrenalica produce diversi tipi di ormoni, che sono i glucocorticoidi, i mineralcorticoidi e gli androgeni, mediante un processo biosintetico detto “steroidogenesi surrenalica”. Questa procede attraverso specifiche reazioni enzimatiche sequenziali, che convertono il comune precursore, il colesterolo, nei diversi steroidi surrenalici.

**La zona glomerulare** è priva dell'attività 17- $\alpha$ -idrossilasica non può sintetizzare il 17- $\alpha$ -idrossiprogesterone e il 17- $\alpha$ -idrossipregnenolone, precursori, rispettivamente, del cortisolo e degli androgeni. Nella zona glomerulare, attraverso tre reazioni successive idrossilazioni in posizione 21, 11 e 18 e l'azione della 18-deidrogenasi, si arriva, invece, alla sintesi dell'aldosterone. [2]

**La secrezione dell'aldosterone è regolata principalmente dal volume dei liquidi corporei tramite il sistema renina angiotensina aldosterone (RAAS).** Una diminuzione del volume intravascolare si traduce in un minor volume di liquidi che raggiunge il rene, quindi a un calo della filtrazione glomerulare che viene percepito, nella macula densa, come riduzione dell'arrivo del sodio e ne deriva il rilascio di renina dalle cellule iuxtaglomerulari. La renina trasforma, tramite clivaggio enzimatico, l'angiotensinogeno in angiotensina-1, che viene convertita dall'enzima di conversione dell'angiotensina (angiotensin converting enzyme ,ACE) in angiotensina 2, che è un peptide che svolge diverse funzioni a livello circolatorio: in primo luogo, come suggerito dal nome, induce vasocostrizione e mantiene la pressione sanguigna, poi induce riassorbimento di sodio (e, di conseguenza, acqua) a livello del tubulo contorto prossimale e dell'ansa di Henle (la maggior parte del sodio è riassorbita prima del tubulo distale, risultando in una diminuzione della perdita di sodio a livello distale), stimola la secrezione di vasopressina, che a sua volta funge da vasocostrittore arteriolare e porta ad un riassorbimento di acqua libera del nefrone distale e stimola la sintesi e la secrezione dell'aldosterone. Quindi, la riduzione del volume plasmatico induce un iperaldosteronismo secondario renina-dipendente che rappresenta un adattamento fisiologico dell'organismo che mira a espandere isotonicamente il volume intravascolare e a mantenere l'omeostasi pressoria. L'aldosterone esplica la sua azione perché attraversa liberamente la membrana cellulare delle cellule target, ovvero le cellule principali del nefrone distale, e interagisce con il recettore citosolico dei mineralcorticoidi. IL complesso aldosterone-recettore migra poi nel nucleo,

dove, attraverso il legame a specifiche sequenze di DNA, influenza l'espressione di geni responsivi ai mineralcorticoidi che determinano un'aumentata produzione dei canali epiteliali del sodio lumenali (ENaC) e la loro traslocazione sulla superficie delle cellule, con conseguente aumento del riassorbimento del sodio. Il riassorbimento del sodio, nel lume del tubulo renale, determina la formazione di un potenziale elettrico negativo, guidando l'escrezione di potassio attraverso i canali del potassio (renal outer medullary potassium channel, ROMK) e di idrogenioni da parte delle cellule intercalari. D'altra parte, l'angiotensina-2 mitiga l'escrezione di potassio minimizzando la quantità di sodio che arriva alle cellule principali, diminuendo l'escrezione di potassio mediata dai canali ROMK e di idrogenioni. L'azione complessiva del sistema RAAS, in un contesto di deplezione del volume intravascolare, è pertanto volta a massimizzare il riassorbimento del sodio e l'aumento del volume e minimizzare la perdita di potassio. Nella condizione opposta di sovraccarico volumetrico, invece, la riduzione dei livelli di angiotensina-2 determina un minor riassorbimento prossimale e un'aumentata escrezione distale di sodio, cui consegue un'aumentata eliminazione di liquidi allo scopo di ripristinare l'euvolemia. È necessario ricordare che ci sono altri secretagoghi che stimolano la secrezione di aldosterone, che sono l'iperkaliemia e l'ACTH, la cui azione si svolge con un meccanismo indipendente dall'angiotensina-2 e che fanno parte delle forme di iperaldosteronismo renina-indipendente. Infatti, anche in condizioni di espansione di volume extracellulare, in cui i livelli di renina e di angiotensina-2 sono soppressi, l'aumento del potassio extracellulare può direttamente stimolare la secrezione di aldosterone dalle cellule della zona glomerulosa. In assenza di angiotensina 2 il riassorbimento di sodio dal tubulo prossimale è diminuito così come l'espansione del volume plasmatico mentre è aumentata l'eliminazione del sodio dal tubulo contorto distale che è la quantità sensibile alla stimolazione dell'aldosterone. A livello delle cellule principali l'escrezione di potassio avviene mediante recettori ROMK dopo che l'interazione fra aldosterone e i suoi recettori ha determinata la formazione di un potenziale elettrico negativo nel lume del tubulo renale. Questa eliminazione di potassio determina una riduzione dello stimolo alla secrezione dell'aldosterone e di fatto rappresenta un meccanismo fisiologico per espellere un carico importante di potassio introdotto con la dieta senza un non necessario aumento del volume plasmatico. [3]

**La zona fascicolata** produce invece gli ormoni glucocorticoidi (cortisolo, corticosterone e 11-deidrocorticosterone). [1] La sintesi del cortisolo procede attraverso la 17- $\alpha$ -idrossilazione del progesterone a 17- $\alpha$ -idrossiprogesterone, quindi la 21-idrossilazione a desossicortisolo e infine la 11-idrossilazione a cortisolo. [2] La sintesi surrenalica dei glucocorticoidi è regolata,

attraverso un meccanismo di feedback negativo, dall'ACTH ipofisario [1], la cui produzione è regolata, a sua volta, dall'interazione a diversi livelli di segnali tra sistema nervoso centrale (SNC), ipotalamo, ipofisi e surrene. A seguito di stimoli differenti, come il ritmo circadiano, lo stress e l'alimentazione, i neurotrasmettitori e i neuropeptidi cerebrali inducono il rilascio di ormoni ipotalamici, principalmente il CRH, che, attraverso il circolo portale ipofisario, raggiungono la ghiandola pituitaria dove viene stimolata la sintesi e la secrezione di ACTH che a sua volta stimola la sintesi e la secrezione di cortisolo da parte della corticale surrenalica. I livelli di cortisolo, attraverso un meccanismo di feedback negativo, inibiscono la sintesi e la secrezione di CRH a livello ipotalamico e di ACTH a livello ipofisario, limitando, in questo modo, la loro stessa produzione. I glucocorticoidi esplicano il loro effetto principalmente attraverso l'interazione con specifici recettori citosolici che li veicolano all'interno del nucleo cellulare, dove il legame del complesso glucocorticoide-recettore a sequenze specifiche del DNA, induce l'espressione di specifici geni. Nell'organismo, i glucocorticoidi agiscono a livello di numerosi tessuti producendo effetti diversi: a livello del fegato stimolano la gluconeogenesi, la sintesi e il deposito di glicogeno; riducono la captazione periferica del glucosio a livello del tessuto adiposo dove determinano un effetto lipolitico che porta al rilascio di glicerolo e acidi grassi liberi; a livello muscolare gli effetti sono prevalentemente catabolici, con ridotta sintesi proteica e aumentato rilascio di aminoacidi, e diminuzione della captazione del glucosio; esercitano un effetto inibitorio sui fibroblasti che porta alla perdita del collagene e del tessuto connettivo; a livello osseo inibiscono la neoformazione ossea e stimolano il riassorbimento osseo. Durante l'infanzia e l'adolescenza, un eccesso di glucocorticoidi esercita un effetto negativo sulla crescita staturale, sia come risultato dell'azione diretta di questi ormoni a livello osseo, che per la ridotta produzione di GH e, di conseguenza, di somatomedina (insulin-like growth factor 1, IGF-1). I glucocorticoidi, inoltre, influenzano in senso inibitorio molteplici aspetti della risposta infiammatoria/immunitaria, aumentano la gittata cardiaca e il tono vascolare (possono causare, quando in eccesso, ipertensione arteriosa). Il ruolo dei glucocorticoidi sul sistema nervoso centrale (SNC) non è del tutto conosciuto, ma un eccesso o un difetto di questi ormoni si accompagna a profonde modificazioni delle funzioni cognitive e comportamentali. La funzione gonadica è influenzata da stati di ipercortisolismo, principalmente a livello centrale per inibizione della sintesi delle gonadotropine. [2]

Infine, la **zona reticolare**, produce androgeni per la maggior parte rappresentati da androstenedione, deidroepiandrosterone (DHEA) e deidroepiandrosterone solfato (DHEA-S), e una piccola quota di testosterone. [1] Gli androgeni prodotti dal surrene, anche detti

“androgeni deboli”, svolgono soprattutto la funzione di precursori degli androgeni più potenti, ovvero testosterone e diidrotestosterone (DHT). Nel maschio, solo il 5% del testosterone deriva dalla conversione dell'androstenedione surrenalico, mentre nella femmina il surrene contribuisce a circa il 60 % del testosterone e 50% del DHT durante la fase follicolare del ciclo mestruale; durante il periodo ovulatorio, il surrene è responsabile della produzione del 40% del testosterone, mentre il rimanente è di origine ovarica. [2]

## **2.2 La midollare surrenale**

La midollare del surrene deriva dalle cellule della cresta neurale, le stesse cellule embrionali (simpatogoni) da cui originano le cellule gangliari del simpatico, e contiene voluminose cellule polimorfe, dette cromaffini o cromofile. Queste cellule, che si possono rinvenire anche nei paragangli, secernono essenzialmente due tipi di catecolamine: adrenalina (o epinefrina) e il suo precursore, la noradrenalina (o norepinefrina). [1] L'adrenalina è sintetizzata principalmente dalla midollare del surrene, dove rappresenta l'80% degli ormoni prodotti, mentre la noradrenalina è prodotta in larga misura nel SNC e nelle terminazioni periferiche del sistema nervoso simpatico. La sintesi delle catecolamine parte dalla tirosina, che può essere di origine alimentare o derivare per sintesi epatica dalla fenilalanina e che, dopo il suo ingresso nelle cellule cromaffini o nei neuroni, viene convertita a idrossifenilalanina (DOPA) a opera di una tirosina idrossilasi. La DOPA è sua volta trasformata in dopamina per azione della DOPA-decarbossilasi, mentre la noradrenalina ha origine dalla dopamina per azione della dopamina-beta-idrossilasi e viene successivamente trasformata in adrenalina a opera di una metiltransferasi. [2] La secrezione delle catecolamine è regolata da fibre nervose colinergiche pre-gangliari appartenenti sistema nervoso autonomo. Le situazioni di stress, fisico o psicologico, determinano un repentino aumento dei livelli di catecolamine, ma anche traumi fisici a carico del SNC possono determinare livelli estremamente alti di catecolamine a causa di stimolazione e/o danno dei nuclei del tronco encefalico. Sia la noradrenalina che l'adrenalina hanno un'azione ipertensivante, con la differenza che noradrenalina, per la sua maggiore affinità verso i recettori  $\alpha$  dei vasi, determina principalmente vasocostrizione e quindi aumento della pressione diastolica; l'adrenalina invece, per la sua maggiore affinità nei confronti dei recettori  $\beta$ , esplica la sua azione principalmente a livello cardiaco, determinando un effetto inotropo e cronotropo positivo, con aumento della gittata cardiaca e aumento della pressione sistolica. [1] Le catecolamine hanno altri effetti sulla muscolatura liscia, che includono il rilassamento e la contrazione del miometrio, il rilassamento della muscolatura

liscia dell'intestino e della vescica, la contrazione degli sfinteri vescicale e intestinale, il rilassamento della muscolatura liscia tracheale e la dilatazione della pupilla. Dal punto di vista metabolico, le catecolamine incrementano il consumo di ossigeno e la termogenesi e stimolano la glicogenolisi (con conseguente maggiore biodisponibilità di carboidrati) e la lipolisi con rilascio di glicerolo e acidi grassi. Infine, a livello ormonale le catecolamine determinano un'attivazione del sistema RAAS stimolando la produzione di renina con meccanismo beta-recettore-mediato e svolgono un effetto di inibizione della secrezione di insulina e glucagone da parte del pancreas. [2]

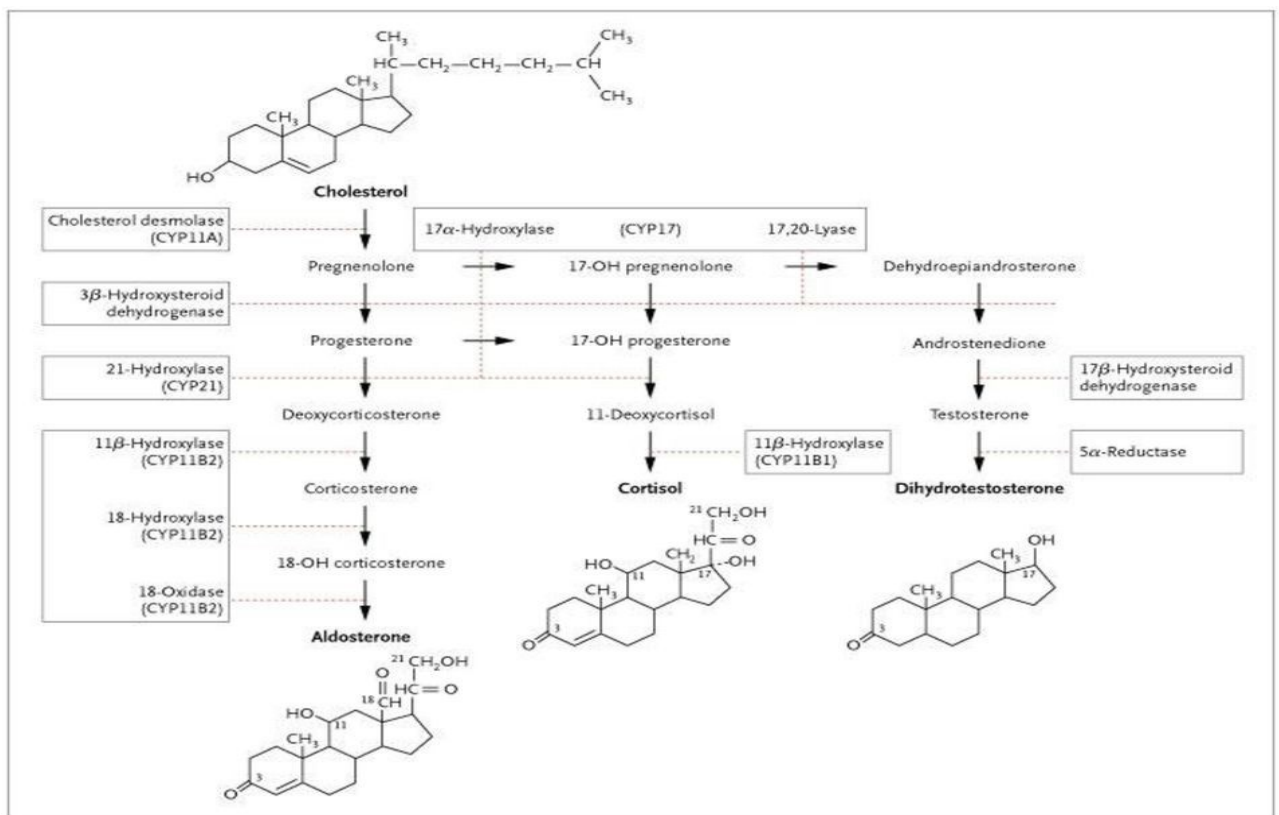


**Figura 3 Biosintesi degli steroidi surrenalici di origine corticale**

## Capitolo 2 : L'iperaldosteronismo primario

### 2.1 Definizione

L'iperaldosteronismo primario è una condizione caratterizzata da una iperproduzione di aldosterone da parte della ghiandola surrenalica che è indipendente dalla secrezione di renina e angiotensina 2 e dallo stato salino. Quindi, con il termine iperaldosteronismo primario, intendiamo qualunque situazione in cui l'aldosterone venga secreto autonomamente e indipendentemente dai suoi regolatori principali e in maniera inappropriata rispetto allo stato volumetrico dell'organismo. L'alterazione iniziale in una condizione di iperaldosteronismo primario è lo sviluppo di uno o più foci di secrezione autonoma di aldosterone in una o entrambe le ghiandole surrenaliche. [3] Recenti studi anatomopatologici hanno dimostrato che la definizione dell'iperaldosteronismo primario è ampia e include, oltre all'adenoma surrenalico e all'iperplasia surrenalica bilaterale, anche gli adenomi bilaterali, l'iperplasia unilaterale, micronoduli e cellule microscopiche iperproducenti aldosterone in varia combinazione. [4]

Esistono forme sporadiche di iperaldosteronismo primario (che sono le più frequenti) e forme familiari (molto più rare). Le forme familiari, nella maggior parte dei casi, sono caratterizzate da trasmissione autosomica dominante e se ne distinguono principalmente quattro forme, chiamate iperaldosteronismo familiare da tipo 1-4 (FH I- FH IV). Nei pazienti giovani, con una diagnosi di iperaldosteronismo primario, specialmente quelli che hanno una storia di ipertensione arteriosa e/o ictus in giovane età (ad esempio meno di 40 anni) dovrebbero essere confermate o escluse forme familiari di iperaldosteronismo primario. [5]

Numerosi studi hanno permesso una buona comprensione della patogenesi dell'iperaldosteronismo primario sporadico e hanno rivelato un'alta frequenza, nel genoma delle cellule degli adenomi sporadici, delle mutazioni che troviamo anche nelle forme familiari. [4]. La mutazione somatica evidenziata più frequentemente negli adenomi sporadici è la mutazione con guadagno di funzione di un gene che codifica per un canale del potassio (potassium voltage-gated channel subfamily J member 5, KCNJ5) che troviamo anche nella FH 3. In ogni caso va sottolineato che la routinaria ricerca delle mutazioni somatiche negli iperaldosteronismi sporadici è attualmente confinata a scopi di ricerca, ma potrebbe avere un impatto clinico importante in futuro. [3]

## 2.2 Epidemiologia

L'iperaldosteronismo primario è la causa più comune di ipertensione di origine endocrina, sebbene tenda ad essere sotto diagnosticato a causa dell'erronea convinzione che rappresenti un disturbo raro. [5]

La prevalenza dell'iperaldosteronismo varia a seconda della popolazione esaminata e dei criteri utilizzati per diagnosticarlo. Nei soggetti con ipertensione arteriosa esaminati in centri specializzati, la prevalenza aumenta all'aumentare della severità dell'ipertensione arteriosa. In particolare, nello stadio 1 (pressione sistolica compresa fra 140-159 mmHg e pressione diastolica compresa fra 90-99 mmHg) la prevalenza è del 2%, nello stadio 2 (pressione sistolica compresa fra 160-179 mmHg e pressione diastolica compresa fra 100-109 mmHg) la prevalenza è dell'8%, nello stadio 3 (pressione sistolica  $\geq 180$  mmHg e pressione diastolica  $\geq 110$  mmHg) la prevalenza è del 13%. Nei soggetti con ipertensione arteriosa la prevalenza globale è del 6,1 %, ma nei pazienti con ipertensione resistente al trattamento (definita come pressione sistolica  $> 140$  mmHg e pressione diastolica  $> 90$  mmHg nonostante il trattamento con 3 farmaci antipertensivi, di cui uno è un diuretico) raggiunge il 17-23%. Nei soggetti con ipertensione e incidentaloma surrenalico, definito come massa surrenalica individuata incidentalmente durante un imaging effettuato per indagini che non riguardano primariamente il surrene, la prevalenza mediana è del 2%. [6]

Come già detto, nonostante l'elevata prevalenza di iperaldosteronismo nella popolazione dei pazienti ipertesi, purtroppo solo l' 1-2 % di questi viene sottoposto a screening. Da questi dati emerge la necessità di mettere in campo azioni che permettano di aumentare la conoscenza dell'alta prevalenza di iperaldosteronismo primario e l'aumento di strategie di screening basati su semplici algoritmi. [5]

## 2.4 Clinica

Dal punto di vista fisiopatologico, gli effetti deleteri dell'iperaldosteronismo sono mediati da un'eccessiva attivazione del recettore dei mineralcorticoidi che determina espansione del volume plasmatico, ipertensione arteriosa, ipokaliemia e alcalosi metabolica. In assenza di

angiotensina 2, il riassorbimento di sodio dal tubulo contorto prossimale è diminuito, per cui un quantitativo importante di sodio arriva al nefrone distale che è sensibile all'azione dell'aldosterone. In questo contesto, l'interazione fra l'aldosterone, prodotto in eccesso, e i recettori dei mineralcorticoidi, sulle cellule principali del tubulo distale, aumenta il riassorbimento di sodio mediato dal canale ENaC e, di conseguenza, per mantenere l'elettroneutralità del lume tubulare, aumenta l'escrezione di potassio e idrogenioni. L'aumentato riassorbimento di sodio, seguito da un pari riassorbimento di acqua, risulta in un'espansione isotonica del volume plasmatico che porta a iperfiltrazione glomerulare e a un circolo vizioso autolimitante di riassorbimento di sodio con conseguente espansione del volume plasmatico. In netto contrasto con il fisiologico iperaldosteronismo che si verifica nella deplezione di volume, dove l'escrezione di potassio urinaria è minima, la fisiopatologia dell'iperaldosteronismo primario è caratterizzata da una diminuzione dell'angiotensina 2 e perciò da una aumentata escrezione di potassio e idrogenioni che esita in ipokaliemia e alcalosi metabolica. Inoltre, mentre alti livelli di aldosterone sono fisiologici nell'ambito di una condizione di ipovolemia, gli stessi alti livelli di aldosterone possono essere patologici in una condizione di espansione del volume plasmatico oppure di aumento del volume totale corporeo. Questo determina danno d'organo, come malattia cardiaca (malattia coronarica, ipertrofia ventricolare destra e scompenso cardiaco, fibrillazione atriale), ictus, alterazione della funzione renale (declino della funzione glomerulare e/ o albuminuria), complicanze metaboliche, come sindrome metabolica/diabete e alterazioni scheletriche (diminuzione della densità ossea e maggior rischio di fratture). [3]

## 2.5 Diagnosi

La diagnosi di iperaldosteronismo primario richiede la dimostrazione di livelli di renina bassi o non misurabili e una concentrazione di aldosterone plasmatico inappropriatamente alta rispetto allo stato del sodio e volume plasmatico. Nell'interpretazione dei valori plasmatici di aldosterone (plasma aldosterone concentration, PAC) va considerato che ci sono casi di iperaldosteronismo primario in cui i livelli di aldosterone sono normali e dove l'unica evidenza a sostegno della diagnosi è la bassa renina. Infatti, data la ben nota pulsilità dell'aldosterone, anche nei pazienti con iperaldosteronismo primario la concentrazione plasmatica di aldosterone potrebbe risultare erroneamente normale quando misurato in corrispondenza del nadir. La misurazione diretta della concentrazione della renina attiva

(direct renin concentration DRC, espressa in mUI /l o pg/ml), basata sulla chemiluminescenza, sta progressivamente sostituendo il calcolo dell'attività reninica plasmatica (plasma renin activity, PRA, misurata in ng/mg/h), che esprime la quantità di angiotensina 1 prodotta nel tempo, per i suoi numerosi vantaggi, quali la possibilità di conservare il campione di sangue a temperatura ambiente (e non refrigerato) prima dell'analisi, la precisione in caso di bassi livelli di renina, il basso costo e la velocità nel fornire i risultati. Il rapporto aldosterone/renina (aldosterone renin ratio , ARR) si è dimostrato superiore rispetto alla misurazione isolata di PRA, DRC e PAC nell'identificazione dell'iperaldosteronismo primario (con ottima sensibilità, accuratezza e riproducibilità fra pazienti, quando effettuata in condizioni standardizzate) e se ne raccomanda l'utilizzo nella valutazione iniziale dei casi sospetti.

Ricordiamo, inoltre, che l'ipokaliemia (intesa come valori plasmatici di potassio inferiori a 3,5 mEq/L), sia spontanea che indotta da diuretici, in passato considerata una tipica forma di presentazione dell'iperaldosteronismo primario, viene riscontrata solo nel 9-37% dei casi. La normokaliemia, pertanto, non esclude l'iperaldosteronismo primario. Tuttavia, quando l'ipokaliemia è presente e non è altrimenti spiegabile (ad esempio con diarrea o vomito), è fortemente suggestiva della presenza di iperaldosteronismo primario, sebbene, date le premesse, non sia considerabile un parametro né sensibile né specifico.

La misura del Na<sup>+</sup> e del K<sup>+</sup> nelle urine delle 24 ore è un complemento fondamentale per l'appropriata interpretazione dei valori di PAC, PRA e ARR. Livelli di potassio nelle urine delle 24 ore elevati rispetto a quelli rilevati a livello plasmatico (ad esempio potassio urinario > 30 mEq /24 h in un paziente con livelli di potassio plasmatico < 3,5 mEq/L) indicano un'esposizione dei tubuli renali a livelli di aldosterone eccessivi, soprattutto se in presenza di valori di sodio urinario < 200-300 mEq/24 h. [5]

Le persone da sottoporre a screening per iperaldosteronismo mediante ARR sono:

- Pazienti con livelli pressori maggiori di 150/100 mmHg in 3 misurazioni effettuate in giorni differenti
- Pazienti con pressione arteriosa superiore a 140/90 mmHg resistente a 3 antiipertensivi convenzionali (inclusi i diuretici)
- Pazienti in controllo pressorio (PA 140-90 mmHg) ottenuto con 4 o più antipertensivi
- Pazienti con ipertensione e ipokaliemia spontanea o indotta da diuretico

- Pazienti con ipertensione e incidentaloma surrenalico
- Pazienti con ipertensione e OSAS
- Ipertensione e storia familiare di esordio precoce di ipertensione e /o incidenti cerebrovascolari in giovane età (< di 40 anni)
- Parenti di primo grado di pazienti con iperaldosteronismo primario [6]

Al momento della valutazione dell'ARR il prelievo deve essere eseguito in condizioni standardizzate e il risultato deve essere interpretato tenendo in considerazione eventuali fattori confondenti. Ad esempio, i livelli di renina e aldosterone seguono un ritmo circadiano, mostrandosi maggiori alla mattina al risveglio, mentre la postura influenza sia PAC che PRA. [5] Si raccomanda, pertanto, di eseguire il prelievo almeno dopo 2 ore dopo il risveglio e dopo aver mantenuto la posizione seduta per almeno 5-15 minuti. Va detto, inoltre, che l'ipokaliemia marcata (< 3 mEq/L) dovrebbe essere identificata e corretta prima del test, perché abbassa la PAC. I pazienti non dovrebbero modificare la propria dieta prima del test, poiché una restrizione dell'introito salino alza i livelli di aldosterone e renina, mentre un aumento del sale porta ad abbassare i livelli di aldosterone e renina alterando i risultati dell'ARR. [6] Le donne in età fertile, specialmente nella fase luteale del ciclo ovarico, e quelle in post-menopausa che assumono terapia ormonale sostitutiva, possono mostrare risultati falsi positivi dell'ARR per un rialzo maggiore della concentrazione dell'aldosterone rispetto alla renina. Condizioni patologiche, come l'ipertensione nefrovascolare, aumentano sia i livelli di aldosterone che di renina e quindi alterano il rapporto ARR.

Molti farmaci comunemente usati, come i FANS, i corticosteroidi, i farmaci contenenti estrogeni, gli antistaminici e gli inibitori della ricaptazione della serotonina alterano i livelli di aldosterone e/o renina e quindi dovrebbero essere sospesi prima di un'eventuale valutazione. Anche diversi farmaci antipertensivi alterano il rapporto ARR: i diuretici stimolano la secrezione della renina più che dell'aldosterone, perciò causano risultati falsi negativi nella valutazione dell'ARR. Gli ACE-inibitori e i sartani aumentano la renina e abbassano la concentrazione di aldosterone e quindi riducono l'ARR, mentre i beta bloccanti diminuiscono la renina e aumentano il rapporto dell'ARR. Per questi motivi, i diuretici, gli ACE-inibitori, i beta bloccanti e i sartani dovrebbero essere sospesi prima della valutazione per almeno 4 settimane. Tuttavia, la sospensione completa di tutti i farmaci antipertensivi non è raccomandata perché può esporre al rischio di valori non controllati di pressione arteriosa e/o ipokaliemia. I bloccanti del canale del calcio diidropiridinici e/o gli alfa-litici come la

doxazosina possono essere utilizzati per mantenere il controllo della pressione per 4-6 settimane prima di misurare l'ARR, dal momento che influenzano in maniera minima la renina e la concentrazione di aldosterone. Nella pratica clinica, anche il verapamil e il diltiazem possono essere utilizzati come antipertensivi durante lo screening dell'iperaldosteronismo primario senza alterarne la sensibilità. Comunque, nei pazienti con una marcata ipokaliemia che hanno già un intervallo QT lungo, questi agenti possono precipitare un blocco atrioventricolare, perciò le ultime linee guida raccomandano di raggiungere una normokaliemia con la supplementazione di KCL prima di somministrare i bloccanti del canale del calcio. Gli antagonisti del recettore dell'aldosterone (aldosterone receptor antagonists, MRAs) sono gli agenti più efficaci per il controllo della pressione arteriosa e dell'ipokaliemia nei pazienti con iperaldosteronismo primario, in particolare nei pazienti con ipertensione resistente al trattamento. La sospensione degli MRAs può esporre questi pazienti al pericolo di una ipertensione non controllata e/o di una severa ipokaliemia. La diagnosi di iperaldosteronismo primario può essere comunque formulata nei pazienti in trattamento con MRAs in presenza di elevate concentrazioni di PAC e ridotti livelli di PRA.

Nella comune pratica clinica è frequente classificare i risultati dell'ARR come positivi o negativi, ma questa semplificazione non tiene conto delle informazioni quantitative importanti che l'ARR fornisce. Studi prospettici indicano che le informazioni quantitative date dall'ARR dovrebbero essere prese in considerazione nelle decisioni cliniche. Questi dati quantitativi potrebbero fornire un'alta accuratezza diagnostica nell'identificazione delle forme di iperaldosteronismo primario trattabili chirurgicamente e potrebbero permettere quindi di destinare direttamente al cateterismo delle vene surrenaliche (adrenal vein sampling, AVS) pazienti con un alto valore di ARR (ad esempio  $> 50 \text{ ng/ mUI}$ ) saltando i test di conferma. [5]

Visto che la diagnosi di iperaldosteronismo è fortemente dipendente dalla concentrazione della renina plasmatica, il saggio della renina dovrebbe essere sufficientemente sensibile da misurare livelli bassi di renina e in particolare a partire da valori di  $0.2 \text{ ng/ml/h}$  per PRA e di  $2 \text{ mUI/l}$  per DRC. Un limite dell'ARR è rappresentato dalla presenza di livelli molto bassi di renina plasmatica, (ad esempio  $\text{PRA} = 0,1 \text{ ng/ml/min}$ ), che potrebbero determinare un valore molto alto dell'ARR anche con un valore dell'aldosterone basso (per esempio di  $4 \text{ ng/dl}$  oppure di  $110 \text{ pmol/l}$ ) che non sottende una condizione di vero iperaldosteronismo primario. Per ovviare a questo problema, il cutoff per considerare lo screening per iperaldosteronismo

primario positivo è quello di un ARR maggiore di 30 in un contesto di renina soppressa e di concentrazione di aldosterone maggiore di 15 ng/dl. [3]

Si raccomanda, successivamente, di sottoporre i pazienti positivi al test ARR, a uno o più test di conferma. Questi sono esami che vengono utilizzati per confermare una condizione di iperaldosteronismo e sono considerati positivi quando la secrezione dell'aldosterone non è responsiva alle manovre che perturbano la secrezione di renina. Attualmente, i test di conferma utilizzati sono il test del carico orale di sodio, il test di infusione salina, il test della somministrazione di captopril (captopril challenge test, CCT) e il test con fludrocortisone. [5]

La letteratura corrente non identifica uno specifico test come gold standard per la diagnosi di iperaldosteronismo primario.

Il test del carico orale di sodio prevede che il paziente debba aumentare il proprio introito di sodio di 6 g in 3 giorni. I livelli di aldosterone vengono quindi misurati nelle urine delle 24 ore. Una diagnosi di iperaldosteronismo è improbabile quando i valori di aldosterone urinario siano  $< 10 \mu\text{g}/24 \text{ ore}$ , in assenza di malattia renale (dove l'iperaldosteronismo primario potrebbe coesistere con livelli bassi di aldosterone urinario). Valori di aldosterone urinario  $> 12 - 14 \mu\text{g}/24 \text{ ore}$  sono con più probabilità indicativi di iperaldosteronismo primario. Questo test andrebbe evitato nei pazienti con severa ipertensione non controllata, insufficienza renale, aritmia cardiaca e severa ipokaliemia.

Il test di infusione salina, invece, prevede che i pazienti mantengano la posizione supina almeno un'ora prima e durante l'infusione di 2 litri di soluzione fisiologica allo 0,9% in 4 ore, cominciando dalle ore 8,30 -9,00 di mattina. I prelievi per PRA, PAC, cortisolo e K vengono effettuati al tempo zero e dopo 4 ore, con controlli di pressione sanguigna e frequenza cardiaca durante tutto il test. Livelli post infusione di aldosterone  $< 5 \text{ ng/ dl}$  ( $140 \text{ pmol/l}$ ) rendono la diagnosi di iperaldosteronismo primario improbabile mentre livelli  $> 10 \text{ ng/ dl}$  indicano un probabile iperaldosteronismo primario. Questo test non può essere effettuato nei pazienti con ipertensione severa e non controllata, insufficienza renale, aritmia cardiaca e severa ipokaliemia.

Il CCT prevede che il paziente riceva 25- 50 mg di captopril per via orale dopo essere stato seduto oppure in piedi per almeno un'ora. Il prelievo di sangue viene utilizzato per la misurazione di PRA, PAC e cortisolo al tempo zero e a 1 o 2 ore dopo la somministrazione del captopril. L'aldosterone plasmatico è normalmente soppresso in misura superiore al 30% .

Nei pazienti con iperaldosteronismo primario questo rimane elevato e la PRA rimane soppressa. Tuttavia, deve essere posta attenzione ai falsi negativi e ai risultati equivoci.

Per quanto riguarda il test con fludrocortisone, il paziente riceve 0,1 mg di fludrocortisone orale ogni 6 ore per 4 giorni, insieme a supplementi di K a lento rilascio ogni 6 ore (per mantenere il potassio plasmatico al valore di 4 mEq /L), supplementi di sodio a lento e una dieta con un quantità di sodio sufficiente a mantenere una sodiuria  $> 3$  mmol/kg . Al 4° giorno PAC e PRA sono misurati alle 10 della mattina, con il paziente nella posizione seduta, e il cortisolo plasmatico viene misurato alle ore 7 e alle ore 10 di mattina. Un valore di aldosterone plasmatico  $> 6$  ng /dl alle ore 10 del 4° giorno conferma la diagnosi di iperaldosteronismo primario, mentre livelli di PRA  $< 1$  ng/ml/h e cortisolemia alle ore 10 inferiore a quella delle ore 7 servono a escludere effetti confondenti da parte dell'ACTH. [6]

Attualmente, un test di imaging, preferibilmente la tomografia computerizzata (TC), è raccomandato in tutti i pazienti con una diagnosi di iperaldosteronismo primario, per escludere la presenza di un carcinoma iperproducente aldosterone e per identificare con precisione il drenaggio venoso surrenalico in vista dell'attuazione di una manovra di AVS. L'imaging della ghiandola surrenalica, sia TC che RMN, hanno una bassa accuratezza nel predire la forma unilaterale di malattia e non sono sufficienti per prendere una decisione terapeutica. La TC fornisce risultati concordanti con l'AVS, effettuato sotto la stimolazione dell'ACTH, solo nella metà dei casi. L'AVS mostra una malattia unilaterale nel 22% dei casi TC negativi mentre la TC evidenzia una massa unilaterale nel 25% con malattia bilaterale all'AVS. Sulla base delle sole immagini TC, circa 1/5 dei pazienti sarebbero esclusi dalla surrenalectomia curativa, mentre 1 /4 dei pazienti sarebbe sottoposto ad un intervento di surrenalectomia non necessario. [5]

Si raccomanda pertanto, quando il trattamento chirurgico è fattibile e accettato dal paziente, di sottoporre il paziente ad una procedura di AVS, effettuata da un radiologo esperto, per identificare se la malattia è mono o bilaterale. I pazienti giovani, con età  $< 35$  anni, con ipokaliemia spontanea, marcata concentrazione di aldosterone plasmatica e malattia surrenalica unilaterale con evidenti caratteristiche radiologiche TC di adenoma surrenalico non hanno bisogno dell'AVS prima di procedere ad una surrenalectomia unilaterale. [6]

L'AVS è una metodica tecnicamente impegnativa e dovrebbe essere eseguita in un centro di riferimento di terzo livello, da un radiologo interventista esperto, usando protocolli e criteri di interpretazione standardizzati. [4]

Prima di sottoporre il paziente alla procedura, l'eventuale presenza di ipokaliemia dovrebbe essere corretta con supplementi di potassio. L'AVS può essere eseguita con una cateterizzazione bilaterale simultanea o sequenziale delle vene surrenaliche e di una vena periferica, di solito la vena cava inferiore. Inoltre, la cateterizzazione può essere fatta con o senza stimolo con ACTH. La misura della concentrazione del cortisolo plasmatico (plasma cortisol concentration ,PCC) nella vena surrenalica e nella vena cava inferiore è utilizzata per calcolare l'indice di selettività che conferma la giusta collocazione del catetere durante il campionamento. Il momento tecnicamente più difficoltoso dell'AVS è la cateterizzazione della vena surrenalica destra, che rispetto alla controlaterale appare più corta e presenta un ingresso comune con la vena accessoria epatica inferiore nel 15% dei casi. Fondamentale, per la distinzione tra malattia unilaterale e bilaterale, è l'indice di lateralizzazione. L'indice di lateralizzazione è il rapporto fra la concentrazione di aldosterone/cortisolo in una vena surrenalica e la concentrazione di aldosterone/cortisolo nella vena surrenalica controlaterale ed è considerato positivo quando superiore di 2 al basale e di 4 dopo stimolazione con ACTH. La surrenalectomia effettuata dopo indicazione AVS di malattia unilaterale permette una risoluzione biochimica nel 98-100% dei casi, una risoluzione dell'ipertensione nel 42% dei casi e determina una regressione dell'ipertrofia ventricolare sinistra. [5]

## 2.6 Terapia

Si raccomanda l'intervento di surrenalectomia unilaterale laparoscopica nei pazienti con un documentato iperaldosteronismo primario unilaterale. La tecnica chirurgica è quella della surrenalectomia laparoscopica per via transperitoneale o retroperitoneale. L'approccio a cielo aperto è preferibile nei casi di carcinoma iperproducente aldosterone. [5] Se il paziente è positivo allo screening per iperaldosteronismo con ARR ma non candidabile alla chirurgia, si raccomanda un trattamento medico che includa MRAs. Nei pazienti con iperaldosteronismo e malattia bilaterale, si raccomanda di iniziare un trattamento medico con MRAs. [6] Quindi, i MRAs, da soli o in combinazione con altri agenti ipertensivi, sono raccomandati al fine di normalizzare la pressione arteriosa e ottenere una normokaliemia nei pazienti con iperaldosteronismo primario con malattia bilaterale e in quelli non candidabili alla surrenalectomia. Spironolattone, Canrenoato di potassio e Eplerenone (che è più selettivo ma più debole e con durata d'azione più breve rispetto agli altri) sono farmaci raccomandati. Si raccomanda, inoltre, di somministrarli alla più alta dose tollerata giornaliera (da 12,5 a 100

mg, di solito 25-50 mg) per raggiungere un buon controllo della pressione arteriosa e la normokaliemia, visto che un inadeguato dosaggio può portare ad una malattia non controllata e un aumento del rischio cardiovascolare. I livelli di renina plasmatica possono essere utilizzati come guida per un appropriato dosaggio dei MRAs nei pazienti che non hanno la pressione arteriosa e/o il potassio nel giusto target: livelli di renina bassi o non dosabili sono una valida indicazione che l'iperaldosteronismo non è controllato. Istruire i pazienti con iperaldosteronismo primario a diminuire l'introito di sodio è uno step fondamentale perché diminuisce la perdita renale di potassio e permette di utilizzare una dose minore di antagonista del recettore dell'aldosterone. L'associazione dei MRAs con Amiloride e Triamterene è una valida strategia per ridurre i MRAs nei pazienti che presentano effetti collaterali come ginecomastia e disfunzione erettile. Per quanto riguarda le forme familiari, ad eccezione della forma familiare di tipo 1 che risponde ad una bassa dose (0,5-1 mg) di desametasone e la forma familiare di tipo 3 che può essere trattata con surrenalectomia bilaterale, tutte le altre forme sono trattate con MRAs usando la pressione sanguigna e il dosaggio della renina plasmatica come indicatori per modificarne il dosaggio. [5]

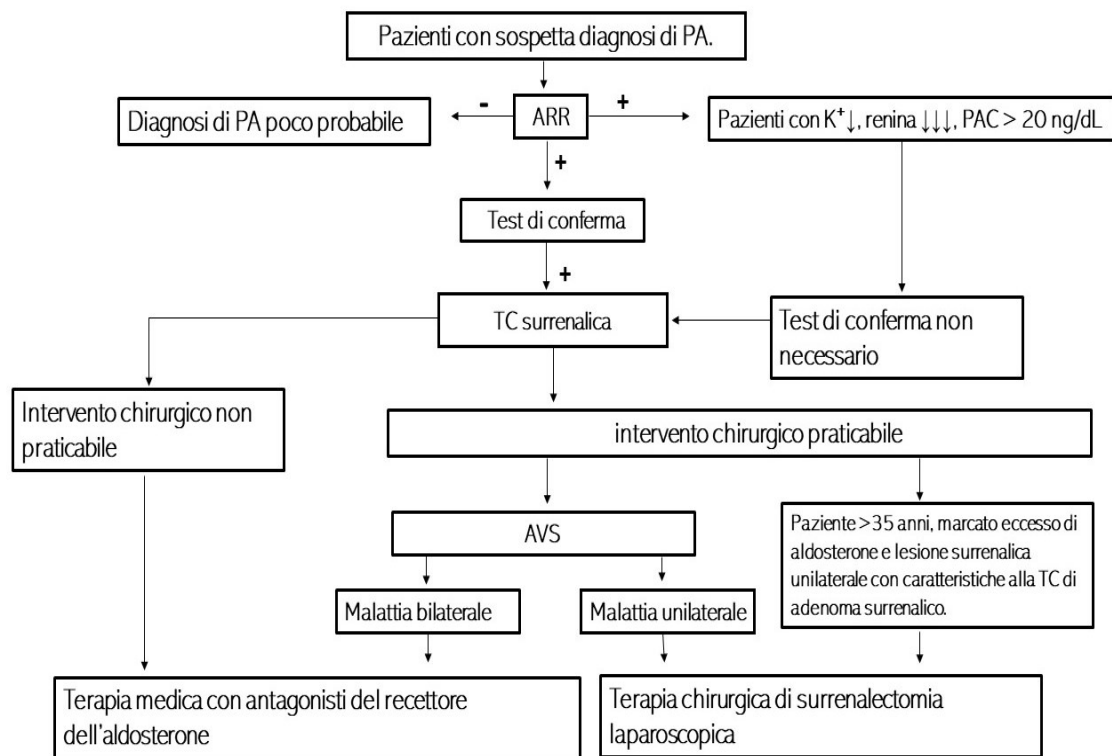


**Figura 4. Algoritmo per identificazione, conferma diagnostica, classificazione e trattamento dell'iperaldosteronismo. ARR: rapporto aldosterone/renina, AVS Cateterismo delle vene surrenaliche, PAC: concentrazione aldosterone plasmatica. PA: iperaldosteronismo primario.**

## 2.7 Follow up

Per quanto riguarda il follow-up, nei pazienti sottoposti a surrenalectomia AVS guidata per iperaldosteronismo unilaterale, si consiglia di ripetere una misurazione di PAC e PRA almeno a 1 mese e a 6 mesi dopo la chirurgia, per confermare la remissione biochimica della malattia. Nei pazienti sottoposti a surrenalectomia, il successo biochimico è definito come una correzione dell'ipokaliemia e dell'iperaldosteronismo e può raggiungere il 100% dei casi. La correzione della pressione arteriosa, invece, non sempre si ottiene completamente, poiché ci può essere una sovrapposizione con un quadro ipertensione arteriosa essenziale preesistente, ma la pressione può anche diminuire per disfunzione ventricolare sinistra o un cambiamento dello stile di vita; in considerazione di ciò, per la definizione di remissione si preferisce prendere in considerazione il dato biochimico piuttosto che quello clinico. La persistenza di una condizione di iperaldosteronismo primario nei primi 6 mesi dopo surrenalectomia può indicare o la presenza di una malattia bilaterale o la rimozione della ghiandola non colpita dalla malattia e si verifica maggiormente quando la chirurgia non è AVS-assistita. Nei pazienti con malattia bilaterale sottoposti a trattamento medico, è consigliato il monitoraggio tramite dosaggio dei livelli di renina e aldosterone. [5]

## Capitolo 3 : Approccio al paziente con possibile diagnosi di ipercortisolismo

L'ipercortisolismo, qualunque sia la causa (endogena o esogena), è accompagnato da un ampio range di segni e sintomi che nel complesso vanno a costituire la sindrome di Cushing.

La causa più frequente di questa condizione è quella iatrogena, quando i glucocorticoidi vengono utilizzati come antiinfiammatori e/o immunosoppressori.

Per quanto riguarda, invece, le cause endogene della sindrome di Cushing, se ne distinguono forme ACTH-dipendenti e forme ACTH-indipendenti. La causa di ipercortisolismo più comune, tra le forme ACTH-dipendenti, è rappresentata dalla presenza di un adenoma ACTH-ipersecernente localizzato a livello ipofisario (80% dei casi), condizione che va sotto il nome di Malattia di Cushing , mentre il rimanente 20% dei casi è costituito dalle forme di secrezione ectopica di ACTH. Le forme ACTH-indipendenti, invece, sono dovute alla produzione eccessiva di cortisolo da parte di un tumore surrenalico (benigno o maligno) oppure alla presenza di un quadro di iperplasia bilaterale (micro o macronodulare).

E' interessante notare che, negli ultimi anni, gli studi di screening abbiano indicato un significativo aumento dell'incidenza della sindrome di Cushing, con una prevalenza, in centri di endocrinologia di terzo livello, nei pazienti con storia di diabete mellito non controllato o di osteoporosi, che sembra arrivare al 5%.

Le manifestazioni cliniche della sindrome di Cushing sono variabili in termini di severità e dipendono dal grado e dalla durata dell'ipercortisolismo e probabilmente anche dalla sensibilità recettoriale ai glucocorticoidi. Il classico fenotipo del paziente con ipercortisolismo, che include alterazioni cardiovascolari, metaboliche, dermatologiche, muscolo-scheletriche e psichiatriche, è ben conosciuto dal medico, ma in molti casi il quadro può essere meno chiaro e più ingannevole. Molti pazienti, infatti, presentano solo sintomi isolati o presentazioni atipiche (come le forme cicliche e quelle subcliniche o *mild*). L'obesità tronculare rimane la manifestazione più comune e spesso è il sintomo iniziale della patologia e il sospetto clinico aumenta quando si associa ad accumulo di grasso a livello della faccia e a livello sovrascapolare. In questi pazienti, la cute appare assottigliata, si osserva la comparsa di strie rubre, acne e irsutismo. Sono presenti, inoltre, irregolarità mestruali nella donna e disfunzione erettile nell'uomo. I pazienti lamentano debolezza dei muscoli prossimali (cui si

associa atrofia). Si osservano alterazioni del metabolismo glucidico e diabete, ipertensione arteriosa e anomalie del metabolismo osseo come osteoporosi e fratture. Si possono avere alterazioni neuropsichiatriche inclusa depressione, irritabilità, disturbi del sonno e deficit cognitivi.

Tuttavia, sintomi come obesità, ipertensione, irregolarità mestruali e disordini del comportamento sono estremamente comuni nella popolazione generale. Pertanto, molti pazienti con sindrome di Cushing non ricevono una diagnosi tempestiva e per molto tempo vengono trattati da cardiologi, diabetologi, reumatologi e psichiatri prima di ricevere un corretto inquadramento. L'approccio a pazienti con questi sintomi dovrebbe comprendere una raccolta anamnestica accurata e un attento esame obiettivo al fine di evidenziare caratteristiche suggestive di sindrome di Cushing, sottoponendo a un test di screening per i casi sospetti. Secondo le linee guida della Società Italiana di Endocrinologia (SIE), pazienti con caratteristiche cliniche inusuali per l'età, come osteoporosi o ipertensione, presenza di incidentaloma surrenalico e bambini con diminuzione della crescita in altezza e aumento del peso dovrebbero essere sottoposti allo screening. A questi si dovrebbero aggiungere anche pazienti con incidentaloma ipofisario, sindrome metabolica (specialmente se giovani), donne obese con sindrome dell'ovaio policistico e maschi con ipogonadismo ipogonadotropo.

Come esami di laboratorio iniziali, nel sospetto di ipercortisolismo, la SIE raccomanda l'utilizzo di uno dei seguenti test: almeno due misurazioni del cortisolo libero urinario delle 24 ore (CLU), il cortisolo salivare delle ore 24 (late-night salivary cortisol, LNSC) oppure il test di soppressione con 1 mg di desametasone (dexamethasone suppression test, DST). La positività di uno di questi test evidenzia l'eccesso di secrezione di cortisolo e una alterazione del normale asse ipotalamo-ipofisi- surrene (Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis, HPA)

Il valore del CLU, utilizzato come stima del cortisolo circolante ematico, può essere estremamente variabile e solo un valore di 4 volte rispetto al limite superiore della norma può essere considerato diagnostico per sindrome di Cushing. Per effettuare questa misurazione, il paziente deve effettuare una raccolta completa delle urine delle 24 ore di cui poi devono essere valutati il volume totale e i livelli di creatinina. La funzione renale dovrebbe essere valutata prima del test per evitare falsi negativi. Falsi positivi di cortisolo urinario si possono osservare in alcune condizioni come obesità, depressione, ansia e alcolismo, condizioni anche definite come "pseudo-Cushing", che rappresenta un'iperattivazione dell'asse HPA di natura funzionale. [7]

Il DST, invece, è un test di screening semplice ed economico la cui specificità è stata recentemente aumentata riducendo il cutoff originale di cortisolo al mattino da 138 nmol/L (5 µg/dl) a 50 nmol/L (1,8 µg /dl). Il test consiste nella determinazione del cortisolo plasmatico fra le ore 8:00 e le ore 9:00 al mattino, a digiuno, dopo avere assunto la sera precedente 1 mg (2 compresse da 0,5 mg) di desametasone fra le ore 23 e le ore 24. [8] Falsi positivi (con mancata soppressione del cortisolo al mattino) possono derivare da condizioni interferenti, come per esempio il ridotto assorbimento del desametasone a livello del tratto digerente, l'aumentato metabolismo del farmaco per l'effetto di sostanze o altri farmaci (alcol, barbiturici, fenitoina, carbamazepina e rifampicina), la presenza di insufficienza renale e/o epatica oppure le già citate condizioni classificate come pseudo-Cushing. Inoltre, un 8% circa di pazienti con sindrome di Cushing non presenta una soppressione dei livelli di cortisolo nonostante la presenza della patologia e costituiscono, quindi, i falsi negativi.

Numerosi studi hanno valutato il LNSC come un utile test di screening per l'ipercortisolismo. Il cortisolo misurato a livello salivare risulta in equilibrio con il cortisolo libero plasmatico, è indipendente dal flusso salivare ed è stabile a temperatura ambiente. Per queste caratteristiche, la misura del cortisolo nella saliva il duplice vantaggio della semplicità di esecuzione al domicilio e della non invasività. Tuttavia, ci sono diverse condizioni che possono determinare risultati falsi positivi, come uno scarso controllo del diabete, l'obesità, la depressione, lo stress, il tabagismo e l'assunzione di liquirizia. In accordo con le recenti raccomandazioni SIE, sono raccomandate almeno due misurazioni del LNSC per uno screening adeguato dei pazienti con sospetto ipercortisolismo. Per le sue caratteristiche, questo test potrebbe essere particolarmente utile nei pazienti pediatrici e per identificare i pazienti con sindrome di Cushing ciclica, dove si rendono necessarie multiple determinazioni.

In alcuni casi, i pazienti potrebbero mostrare delle caratteristiche cliniche e ormonali non chiare per sindrome di Cushing. Questi soggetti, secondo le indicazioni SIE, dovrebbero essere sottoposti ad attento follow-up (spesso valutati associando metodiche di indagine aggiuntive). La distinzione tra la sindrome di Cushing e le forme di pseudo-Cushing rappresenta una delle sfide cliniche maggiori per gli endocrinologi. [7]

Lo pseudo-Cushing può essere definita come una condizione di lieve ipercortisolismo determinato da condizioni fisiologiche o patologiche che causano un'iperattivazione dell'asse HPA. Alcuni disturbi psichici come la depressione, l'ansia, il disturbo ossessivo-compulsivo, il diabete mellito in scarso compenso metabolico e l'alcolismo possono essere associati a un

lieve ipercortisolismo e presentare test ormonali alterati compatibili con la diagnosi di sindrome di Cushing (es. DST alterato o CLU elevato). [8]

Tra pseudo-Cushing e sindrome di Cushing esiste un certo grado di sovrapposizione tra le caratteristiche cliniche e biochimiche che emerge dai test di screening e che richiede l'esecuzione di test aggiuntivi, che tuttavia soffrono di alcune limitazioni.

La somministrazione di CRH dopo soppressione con desametasone rappresenta uno dei test più utili nella diagnosi differenziale fra Cushing e pseudo-Cushing e prevede la somministrazione di CRH (1 µg/kg e.v. in bolo) dopo soppressione con 2 mg di desametasone: i pazienti con sindrome di Cushing vera presentano, in genere, una cortisolemia superiore a 1,4 µg/dl dopo 15 minuti dallo stimolo.

Una volta posta diagnosi di sindrome di Cushing, il passo successivo è la distinzione tra forma ACTH-dipendente e forma ACTH-indipendente e può essere fatta misurando i livelli di ACTH. Nelle forme surrenaliche, l'ACTH è soppresso e ha un valore < 10 pg/ml mentre è normale o aumentato nelle forme ACTH-dipendenti. Vi è spesso una sovrapposizione significativa nei livelli circolanti di ACTH tra i pazienti con forma ipofisaria e forme ectopiche di tumore ACTH-iper-secrente, anche se i livelli di ACTH sono generalmente maggiori nelle forme ectopiche. Tuttavia, va sottolineato che molti pazienti con malattia ipofisaria possono mostrare di ACTH bassi-normali e, al contrario, molti pazienti con forme surrenaliche possono presentare livelli di ACTH non completamente soppressi. Per aumentare la sensibilità di questo test, si consiglia di misurare i livelli di ACTH plasmatici almeno due volte prima di procedere ad ulteriori valutazioni.

Visto che alcuni pazienti con sindrome di Cushing di origine surrenalica possono presentare livelli di ACTH non soppressi, compresi fra 10 e 20 pg/ml, in questi pazienti è consigliabile l'utilizzo di un test di stimolazione con CRH, dove si osserva una risposta maggiore dell'ACTH nelle forme ipofisarie.

Una volta che la sindrome di Cushing indipendente da ACTH è confermata, dovrebbero essere effettuate una TC o una RMN per identificare la lesione surrenalica responsabile del quadro clinico. Nei tumori unilaterali, la parte rimanente della ghiandola surrenalica colpita e la ghiandola surrenalica controlaterale possono essere sia normali che atrofiche e questo è dovuto ai bassi livelli circolanti di ACTH. Gli adenomi sono di solito piccoli (ma comunque variabili in dimensioni), con bordi lisci, omogenei e con una densità alla TC più bassa di quella dell'acqua (< 10 HU senza contrasto) o un segnale isointenso rispetto al fegato nelle

sequenze T2 pesate della RMN. Al contrario, i carcinomi surrenalici sono di solito più voluminosi (> 6 cm), irregolari, disomogenei a causa della necrosi e delle emorragie, con margini non chiari e con densità > 10 HU o con intensità aumentata alle sequenze T2 pesate.

Per quanto riguarda le forme di iperplasia surrenalica bilaterale che causano ipercortisolismo, queste rappresentano circa il 10-15% di tutte le cause surrenaliche di sindrome di Cushing e includono varie condizioni, tra cui la malattia adrenocorticale nodulare pigmentata primaria e l'iperplasia micro- e macronodulare ACTH indipendente.

Qualora il test dell'ACTH suggerisca una sindrome di Cushing ACTH-dipendente, è necessario indagare se si tratti di una forma ipofisaria o ectopica. Il test al CRH è considerato il test diagnostico dinamico non invasivo più affidabile per la diagnosi differenziale tra le due forme, con sensibilità e specificità intorno al 90%.

Nonostante il test di soppressione con alte dosi di desametasone mostri un'alta sensibilità nell'identificazione di pazienti con sindrome di Cushing, la sua specificità è bassa e nella pratica clinica ha un'utilità modesta, per cui non se ne raccomanda l'utilizzo da solo.

Una RMN con gadolinio della regione sellare deve essere eseguita in tutti i pazienti con sindrome di Cushing ACTH-dipendente, sebbene la relativamente limitata risoluzione spaziale della metodica la renda inefficace nel rilevare la presenza di lesioni in oltre il 50% dei pazienti. D'altra parte, la presenza di una lesione ipofisaria maggiore di 6 mm nei pazienti con la presentazione clinica classica e i risultati ai test dinamici concordanti possono permettere di fare la diagnosi di malattia di Cushing senza la necessità di procedere a valutazioni più invasive.

Il campionamento bilaterale dei seni petrosi inferiori è considerato il gold standard per stabilire l'origine della secrezione di ACTH ed è raccomandato nei pazienti con sindrome di Cushing ACTH-dipendente con risultati clinici, biochimici e radiologici discordanti o equivoci. Qualora il campionamento bilaterale dei seni petrosi non confermi l'origine ipofisaria dell'ipercortisolismo, dovrebbero essere eseguite una TC e/o una RMN del distretto collo-torace, e se negativa, di addome e pelvi, per identificare la sede di produzione ectopica di ACTH, che è associata a tumori endocrini e non endocrini. [7]

## Capitolo 4 : PARTE SPERIMENTALE

### 4.1 INTRODUZIONE

#### 4.1.1 Conseguenze metaboliche dell'iperaldosteronismo primario

Numerosi studi dimostrano che i soggetti affetti da iperaldosteronismo primario mostrano un alto rischio di sviluppo di patologia cardiaca (malattia coronarica, ipertrofia ventricolare sinistra e scompenso cardiaco), fibrillazione atriale, ictus, alterazioni dell'omeostasi minerale e ad alterazioni del metabolismo glucidico come sindrome metabolica e/o diabete. [3]

Il primo meccanismo con cui l'iperaldosteronismo primario influenza l'omeostasi mineraria è l'eliminazione del calcio attraverso le urine. Questi pazienti, infatti, vanno incontro a prolungata ipercalciuria causata dal fatto che la ritenzione salina legata all'eccesso di aldosterone determina una diminuzione del riassorbimento del calcio, dal momento che quest'ultimo è accoppiato al riassorbimento transtubulare del sodio a livello del tubulo prossimale. Nonostante il calcio possa essere anche riassorbito a livello del nefrone distale, l'eccessiva perdita a livello prossimale può superare la capacità di recupero distale. La riduzione dell'escrezione del calcio urinario, che si può verificare in risposta a specifici trattamenti dell'iperaldosteronismo (come i farmaci antagonisti del recettore dell'aldosterone e la surrenalectomia) supporta l'ipotesi che l'iperaldosteronismo sia proprio la causa diretta dell'ipercalciuria in questi pazienti. La prolungata ipercalciuria e la conseguente ipocalcemia, nei soggetti con iperaldosteronismo primario, può determinare un aumento secondario del paratormone (PTH) prodotto dalle paratiroidi, che è il principale regolatore dell'omeostasi del calcio e dei fosfati. Come l'ipercalciuria, anche l'iperparatiroidismo può regredire in caso di trattamento con antagonisti del recettore dell'aldosterone o surrenectomia, confermando il ruolo dell'aldosterone nella genesi di questa alterazione. Recenti studi hanno inoltre evidenziato la presenza di un rapporto funzionale bidirezionale fra le cellule della zona glomerulare surrenalica e le cellule paratiroidi, dimostrato l'espressione di recettori dei mineralcorticoidi nelle cellule paratiroidi, localizzati a livello nucleare, suggerendo che l'aldosterone partecipi alla tonica regolazione della sintesi e della secrezione del PTH.

L'iperaldosteronismo primario è stato associato anche a ridotti livelli plasmatici di vitamina D (<20 ng/dl). Questo è un reperto importante, poiché l'ipovitaminosi D può determinare

alterazioni ossee e ridurre la densità minerale ossea (bone mineral density, BMD) e, in associazione ad alti livelli circolanti di PTH, portare ad osteomalacia.

Numerosi studi clinici hanno mostrato che i pazienti con iperaldosteronismo primario presentano una minore densità minerale ossea (*bone mineral density*, BMD) e una maggiore prevalenza di osteoporosi e osteopenia. Tale effetto potrebbe derivare sia dagli effetti del legame dell'aldosterone con il recettore sugli osteoblasti e sugli osteoclasti sia indirettamente per mezzo del PTH che determina riassorbimento osseo. A ogni modo, il trattamento dell'iperaldosteronismo primario sembra portare a un miglioramento della BMD. [9]

Per quanto riguarda le conseguenze metaboliche, la prevalenza di diabete nei pazienti affetti da iperaldosteronismo primario varia tra il 8,2% e il 23% a seconda della popolazione studiata e dei criteri diagnostici utilizzati. Diversi meccanismi sono stati proposti per giustificare l'alterazione del metabolismo glucidico nell'iperaldosteronismo: il primo è l'ipokaliemia che compromette il rilascio di insulina dalle cellule pancreatiche. Il secondo è la ridotta sensibilità insulinica e una alterazione del signaling dell'insulina che determinano una riduzione dell'internalizzazione di glucosio nei tessuti periferici inclusi il fegato, il tessuto scheletrico e il tessuto adiposo. Inoltre l'aldosterone induce la sintesi di specie reattive dell'ossigeno e induce un aumento dell'espressione di IGF-1 che portano a disfunzione endoteliale con riduzione della diffusione di ossigeno a livello tissutale. [10]

#### **4.1.2 Conseguenze metaboliche dell'ipercortisolismo**

L'alto tasso di morbidità e mortalità che è stato osservato nella sindrome di Cushing franca (o "*overt*") sembra essere dovuto alle complicanze cardiovascolari e alle complicanze quali obesità, ipertensione, diabete e dislipidemia. In ogni caso, va sottolineato come numerosi studi retrospettivi abbiano documentato una aumentata prevalenza del rischio cardiometabolico anche nei pazienti affetti da ipercortisolismo moderato (o "*mild*", in precedenza noto anche come "Cushing subclinico"), intendendo con questo termine una condizione caratterizzata da una risposta al test di soppressione con desametasone a basse dosi anormale (cortisolo al mattino > 1,8 µg/dl), ma senza le classiche manifestazioni cliniche della sindrome di Cushing. L'ipercortisolismo *mild* in particolare, sembra associarsi ad un aumento di complicanze cardiovascolari quali ipertensione arteriosa, aumento della massa ventricolare destra e sindrome metabolica, quest'ultima definita dalla contemporanea presenza di almeno tre parametri fra alterata tolleranza glucidica o diabete, ipertensione arteriosa, obesità viscerale e dislipidemia. [11]

Terzolo e collaboratori hanno condotto uno dei primi studi sugli effetti dell'ipercortisolismo *mild* sui parametri metabolici, dimostrando un più alto grado di insulino-resistenza e una maggiore escursione dei livelli di glucosio dopo OGTT nei soggetti con incidentaloma surrenalico rispetto ai controlli sani. [12]

L'alterazione del metabolismo glucidico nei soggetti affetti da ipercortisolismo dipende dagli effetti tissutali dei glucocorticoidi: a livello epatico essi promuovono la gluconeogenesi, mentre a livello muscolare riducono l'internalizzazione del glucosio mediata dall'insulina, interferendo con il signaling dell'insulina stessa. Inoltre, l'eccesso di glucocorticoidi può determinare lo sviluppo di obesità viscerale, che porta ad un aumento dell'insulino-resistenza. Infatti, il recettore dei glucocorticoidi è espresso in misura maggiore a livello del grasso viscerale rispetto che a livello del grasso sottocutaneo e il cortisolo stimola direttamente l'attività della lipoproteinlipasi, che porta a differenziazione adipocitaria e a sintesi di trigliceridi, con iperplasia e ipertrofia della massa di cellule adipose localizzate a livello viscerale e, quindi, a insulino-resistenza.

Studi longitudinali hanno dimostrato che nei soggetti con incidentaloma surrenalico, specie se in presenza di ipercortisolismo *mild*, aumentata anche la prevalenza di dislipidemia. Da un punto di vista fisiopatologico, il cortisolo influenza la sintesi delle VLDL a livello epatico, dove determina la comparsa di steatosi e incrementa la lipolisi con liberazione di acidi grassi in circolo. Inoltre, indirettamente, l'iperinsulinemia, l'alterazione del metabolismo lipidico e l'accumulo di grasso viscerale determinati dall'ipercortisolismo creando un circolo vizioso che tende a peggiorare il metabolismo lipidico in maniera progressiva. [11]

Osteoporosi e osteopenia sono comuni comorbidità nei pazienti con sindrome di Cushing, sia endogena che esogena. A seconda degli studi, il 60-80% dei pazienti presenta una riduzione della BMD che interessa tutto lo scheletro, mentre il 5% delle forme secondarie di osteoporosi è riconducibile a una condizione di ipercortisolismo. [13] Le complicanze ossee sono presenti anche nei pazienti con ipercortisolismo *mild*, che presentano un rischio di fratture vertebrali 4 volte maggiore rispetto ai pazienti con tumori surrenalici non funzionanti. [14] L'ipercortisolismo, infatti, altera la matrice proteica del tessuto osseo attraverso la sua azione proteocatabolica e causa inibizione della maturazione e della differenziazione degli osteoblasti, con una contemporanea azione pro-apoptotica sugli osteoblasti stessi e sugli osteociti. Inoltre, è in grado di causare riassorbimento osseo mediante la stimolazione del legame RANK-RANKL e l'inibizione della produzione di osteoprotegerina, oltre che a interferire con il metabolismo del calcio (ipocalcemia per riduzione dell'assorbimento

intestinale e del riassorbimento renale di calcio) e ad alterare la dinamica secretoria del paratormone. [8]

#### **4.1.3 Co-secrezione aldosterone-cortisolo nei pazienti con iperaldosteronismo primario**

L'ipersecrezione surrenalica di aldosterone, dovuta a malattia monolaterale, come in presenza di adenomi ipersecernente aldosterone, o a malattia bilaterale, come in caso di iperplasia surrenalica micro o macronodulare, e la ipersecrezione di cortisolo vengono generalmente considerate due condizioni cliniche ben distinte sia sul piano clinico che su quello biochimico. [15] Tuttavia, studi recenti hanno dimostrato che, in presenza di espansi surrenalici (sia mono che bilaterali), la presenza di una co-secrezione aldosterone -cortisolo (la cosiddetta "Sindrome di Connshing") possa essere dimostrata in un'elevata percentuale di casi, che si stima essere compresa tra il 5 e il 21% (97), ben superiore a quanto ritenuto in passato. [16]

Questo aspetto è importante da considerare, visto che, nel contesto di un quadro di iperaldosteronismo, la precoce diagnosi e il trattamento di un'eventuale co-secrezione di cortisolo potrebbero migliorare il quadro clinico di questi pazienti. In letteratura ci si interroga, infatti, riguardo la possibilità che la co-secrezione aldosterone-cortisolo possa contribuire ad un peggioramento del quadro glucidico/metabolico generale e alle alterazioni minerali ossee che si osservano in questi pazienti.

In aggiunta a questo va considerato il fatto che la co-secrezione potrebbe alterare i risultati del cateterismo selettivo delle vene surrenaliche, che rappresenta attualmente il gold standard per distinguere le forme di iperaldosteronismo da malattia mono- o bilaterale e quindi indirizzare i pazienti verso la terapia medica o l'intervento chirurgico.

Da quanto detto si desume pertanto l'importanza dell'identificazione precoce dei casi in cui si verifichi questa doppia ipersecrezione.

## **4.2 OBIETTIVO DELLO STUDIO**

L'obiettivo del presente studio è quello di individuare eventuali casi di co-secrezione aldosterone-cortisolo in una popolazione di pazienti affetti da iperaldosteronismo primario e di valutare se vi siano differenze in termini di complicanze metaboliche e di effetti sul rimodellamento osseo nei pazienti che presentino un quadro secretivo misto. Un obiettivo secondario, inoltre, è stato quello di indagare se l'eventuale co-secrezione aldosterone-

cortisolo possa influenzare i risultati del cateterismo delle vene surrenaliche nei pazienti che vengono sottoposti a tale procedura.

## **4.3 MATERIALI E METODI**

### **PAZIENTI**

Sono stati raccolti i dati di tutti i pazienti con diagnosi di iperaldosteronismo primario che siano stati sottoposti a visita ambulatoriale o a valutazione in regime di ricovero ospedaliero presso la Clinica di Endocrinologia e Malattie del Metabolismo, Azienda Ospedaliero-Universitaria Ospedali Riuniti di Ancona, nel periodo compreso tra Gennaio 2016 e Febbraio 2020.

La diagnosi di iperaldosteronismo primario è stata formulata secondo le linee guida dell'Endocrine Society 2016: rapporto Aldo/PRA  $> 40$  o Aldo/DRC  $> 3,9$  e successivo test di conferma (test all'infusione salina, carico salino orale, test al Captopril). Laddove possibile, la testistica è stata eseguita dopo opportuno periodo di wash-out farmacologico; in caso di ipertensione non controllata e dove non fosse indicato sospendere la terapia abituale, i risultati dei test sono stati interpretati in accordo con le più recenti linee guida.

In caso di iperaldosteronismo biochimico confermato, sono state eseguite le indagini strumentali necessarie (RMN e/o TC). Un sottogruppo di pazienti, candidabile a un'eventuale soluzione chirurgica, è stato sottoposto a cateterismo selettivo delle vene surrenaliche. Durante la procedura, il campionamento è stato ottenuto dalle due vene surrenaliche (destra e sinistra) e dalla vena cava inferiore (a livello sovrenale e sottorenale). [6] Il sangue prelevato è stato quindi analizzato per determinarne sia i livelli di aldosterone che quelli di cortisolo: il rapporto tra livelli di cortisolo in vena surrenalica (destra o sinistra) e in vena cava sottorenale  $\geq 1$  è stato utilizzato per stabilire il successo dell'incannulamento della relativa vena; il rapporto tra aldosterone/cortisolo di un lato e aldosterone/cortisolo dell'altro lato ha determinato l'eventuale lateralizzazione dell'ipersecrezione quando sia risultato  $\geq 4$ .

Da un punto di vista clinico, sono stati raccolti dati antropometrici (peso, altezza, BMI, pressione arteriosa), notizie cliniche (terapia antipertensiva e tipologia e numero di farmaci assunti, supplementazione di potassio, farmaci antidiabetici, storia di complicanze cardiovascolari) e dati biochimici relativi al metabolismo glicometabolico (glicemia, HbA1c, colesterolo totale, colesterolo LDL, colesterolo HDL, trigliceridi), alla funzionalità renale

(creatinina, VFG stimata sec. Cockcroft-Gault, albuminuria), al metabolismo osseo (osteocalcina e fosfatasi alcalina ossea come marker di formazione ossea, CTX come marker di riassorbimento osseo, PTH, vitamina D e calcio) e alla funzionalità surrenalica (aldosterone, PRA o DRC, cortisolo, 17-idrossiprogesterone, DHEA-S e androstenedione). Per rendere confrontabili i dati relativi ai livelli di renina, qualora fosse stato utilizzato un metodo di dosaggio diretto è stato utilizzato un fattore di conversione pari a 8,2. [17]

Per individuare i casi in cui fosse presente una contemporanea ipersecrezione di aldosterone e cortisolo, sono stati utilizzati il test di soppressione con 1 mg di desametasone (patologico se  $>1,8 \mu\text{g/dl}$ ), il dosaggio del cortisolo urinario delle 24 ore (patologico se  $> 110 \mu\text{g/24 h}$ ), il dosaggio del cortisolo salivare notturno delle ore 23 (patologico se  $> 0,3 \mu\text{g/dl}$ ) e il dosaggio dell'ACTH (patologico se  $< 10 \text{ pg/ml}$ ).

Laddove recentemente eseguiti, sono inoltre stati raccolti i dati relativi ad esami diagnostici quali ECG, densitometria ossea, ecocolordoppler dei vasi epiaortici, esame del fondo oculare (FOO) e monitoraggio pressorio ambulatoriale delle 24 ore.

## **ANALISI STATISTICA**

L'analisi statistica è stata effettuata con il software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 23.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Le variabili continue sono state sottoposte, qualora non risultasse evidente dalla rappresentazione grafica mediante istogramma e/o grafico di normalità, a test di normalità di Shapiro-Wilk. In caso di normalità, le distribuzioni sono state descritte in termini di media e di deviazione standard; altrimenti, sono state utilizzate la mediana e lo scarto interquartile. Il confronto tra gruppi è stato effettuato, in caso di normalità, mediante t-test per campioni indipendenti, mentre in caso di distribuzioni non normali è stato utilizzato il test U di Mann-Whitney. Infine, le correlazioni bivariate sono state indagate mediante test di Pearson o test di Spearman (scelti sulla base della normalità o meno della distribuzione). Valori di  $p < 0,05$  sono considerati statisticamente significativi.



## 4.4 RISULTATI

Sono stati raccolti i dati relativi a 43 pazienti, 22 maschi e 21 femmine, con un'età media di  $55,2 \pm 12$  anni. I dati relativi alla popolazione in esame sono presentati in tabella 1.

| Caratteristiche della popolazione |  |                |               |
|-----------------------------------|--|----------------|---------------|
| N pazienti                        |  | 43 (22M, 21F)  |               |
|                                   |  | Media ± DS     |               |
| Età (anni)                        |  | 55.2 ± 12.0    |               |
| PAS (mmHg)                        |  | 142.7 ± 18.8   |               |
| PAD (mmHg)                        |  | 86.0 ± 13.2    |               |
| Peso (kg)                         |  | 83.5 ± 17.3    |               |
| Altezza (cm)                      |  | 169.0 ± 9.2    |               |
| BMI (kg/m²)                       |  | 29.2 ± 5.0     |               |
| Caratteristiche delle lesioni     |  |                |               |
| Adenoma singolo (n, %)            |  | 14 (33%)       |               |
| Iperplasia surrenalica (n, %)     |  | 27 (63%)       |               |
| Imaging negativo (n, %)           |  | 2 (4%)         |               |
|                                   |  | 9 monolaterale | 18 bilaterale |
| Terapia antipertensiva in atto    |  |                |               |
| ACEi                              |  | 3              | 7.0%          |
| Sartani                           |  | 8              | 18.6%         |
| β-bloccanti                       |  | 13             | 30.2%         |
| α1-bloccanti                      |  | 21             | 51.2%         |
| α2-agonisti                       |  | 2              | 4.7%          |
| Tiazidici                         |  | 2              | 4.7%          |
| Tiazidico-simili                  |  | 4              | 9.3%          |
| Antialdosteronici                 |  | 15             | 34.9%         |
| N. farmaci antipertensivi in atto |  |                |               |
| 1                                 |  | 7 (16.3%)      |               |
| 2                                 |  | 19 (44.2%)     |               |
| 3                                 |  | 13 (30.2%)     |               |
| >4                                |  | 4 (9.3%)       |               |
| Supplementi di potassio           |  | 17             | 39.5%         |
| Farmaci antidiabetici             |  | 6              | 14.0%         |

**Tabella 1: Caratteristiche generali della popolazione. PAS= pressione arteriosa sistolica; PAD= pressione arteriosa diastolica; BMI= body mass index;**

Dopo diagnosi biochimica, l'imaging ha mostrato la presenza di 14 lesioni singole e 27 quadri di iperplasia surrenalica micro- o macronodulare (di cui 9 forme monolaterali e 18 forme bilaterali), mentre in 2 casi entrambi i surreni apparivano morfologicamente normali. Da un punto di vista farmacologico, la maggior parte dei pazienti effettuava un trattamento con  $\alpha 1$ -bloccanti al momento della valutazione, mentre nel 77,4% dei casi era stato necessario associare 2 o 3 antipertensivi per ottenere un buon controllo pressorio. 17 pazienti, inoltre, assumevano supplementi orali di potassio mentre 6 pazienti avevano in atto un trattamento antidiabetico (con farmaci orali o insulina).

Sul totale dei 43 pazienti affetti da iperaldosteronismo primario, 36 di questi avevano effettuato almeno un test di screening per escludere la presenza di un contemporaneo ipercortisolismo. Il test di soppressione con 1 mg desametasone è stato quello che più frequentemente ha mostrato la presenza di un'alterazione, risultando patologico in 15 casi su 30 (50%). Complessivamente, una co-secrezione aldosterone-cortisolo è stata dimostrata in oltre metà dei pazienti (58,4%). In tabella 2 sono riportati il tipo di test e i relativi risultati.

| Test utilizzato per screening | Patologico | Normale    |
|-------------------------------|------------|------------|
| <b>DST (n=30)</b>             | 15         | 15         |
| <b>CLU (n=32)</b>             | 5          | 27         |
| <b>LNSC (n=35)</b>            | 3          | 32         |
| <b>ACTH &lt; 10 (n=34)</b>    | 5          | 29         |
| <b>N. test alterati</b>       |            |            |
| 0                             | 15 (41.6%) |            |
| 1                             | 18 (50.0%) |            |
| 2                             | 1 (2.8%)   |            |
| 3                             | 2 (5.6%)   |            |
| 4                             | 0 (0%)     |            |
| <b>ACS</b>                    | 21 (58.4%) | 15 (41.7%) |

**Tabella 2: diagnosi di co-secrezione. DST= test di soppressione con 1 mg di desametasone; CLU= cortisolo libero urinario; LNSC= late-night salivary cortisol; ACS= autonomous cortisol secretion**

Sulla base dei risultati dello screening, i 36 pazienti che avevano effettuato almeno un test sono stati suddivisi sulla base della presenza o meno di una co-secrezione. Abbiamo quindi provveduto ad analizzare le differenze tra i due gruppi sia in termini di caratteristiche cliniche che di parametri metabolici (tabella 3).

|                              | NO ACS (n= 15)       | ACS (n= 21)          |               |
|------------------------------|----------------------|----------------------|---------------|
| Maschi (n, %)                | 9 (60,0%)            | 9 (42,9%)            | n.s.          |
| Adenoma singolo              | 5                    | 5                    | n.s.          |
| Iperplasia                   | 9                    | 15                   | n.s.          |
| Monolaterale                 | 4                    | 4                    | n.s.          |
| Bilaterale                   | 5                    | 11                   | n.s.          |
| Imaging negativo             | 1                    | 1                    | n.s.          |
| Dimensione nodulo dominante  | 16.5 ± 6.8           | 21.8 ± 9.8           | n.s.          |
| N. farmaci antipertensivi    |                      |                      |               |
| 1                            | 3                    | 2                    | n.s.          |
| 2                            | 8                    | 9                    | n.s.          |
| 3                            | 4                    | 7                    | n.s.          |
| >4                           | 0                    | 3                    | n.s.          |
| Terapia antidiabete          | 1                    | 3                    | n.s.          |
| Supplementi di potassio      | 8                    | 6                    | n.s.          |
| Età (anni)                   | 53.0 ± 10.7          | 58.1 ± 12.3          | n.s.          |
| PAS (mmHg)                   | 144.6 ± 19.5         | 143.0 ± 19.2         | n.s.          |
| PAD (mmHg)                   | 90.8 ± 13.0          | 84.3 ± 9.9           | n.s.          |
| Peso (kg)                    | 86.7 ± 20.4          | 81.0 ± 15.5          | n.s.          |
| Altezza (cm)                 | 171.0 ± 9.1          | 167.0 ± 9.2          | n.s.          |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> )     | 29.4 ± 5.0           | 29.1 ± 5.3           | n.s.          |
| Potassio (mEq/l)             | 3.5 ± 0.3            | 3.8 ± 0.7            | n.s.          |
| Glicemia (mg/dl)             | 98.3 ± 19.8          | 103.8 ± 33.5         | n.s.          |
| Colesterolo totale (mg/dl)   | 183.3 ± 29.3         | 174.9 ± 32.1         | n.s.          |
| LDL (mg/dl)                  | 104.6 ± 19.8         | 94.9 ± 26.1          | n.s.          |
| HDL (mg/dl)                  | 53.3 ± 22.5          | 57.9 ± 14.5          | n.s.          |
| Trigliceridi (mg/dl)         | 131.4 ± 80.1         | 125.6 ± 62.1         | n.s.          |
| Creatinina (mg/dl)           | 0.9 ± 0.2            | 0.9 ± 0.2            | n.s.          |
| VFG (ml/min)                 | 121.7 ± 34.6         | 106.7 ± 42.2         | n.s.          |
| Calcio (mg/dl)               | 8.9 ± 0.4            | 9.2 ± 0.4            | n.s.          |
| HbA1c (mmol/mol)             | 37.3 ± 5.6           | 40.5 ± 10.5          | n.s.          |
| Albuminuria (mg/24h)         | 40.5 ± 74.8          | 232.2 ± 589.2        | n.s.          |
| CTX (pg/ml)                  | <b>744.6 ± 270.5</b> | <b>426.4 ± 178.7</b> | <b>p=0.01</b> |
| ALPo (µg /l)                 | 11.1 ± 5.9           | 9.7 ± 3.2            | n.s.          |
| Osteocalcina (ng/ml)         | 21.0 ± 6.9           | 19.8 ± 6.5           | n.s.          |
| PTH (pg/ml)                  | 98.9 ± 55.8          | 74.1 ± 44.9          | n.s.          |
| Vitamina D (ng/ml)           | 18.8 ± 10.3          | 21.9 ± 13.6          | n.s.          |
| Aldosterone (pg/ml)          | 338.3 ± 118.1        | 421.2 ± 175.1        | n.s.          |
| PRA (ng/ml)                  | 1.0 ± 1.3            | 6.7 ± 20.3           | n.s.          |
| ALDO/PRA                     | 138.8 ± 129.3        | 187.7 ± 224.9        | n.s.          |
| ACTH (pg/ml)                 | 25.9 ± 17.4          | 23.6 ± 17.7          | n.s.          |
| CLU (mcg/24h)                | 60.4 ± 22.8          | 79.4 ± 46.4          | n.s.          |
| LNSC (µg/dl)                 | 0.17 ± 0.11          | 0.27 ± 0.22          | n.s.          |
| DEXA 1 mg (µg/dl)            | <b>1.0 ± 0.4</b>     | <b>2.7 ± 1.7</b>     | <b>p=0.01</b> |
| 17-OH-pg (ng/ml)             | 1.5 ± 0.9            | 1.5 ± 0.8            | n.s.          |
| DHEA-S (µg/ml)               | 1.1 ± 0.9            | 0.9 ± 0.8            | n.s.          |
| Androstenedione (ng/ml)      | 1.1 ± 0.9            | 1.3 ± 0.6            | n.s.          |
| Ritmo del cortisolo alterato | 0                    | 2                    |               |

*Tabella 3: confronto tra parametri clinici e biochimici nei pazienti con ipersecrezione doppia e singola*

Tra i due gruppi, per quanto riguarda il metabolismo glicolipidico, non sono emerse differenze statisticamente significative, sebbene i valori di glicemia a digiuno e di emoglobina glicata tendessero ad essere più elevati nel gruppo dei pazienti con doppia ipersecrezione ( $103.8 \pm 33.5$  mg/dl e  $40.5 \pm 10.5$  mmol/mol ) rispetto a quelli con solo iperaldosteronismo ( $98.3 \pm 19.8$  mg/dl e  $37.3 \pm 5.6$  mmol/mol ). Per quanto riguarda il metabolismo osseo, invece, è emersa una differenza statisticamente significativa nei valori di CTX, con livelli marcatamente più elevati nel gruppo dei pazienti con ipersecrezione singola ( $744.6 \pm 270.5$  vs  $426.4 \pm 178.7$  pg/ml;  $p= 0.01$ ). Da un punto di vista della funzionalità surrenalica, invece, l'unica differenza è stata rilevata nei livelli di cortisolo dopo DST, significativamente maggiori, come atteso, nel gruppo dei co-secretori ( $2.7 \pm 1.7$  vs  $1.0 \pm 0.4$  µg/dl;  $p= 0.01$ ). Inoltre, 2 pazienti con doppia ipersecrezione hanno mostrato un'alterazione nel ritmo di secrezione del cortisolo, mentre nessuno dei pazienti affetti da iperaldosteronismo isolato ha presentato questa anomalia.

|                            | NO ACS (n= 15) | ACS (n= 21) |             |
|----------------------------|----------------|-------------|-------------|
| <b>Complicanze CV (33)</b> | 13/14          | 17/19       | <i>n.s.</i> |
| <b>0</b>                   | 1              | 2           | <i>n.s.</i> |
| <b>1</b>                   | 6              | 3           | <i>n.s.</i> |
| <b>2</b>                   | 3              | 8           | <i>n.s.</i> |
| <b>3</b>                   | 4              | 5           | <i>n.s.</i> |
| <b>4</b>                   | 0              | 1           | <i>n.s.</i> |
| <b>Disglicemia</b>         |                |             | <i>n.s.</i> |
| <b>IFG</b>                 | 5/15           | 10/21       | <i>n.s.</i> |
| <b>HbA1c&gt;42</b>         | 3/11           | 4/17        | <i>n.s.</i> |
| <b>ECG</b>                 | 15             | 21          | <i>n.s.</i> |
| <b>Normale</b>             | 15             | 18          | <i>n.s.</i> |
| <b>IVSX</b>                | 0              | 3           | <i>n.s.</i> |
| <b>MOC</b>                 | 7              | 13          | <i>n.s.</i> |
| <b>Normale</b>             | 4              | 5           | <i>n.s.</i> |
| <b>Osteopenia</b>          | 2              | 8           | <i>n.s.</i> |
| <b>Osteoporosi</b>         | 1              | 0           | <i>n.s.</i> |
| <b>ECD VASI EPIAORTICI</b> | 8              | 10          | <i>n.s.</i> |
| <b>Normale</b>             | 4              | 3           | <i>n.s.</i> |
| <b>Ateromasia</b>          | 4              | 7           | <i>n.s.</i> |
| <b>FOO</b>                 | 8              | 9           | <i>n.s.</i> |
| <b>Normale</b>             | 0              | 1           | <i>n.s.</i> |
| <b>retinopatia</b>         | 8              | 8           | <i>n.s.</i> |
| <b>ABPM</b>                | 5              | 15          | <i>n.s.</i> |
| <b>Normale</b>             | 1              | 3           | <i>n.s.</i> |
| <b>Patologico</b>          | 4              | 12          | <i>n.s.</i> |

**Tabella 4: confronto delle complicanze di malattia**

Basandoci sulla stessa suddivisione, abbiamo inoltre effettuato un confronto tra le complicanze della malattia, sia sulla base di quanto presente in anamnesi che in base ai risultati degli esami strumentali, laddove disponibili, che tuttavia non ha mostrato differenze. (tabella 4).

Utilizzando un criterio più restrittivo, abbiamo ripetuto le stesse valutazioni considerando come co-secretori soltanto i pazienti che presentavano una risposta alterata al DST, basandoci pertanto solo sui dati dei 30 soggetti che avevano effettuato il test. I risultati sono illustrati in tabella 5.

|                              | NO ACS (n= 15) | ACS (n= 15)   |         |
|------------------------------|----------------|---------------|---------|
| Maschi (n, %)                | 10 (66,6%)     | 4 (26,6%)     | p=0.03  |
| Adenoma singolo              | 4              | 4             | n.s.    |
| Iperplasia                   | 9              | 11            | n.s.    |
| Monolaterale                 | 3              | 3             | n.s.    |
| Bilaterale                   | 6              | 8             | n.s.    |
| Imaging negativo             | 2              | 0             | n.s.    |
| Dimensione nodulo dominante  | 14.1 ± 3.9     | 24.9 ± 8.6    | p=0.04  |
| N. farmaci antipertensivi    |                |               |         |
| 1                            | 3              | 2             | n.s.    |
| 2                            | 8              | 5             | n.s.    |
| 3                            | 4              | 5             | n.s.    |
| >4                           | 0              | 3             | n.s.    |
| Terapia antidiabete          | 1              | 3             | n.s.    |
| Supplementi di potassio      | 8              | 4             | n.s.    |
| Età (anni)                   | 50.6 ± 10.6    | 60.6 ± 11.5   | p=0.02  |
| PAS (mmHg)                   | 145.3 ± 20.8   | 144.9 ± 21.7  | n.s.    |
| PAD (mmHg)                   | 91.5 ± 11.8    | 84.9 ± 10.4   | n.s.    |
| Peso (kg)                    | 82.7 ± 21.9    | 81.8 ± 15.6   | n.s.    |
| Altezza (cm)                 | 170.9 ± 8.6    | 164.2 ± 8.6   | p=0.05  |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> )     | 28.1 ± 5.6     | 30.3 ± 5.1    | n.s.    |
| Potassio (mEq/l)             | 3.4 ± 0.3      | 4.0 ± 0.8     | p=0.01  |
| Glicemia (mg/dl)             | 94.0 ± 20.2    | 102.9 ± 27.1  | n.s.    |
| Colesterolo totale (mg/dl)   | 182.5 ± 26.7   | 178.6 ± 35.1  | n.s.    |
| LDL (mg/dl)                  | 100.0 ± 23.1   | 98.6 ± 26.8   | n.s.    |
| HDL (mg/dl)                  | 60.2 ± 20.4    | 54.5 ± 13.4   | n.s.    |
| Trigliceridi (mg/dl)         | 108.9 ± 60.8   | 142.5 ± 63.2  | n.s.    |
| Creatinina (mg/dl)           | 0.9 ± 0.2      | 1.0 ± 0.2     | n.s.    |
| VFG (ml/min)                 | 118.4 ± 34.1   | 102.5 ± 49.2  | n.s.    |
| Calcio (mg/dl)               | 8.9 ± 0.4      | 9.2 ± 0.4     | p=0,059 |
| HbA1c (mmol/mol)             | 36.3 ± 5.7     | 41.0 ± 9.1    | n.s.    |
| Albuminuria (mg/24h)         | 40.9 ± 71.5    | 311.2 ± 690.5 | n.s.    |
| CTX (pg/ml)                  | 740.2 ± 242.7  | 418.2 ± 195.8 | p=0.01  |
| ALPo (µg /l)                 | 11.5 ± 5.4     | 10.1 ± 3.4    | n.s.    |
| Osteocalcina (ng/ml)         | 22.0 ± 6.0     | 20.7 ± 6.9    | n.s.    |
| PTH (pg/ml)                  | 87.3 ± 55.6    | 80.9 ± 50.2   | n.s.    |
| Vitamina D (ng/ml)           | 19.8 ± 11.1    | 22.3 ± 14.5   | n.s.    |
| Aldosterone (pg/ml)          | 356.0 ± 112.3  | 428.6 ± 201.3 | n.s.    |
| PRA (ng/ml)                  | 0.9 ± 1.2      | 8.2 ± 22.8    | n.s.    |
| ALDO/PRA                     | 130.3 ± 121.5  | 213.0 ± 245.3 | n.s.    |
| ACTH (pg/ml)                 | 29.5 ± 19.7    | 21.7 ± 16.6   | n.s.    |
| CLU (mcg/24h)                | 72.6 ± 36.8    | 64.1 ± 33.5   | n.s.    |
| LNSC (µg/dl)                 | 0.17 ± 0.11    | 0.27 ± 0.22   | n.s.    |
| DEXA 1 mg (µg/dl)            | 1.1 ± 0.4      | 3.0 ± 1.7     | p<0,001 |
| 17-OH-pg (ng/ml)             | 1.4 ± 0.7      | 1.5 ± 0.9     | n.s.    |
| DHEA-S (µg/ml)               | 1.2 ± 1.0      | 0.6 ± 0.5     | n.s.    |
| Androstenedione (ng/ml)      | 1.3 ± 0.5      | 1.1 ± 0.5     | n.s.    |
| Ritmo del cortisolo alterato | 0              | 2             |         |

*Tabella 5: confronto tra parametri clinici e biochimici nei pazienti con ipersecrezione doppia e singola (solo test DEXA 1 mg)*

A differenza della precedente suddivisione, abbiamo rilevato una differenza statisticamente significativa sia nella rappresentazione dei generi che nelle dimensioni della nodularità dominante. In riferimento a quest'ultima, abbiamo rilevato una correlazione lineare diretta tra dimensioni del nodulo dominante e valori di cortisolemia dopo DST ( $r = 0.521$ ;  $p = 0,02$ ) (figura 5).

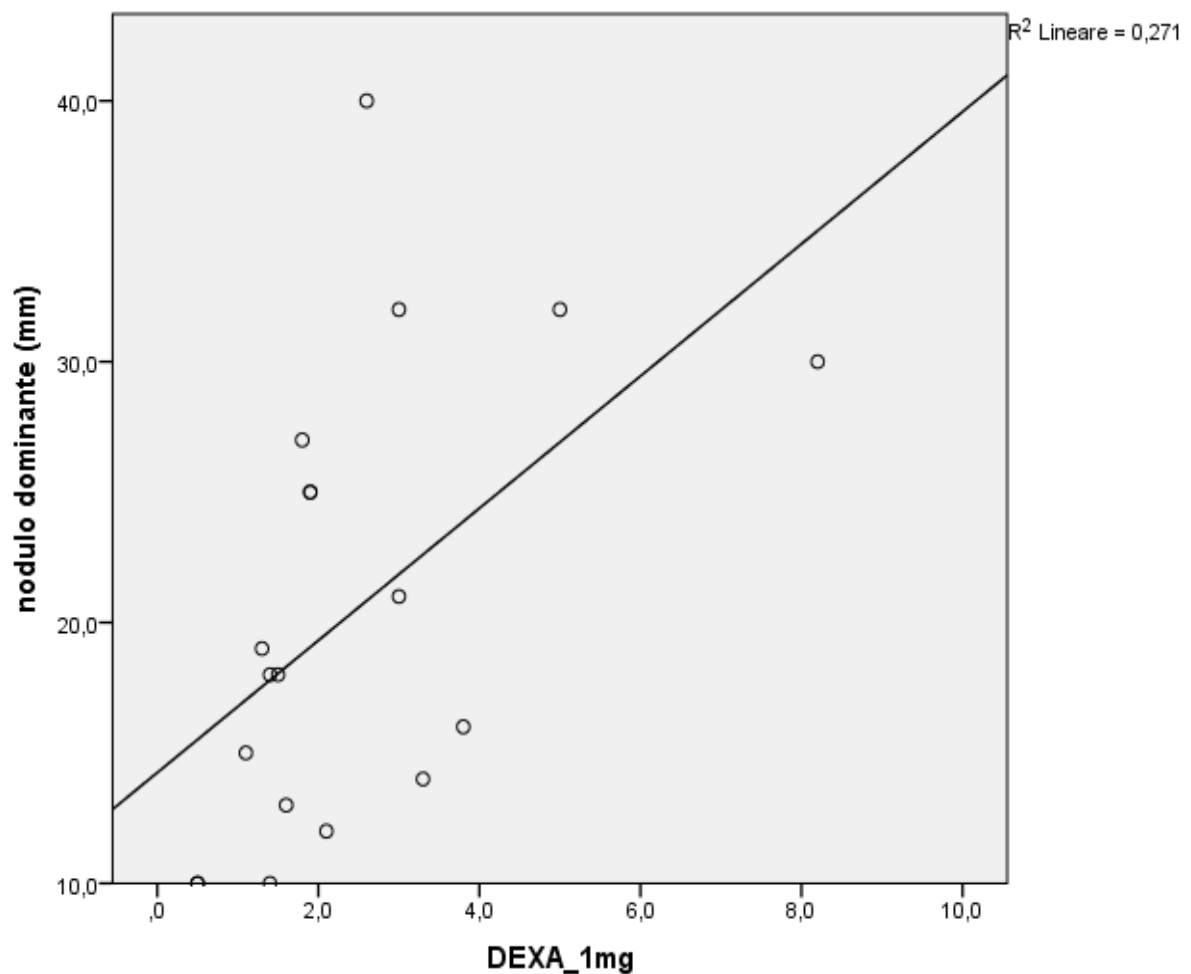
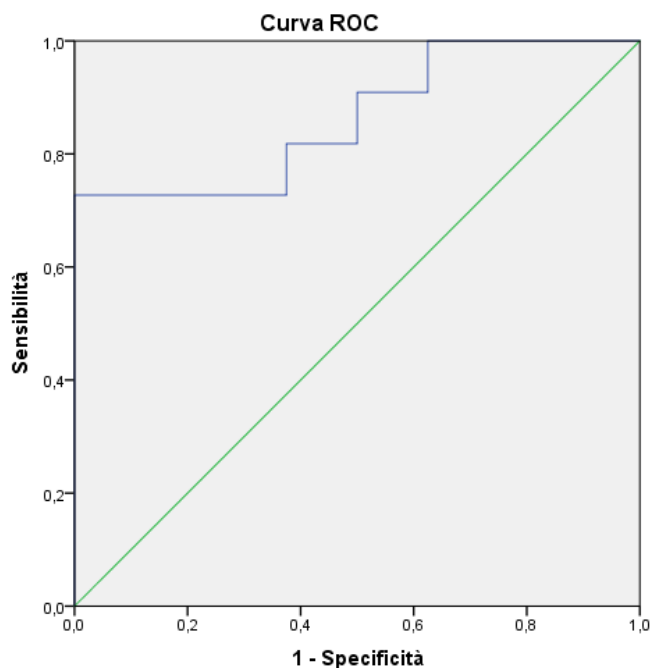


***Figura 5. Correlazione tra dimensioni del nodulo dominante e cortisolemia dopo DST***

Abbiamo quindi costruito una curva ROC per definire la l'accuratezza del criterio dimensionale nello stabilire la probabilità di un risultato positivo al DST. Abbiamo così ottenuto un valore di AUC pari a 0.864, con un cutoff di 15,5 mm a cui corrispondono una sensibilità dell'81.8% e una specificità del 62.5% (figura 6).



AUC 0,864

Cut-off 15,5 mm

SE 81,8%

SP 62,5%

***Figura 6. Curva ROC dimensioni nodulo dominante – risposta positiva al DST***

Nel nostro campione, i pazienti affetti da iperaldosteronismo isolato presentavano valori plasmatici di potassio più bassi ( $3.4 \pm 0.3$  vs  $4.0 \pm 0.8$  mEq/l;  $p=0.01$ ), a fronte di un maggiore utilizzo di supplementi orali (n.s.).

Anche dopo la suddivisione in base al DST, abbiamo osservato una differenza marcata e statisticamente significativa in termini di CTX. Ipotizzando che potesse essere legata al sesso, dato nella popolazione femminile normale si registrano generalmente valori di CTX maggiori, abbiamo confrontato i valori di CTX tra uomini e donne (rispettivamente  $573.8 \pm 339.6$  e  $509.1 \pm 216.6$  pg/ml, n.s.), quindi abbiamo analizzato separatamente i risultati nei due gruppi suddivisi sia sulla base della co-secrezione che sulla base del genere: sorprendentemente, abbiamo rilevato che i soggetti di sesso maschile con iperaldosteronismo isolato presentavano valori di CTX maggiori rispetto a tutte le altre categorie di soggetti ( $807.9 \pm 283.4$  pg/ml).

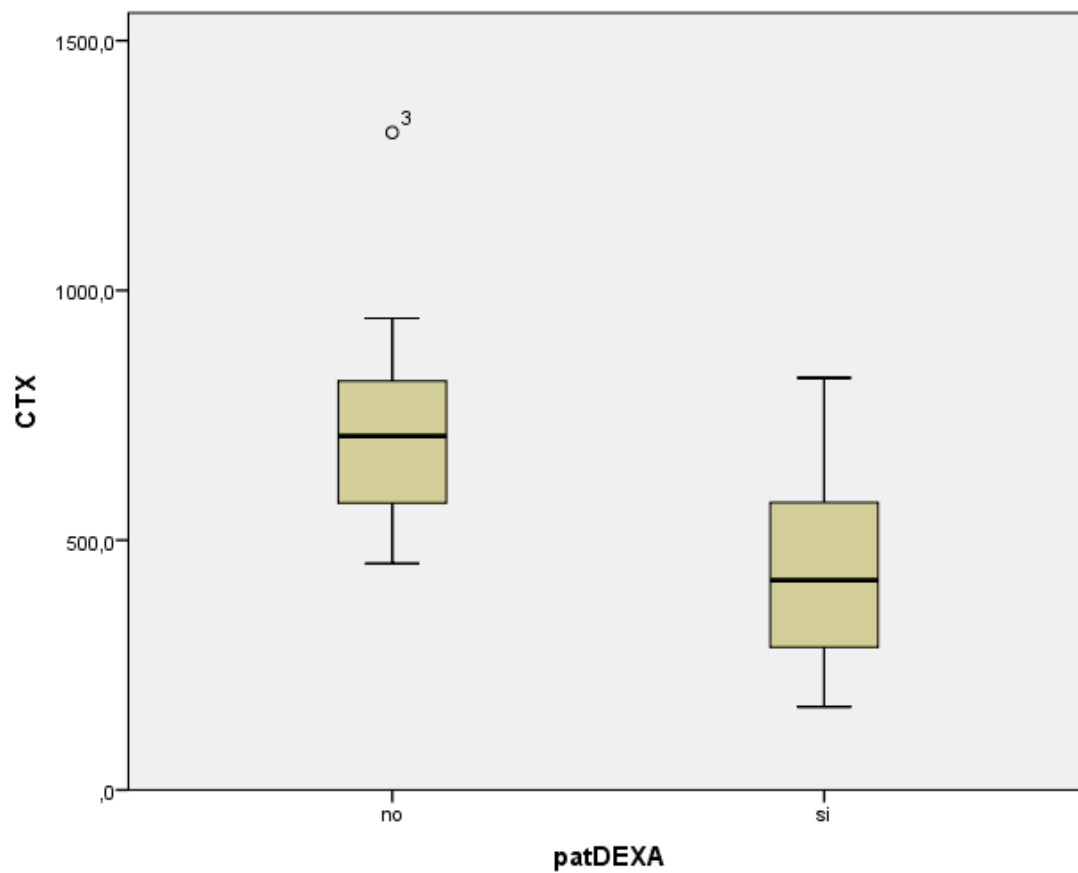


**Figura 7: box-plot dei valori di CTX confrontati sulla base della risposta al DST**

Infine, come per quanto riguardava la co-secrezione definita da multipli test, non sono emerse differenze statisticamente significative in termini di complicanze cardiovascolari tra i gruppi con risposta normale o patologica al DST.

|                            |                    | NO ACS (n= 15) | ACS (n= 15) |             |
|----------------------------|--------------------|----------------|-------------|-------------|
| <b>Complicanze CV (28)</b> |                    | 12/14          | 13/14       | <i>n.s.</i> |
|                            | <b>0</b>           | 2              | 1           | <i>n.s.</i> |
|                            | <b>1</b>           | 5              | 2           | <i>n.s.</i> |
|                            | <b>2</b>           | 3              | 7           | <i>n.s.</i> |
|                            | <b>3</b>           | 4              | 4           | <i>n.s.</i> |
|                            | <b>4</b>           | 0              | 0           | <i>n.s.</i> |
| <b>Disglicemia</b>         |                    |                |             | <i>n.s.</i> |
|                            | <b>IFG</b>         | 4/15           | 7/15        | <i>n.s.</i> |
|                            | <b>HbA1c&gt;42</b> | 3/12           | 3/12        | <i>n.s.</i> |
| <b>ECG</b>                 |                    | 15             | 15          | <i>n.s.</i> |
|                            | <b>Normale</b>     | 15             | 12          | <i>n.s.</i> |
|                            | <b>IVSX</b>        | 0              | 3           | <i>n.s.</i> |
| <b>MOC</b>                 |                    | 9              | 11          | <i>n.s.</i> |
|                            | <b>Normale</b>     | 4              | 5           | <i>n.s.</i> |
|                            | <b>Osteopenia</b>  | 4              | 6           | <i>n.s.</i> |
|                            | <b>Osteoporosi</b> | 1              | 0           | <i>n.s.</i> |
| <b>ECD VASI EPIAORTICI</b> |                    | 8              | 7           | <i>n.s.</i> |
|                            | <b>Normale</b>     | 5              | 2           | <i>n.s.</i> |
|                            | <b>Ateromasia</b>  | 3              | 5           | <i>n.s.</i> |
| <b>FOO</b>                 |                    | 8              | 5           | <i>n.s.</i> |
|                            | <b>Normale</b>     | 1              | 0           | <i>n.s.</i> |
|                            | <b>retinopatia</b> | 7              | 5           | <i>n.s.</i> |
| <b>ABPM</b>                |                    | 8              | 10          | <i>n.s.</i> |
|                            | <b>Normale</b>     | 3              | 1           | <i>n.s.</i> |
|                            | <b>Patologico</b>  | 5              | 9           | <i>n.s.</i> |

**Tabella 6: confronto delle complicanze di malattia (solo test DEXA 1 mg)**

Dei 43 pazienti arruolati, 22 erano stati sottoposti a procedura di cateterismo selettivo delle vene surrenaliche. Di questi, la percentuale di successo di incannulamento è risultata significativamente più alta a sinistra (95,5%) che a destra (31,8%). Nel complesso, utilizzando anche i dati di imaging, il 54,5% delle procedure effettuate è riuscito a dimostrare una significativa lateralizzazione dell'ipersecrezione e ha permesso di indirizzare i pazienti verso una soluzione chirurgica.

Poiché i pazienti che erano stati sottoposti a cateterismo dei vasi surrenalici e anche a test di soppressione con 1 mg di desametasone erano insufficienti per un'analisi attendibile, abbiamo considerato, nello studio dei risultati del cateterismo, solo i pazienti definiti come co-secretori dalla presenza di almeno un test alterato. In base a questo criterio, abbiamo suddiviso i pazienti che avevano effettuato lo screening per l'ipercortisolismo (in totale 17) in co-secretori (7) e non co-secretori (10). Abbiamo quindi confrontato le percentuali di successo della procedura, sia in termini di incannulamento che di lateralizzazione, senza rilevare differenze significative. Abbiamo quindi confrontato la mediana dei valori di cortisolo misurati nel lato corrispondente alla lesione ipersecernente aldosterone, considerato quindi come "lato dominante", oltre che la mediana dei valori di cortisolo rilevata in vena cava

inferiore nei due sottogruppi di pazienti. Benchè i dati non abbiano raggiunto la significatività statistica, i livelli medi di cortisolo rilevati nel lato dominante sono risultati molto più alti nel gruppo con doppia ipersecrezione rispetto a quelli ipersecernenti solo aldosterone ( $203,8 \pm 201,8$  µg/dl rispetto a  $59,1 \pm 55,7$  µg/dl,  $p=0,11$ ), mentre abbiamo osservato l'opposto per quanto riguarda i livelli di aldosterone. Ai limiti della significatività, inoltre, abbiamo rilevato che i valori di cortisolo misurati in vena cava inferiore risultavano maggiori nei pazienti che presentavano la co-secrezione aldosterone-cortisolo rispetto a quelli con iperproduzione di aldosterone isolato. Tali dati sono tutti riassunti in tabella 7.

|                            | <b>Totale (22)</b>   | <b>noACS (10)</b>      | <b>ACS (7)</b>          |                |
|----------------------------|----------------------|------------------------|-------------------------|----------------|
| <b>Incannulamento dx</b>   | 7 (31,8%)            | 3 (30,0%)              | 3 (42,9%)               | <i>n.s.</i>    |
| <b>Incannulamento sx</b>   | 21 (95,5%)           | 9 (90,0%)              | 7 (100,0%)              | <i>n.s.</i>    |
| <b>Lateralizzazione</b>    | 12 (54,5%)           | 6 (60,0%)              | 4 (57,1%)               | <i>n.s.</i>    |
| <b>Cortisolo massimo</b>   | 35.0 (23.2-126.5)    | 35.0 (23.8-104.4)      | 173.4 (24.8-345.0)      | <i>n.s.</i>    |
| <b>Cortisolo VCI</b>       | 12.9 (9.9-16.5)      | <b>10.3 (8.1-11.7)</b> | <b>16.2 (12.8-21.2)</b> | <b>p=0,051</b> |
| <b>Aldosterone massimo</b> | 844.5 (360.8-6225.0) | 2078.5 (384.0-8552.5)  | 936.0 (829.0-8420.0)    | <i>n.s.</i>    |
| <b>Aldosterone VCI</b>     | 210.5 (151.5-343.5)  | 211.5 (164.5-348.0)    | 219.0 (205.0-342.0)     | <i>n.s.</i>    |

***Tabella 7: confronto tra i dati dell'AVS; mediana, IQR***

## 4.5 DISCUSSIONE

L'iperaldosteronismo primario e l'ipercortisolismo sono due patologie di origine surrenalica che presentano importanti ripercussioni metaboliche e caratteristiche cliniche comuni.

Studi precedenti, come ad esempio quello di Bhatt e collaboratori, hanno rilevato una prevalenza di co-secrezione aldosterone-cortisolo in una percentuale di casi compresa tra il 4 e il 16% dei pazienti affetti da iperaldosteronismo. Gli stessi Autori, per definire la presenza dell'ipercortisolismo, hanno utilizzato il test di soppressione con 1 mg di desametasone *overnight* (DST) e il test di soppressione a basse dosi di desametasone (LDDS). [16] Diversi studi hanno dimostrato la presenza di una doppia ipersecrezione aldosterone-cortisolo con una frequenza molto maggiore a quanto ritenuto in passato [16], in linea con la nostra popolazione, dove abbiamo rilevato un'altissima percentuale di pazienti con evidenza di tale co-secrezione, corrispondente al 50.0% o al 58.4% a seconda del criterio diagnostico utilizzato (nel primo caso utilizzando solo il DST, nel secondo utilizzando DST, LNSC, CLU e/o ACTH < 10 pg/ml). A sostegno di quanto riscontrato da noi, Gerards e collaboratori, utilizzando tre criteri diversi combinati (DST, LNSC e CLU), hanno rilevato la presenza della co-secrezione in 125 pazienti su 161, corrispondenti al 77.6% della popolazione studiata, mentre hanno riportato una risposta patologica al DST nel 21,7% dei pazienti. [10]

Nella nostra popolazione, la presenza di singole lesioni surrenaliche o di quadri di iperplasia surrenalica mono- o bilaterale non è apparso determinante ai fini di prevedere l'eventualità di una doppia secrezione. D'altra parte, le dimensioni della lesione maggiore (sia nel caso di una singola lesione che nel contesto di un'iperplasia) hanno mostrato un certo grado di correlazione con la presenza di co-secrezione. Rossi e collaboratori hanno confermato che gli adenomi a doppia ipersecrezione sembrano avere dimensioni maggiori rispetto agli adenomi che ipersecernenti aldosterone con un diametro medio di 2,7 cm contro 1,7 cm, [15] in linea con quanto riportato da noi (2,5 cm contro 1,4 cm). Anche Bhatt e collaboratori hanno riportato una dimensione media delle lesioni a doppia secrezione > 1,9 cm. [16] Ulteriori studi, inoltre, hanno escluso la presenza di doppia secrezione negli adenomi di dimensioni inferiori a 1 cm. [15] In base ai nostri dati, il criterio dimensionale risulta moderatamente accurato nel definire la probabilità di risposta patologica al DST, con una sensibilità dell'81,8% e una specificità del 62,5% scegliendo un cutoff di 15,5 mm.

Da un punto di vista clinico, nessuno dei 43 pazienti arruolati nel nostro studio presentava le stimate tipiche dell'ipercortisolismo (es. facies lunaris, gibbo di bufalo, striae rubrae...)

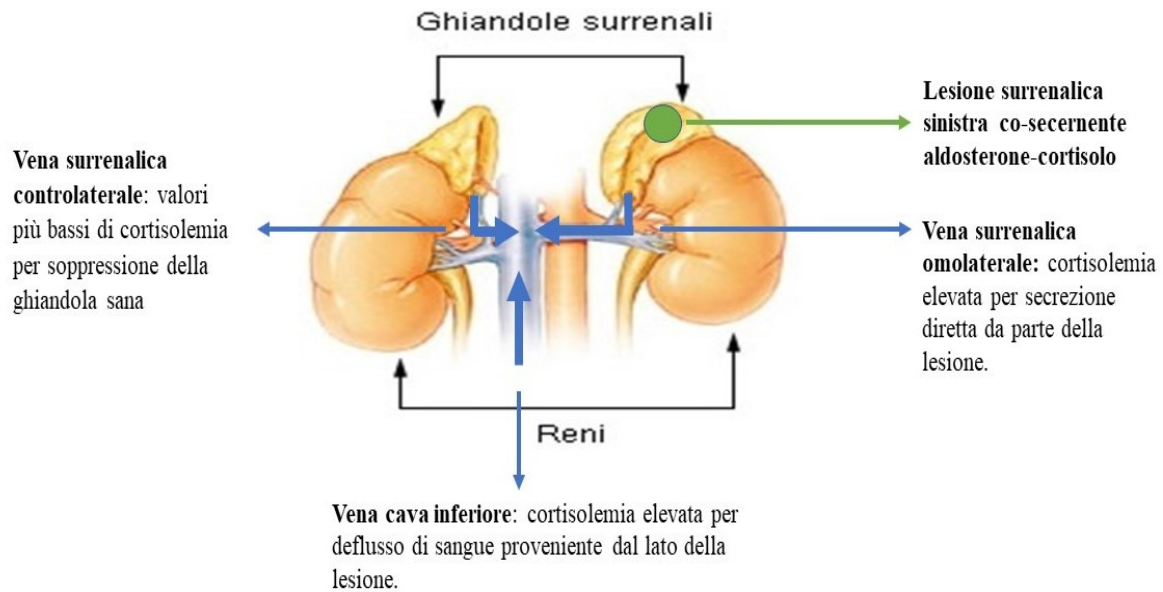
configurando tutti i casi di co-secrezione come ipercortisolismo *mild*. Nello studio di Rossi e collaboratori 6 su 33 pazienti presentavano una sindrome di Cushing *overt*, mentre nei restanti casi l'ipercortisolismo rappresentava un elemento subclinico. [15] Tutto ciò suggerisce che l'assenza delle caratteristiche cliniche associate all'ipercortisolismo non permetta di escludere a priori la presenza di un'effettiva co-secrezione, confermando la necessità di sottoporre a screening tutti i pazienti con diagnosi di iperaldosteronismo primario.

Per quanto riguarda il metabolismo glicidico, i pazienti arruolati nel nostro studio non hanno mostrato differenze statisticamente significative in termini di glicemia a digiuno né di emoglobina glicata tra soggetti con iperaldosteronismo primario e soggetti con co-secrezione; allo stesso modo, non abbiamo osservato alcuna differenza in termini di prevalenza di stati disglicemici (alterata glicemia a digiuno o HbA1c > 42 mmol/mol) tra le due categorie di soggetti. In linea con i nostri dati, lo studio di Gerards e collaboratori non ha rilevato differenze in termini di glicemia a digiuno e di emoglobina glicata nei pazienti che presentavano co-secrezione aldosterone-cortisolo; d'altra parte, gli stessi Autori hanno anche sottoposto i pazienti ad OGTT, rilevando valori significativamente più alti di glicemia a 2 ore nei pazienti con DST alterato. Inoltre, nella loro popolazione, i pazienti affetti da iperaldosteronismo isolato mostravano valori di HOMA-IR decisamente più elevati rispetto ai controlli sani, confermando comunque che l'aldosterone sarebbe in grado di influenzare direttamente l'insulino – resistenza. [10] A tal proposito, va segnalata l'elevata percentuale di pazienti con alterata glicemia a digiuno (41,7%) e sovrappeso (78,0%) presenti nel nostro campione, che appare del tutto in linea con queste considerazioni.

Dal punto di vista del metabolismo osseo, gli effetti della co-secrezione aldosterone-cortisolo sul tessuto osseo non sono ancora stati studiati. Nessuno, tra i nostri pazienti, soffriva di osteoporosi severa, presentava storia di fratture da fragilità o stava effettuando trattamenti specifici per l'osteoporosi. I dati densitometrici in nostro possesso, disponibili per un numero limitato di pazienti, non hanno evidenziato differenze significative tra i due gruppi di pazienti. Tuttavia, abbiamo rilevato valori di CTX (il principale marcatore di riassorbimento osseo) molto più elevati nei soggetti con iperaldosteronismo isolato rispetto a quelli con doppia ipersecrezione. Data la maggiore percentuale di soggetti di sesso maschile nel gruppo dei co-secretori, abbiamo quindi analizzato separatamente i dati, confermando, tuttavia, il riscontro di questa differenza. Per di più, abbiamo rilevato che i soggetti di sesso maschile affetti da iperaldosteronismo isolato erano quelli con i livelli di CTX più elevati. Alcuni Autori hanno riportato che i pazienti con iperaldosteronismo isolato mostrano valori di CTX più elevati

rispetto alla popolazione generale come conseguenza di uno stato di iperparatiroidismo indotto dall'eccesso di aldosterone. [18] Allo stesso modo, la sindrome di Cushing si accompagna ad aumento dei marcatori di riassorbimento osseo (CTX) e a contemporanea riduzione dei marcatori di formazione ossea (come osteocalcina e P1NP) che possono regredire dopo rimozione della causa dell'ipercortisolismo. [13] Partendo da queste premesse, aver osservato una maggiore tendenza al riassorbimento osseo nei pazienti con iperaldosteronismo isolato risulta un controsenso, dal momento che sarebbe stato ragionevole attendersi un effetto sinergico dei due eccessi ormonali e non un apparente effetto protettivo dell'ipercortisolismo. Le ragioni fisiopatologiche alla base di questo fenomeno, al momento, risultano sconosciute e sono necessari ulteriori studi per stabilire quali siano le conseguenze cliniche, in termini di BMD e di rischio di fratture, di questa condizione.

Infine, l'analisi dei risultati derivanti dal cateterismo dei vasi surrenalici, benché limitata dall'esiguità dei dati disponibili, ha mostrato dei risvolti interessanti. Dal momento che il successo tecnico di questa metodica viene stabilito sulla base dei livelli plasmatici di cortisolo (nello specifico dal rapporto tra cortisolemia nella vena surrenalica e cortisolemia in vena cava inferiore), in linea teorica si potrebbe ipotizzare che la presenza di una lesione a secrezione mista potrebbe influenzare l'esito dell'indagine, in quanto la produzione ACTH-indipendente di cortisolo potrebbe indurre una soppressione funzionale della ghiandola surrenalica controlaterale e un contemporaneo aumento della cortisolemia nel segmento vascolare a valle della lesione.



CRITERIO DI INCANNULAMENTO Vena DX. :  $\text{Cortisolo Vena destra} / \text{Cortisolo Vena cava} \geq 1 \rightarrow$  la co-secrezione cortisolo aldosterone potrebbe far pensare ad una errata cateterizzazione a destra perchè determina una diminuzione della concentrazione del cortisolo in vena surrenalica e aumento della concentrazione di cortisolo in vena cava inferiore.

**Figura 5: concentrazioni di cortisolo nelle vene surrenaliche e vena cava in corso di patologia unilaterale.**

A sostegno di questa ipotesi, la secrezione di cortisolo, del lato definito come “dominante” sulla base della confermata ipersecrezione di aldosterone, si è dimostrata sensibilmente maggiore nei soggetti con co-secrezione documentata da test multipli rispetto ai soggetti con iperaldosteronismo isolato, sebbene tale dato non abbia raggiunto la significatività statistica. Inoltre, i livelli plasmatici di cortisolo in vena cava inferiore sono risultati maggiori di oltre la metà nei pazienti con doppia secrezione. Riteniamo che il mancato raggiungimento della significatività statistica derivi dalla limitatezza del nostro campione (17 soggetti) e che tali dati potrebbero essere confermati incrementando la dimensione campionaria. A sostegno della nostra ipotesi, uno studio recentissimo di O'Toole e collaboratori, condotto su 144 pazienti, ha confermato la presenza di valori più elevati di cortisolemia in vena cava inferiore durante AVS nei pazienti con doppia ipersecrezione diagnosticata mediante DST . [19] Tali risultati avrebbero dei risvolti importati, in quanto potrebbero sovrastimare il fallimento diagnostico dell'AVS e limitare le chance di guarigione nei pazienti altrimenti operabili. Un corretto inquadramento al momento della diagnosi, pertanto, permetterebbe di indirizzare i pazienti verso procedure diagnostiche alternative rispetto all'AVS classico, come ad esempio l'AVS con dosaggio delle metanefrine plasmatiche o degli androgeni surrenalici. [20]. D'altra parte,

il mancato riconoscimento di un quadro di co-secrezione, nei soggetti non candidabili al trattamento chirurgico (come in caso di iperplasia surrenalica bilaterale) e trattati con farmaci anti-aldosteronici, potrebbe esporre questa categoria di pazienti alle conseguenze a lungo termine dell'ipercortisolismo *mild*, quali l'insorgenza o la persistenza di ipertensione arteriosa, obesità, dislipidemia e diabete mellito di tipo 2. [21] Inoltre, i pazienti con doppia ipersecrezione che vadano incontro a surrenectomia sono esposti a un maggiore rischio di insufficienza surrenalica, dal momento che la soppressione, parziale o totale, della funzione della ghiandola surrenalica potrebbe rendersi manifesta durante l'intervento e complicare drammaticamente il decorso post-operatorio.

## 4.6 CONCLUSIONI

Nei pazienti affetti da iperaldosteronismo primario, la contemporanea presenza di un'autonoma ipersecrezione surrenalica di cortisolo rappresenta una condizione frequente, correlata alle dimensioni delle lesioni, che nella nostra popolazione ha superato il 50% dei casi. Nonostante, al momento, le conseguenze cliniche di questo stato non risultino evidenti, il possibile sviluppo di complicanze ossee e metaboliche a lungo termine rende necessaria l'esecuzione di ulteriori indagini. Il nostro è stato il primo studio ad aver evidenziato un possibile risvolto della co-secrezione aldosterone-cortisolo sul metabolismo osseo, che andrà ulteriormente approfondito, e, benché limitato dalla dimensione campionaria, ha suggerito un potenziale effetto confondente della co-secrezione sull'interpretazione dei risultati del cateterismo selettivo delle vene surrenaliche. Restano da stabilire quali siano i migliori approcci diagnostici e terapeutici una volta identificati i pazienti affetti da co-secrezione aldosterone-cortisolo.

## Bibliografia

- [1] G. C. F. M. Giorgio De toma, Patologia e chirurgia del surrene. Chirurgia generale. Pagine 1136, 2019.
- [2] L. B. P. Dionigi, Surreni. Chirurgia - basi teoriche e chirurgia generale. Pagine 1884, 2011.
- [3] Vaidya A, Mulatero P, Baudrand R, Adler GK. The Expanding Spectrum of Primary Aldosteronism: Implications for Diagnosis, Pathogenesis, and Treatment. *Endocr Rev.* 2018;39(6):1057-1088. doi:10.1210/er.2018-00139.
- [4] Byrd JB, Turcu AF, Auchus RJ. Primary Aldosteronism: Practical Approach to Diagnosis and Management. *Circulation.* 2018;138(8):823-835. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.118.033597.
- [5] Gian Paolo Rossi , Valeria Bisogni , et al. The 2020 Italian Society of Arterial Hypertension (SIIA) practical guidelines for the management of primary aldosteronism. 2020 .International Journal of Cardiology Hypertension.
- [6] Funder JW, Carey RM, Mantero F, Murad MH, Reincke M, Shibata H, Stowasser M, Young WF Jr. The Management of Primary Aldosteronism: Case Detection, Diagnosis, and Treatment: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016 Ma.
- [7] Boscaro M, Arnaldi G. Approach to the patient with possible Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(9):3121-3131. doi:10.1210/jc.2009-0612.
- [8] Andrea Giustina, Tatiana Mancini , Gherardo Mazziotti. Malattie del surrene. 2010. Rugarli medicina interna sistematica. Pagine: 2214.
- [9] Petramala L, Zinamosca L, Settevendemmie A, et al. Bone and mineral metabolism in patients with primary aldosteronism. *Int J Endocrinol.* 2014;2014:836529. doi:10.1155/2014/836529.
- [10] Gerards J, Heinrich DA, Adolf C, et al. Impaired Glucose Metabolism in Primary Aldosteronism Is Associated With Cortisol Cosecretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 2019;104(8):3192-3202. doi:10.1210/jc.2019-00299.
- [11] Kelsall A, Iqbal A, Newell-Price J. Adrenal incidentaloma: cardiovascular and metabolic effects of mild cortisol excess. *Gland Surg.* 2020;9(1):94-104. doi:10.21037/gs.2019.11.19.
- [12] Terzolo M, Pia A, Reimondo G. Subclinical Cushing's syndrome: definition and management. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2012;76:12-8.
- [13] Braun LT, Fazel J, Zopp S, et al. The Effect of Biochemical Remission on Bone Metabolism in Cushing's Syndrome: A 2-Year Follow-Up Study. *J Bone Miner Res.* 2020;35(9):1711-1717. doi:10.1002/jbmr.4033.
- [14] Athimulam S, Delivanis D, Thomas M, et al. The Impact of Mild Autonomous Cortisol Secretion on Bone Turnover Markers. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020;105(5):1469-1477. doi:10.1210/clinem/dgaa120.

- [15] Rossi E, Foroni M, Regolisti G, et al. Combined Conn's syndrome and subclinical hypercortisolism from an adrenal adenoma associated with homolateral renal carcinoma. *Am J Hypertens*. 2008;21(11):1269-1272. doi:10.1038/ajh.2008.259.
- [16] Bhatt PS, Sam AH, Meeran KM, Salem V. The relevance of cortisol co-secretion from aldosterone-producing adenomas. *Hormones (Athens)*. 2019;18(3):307-313. doi:10.1007/s42000-019-00114-8.
- [17] Ferrari P, Shaw SG, Nicod J, Saner E, Nussberger J. Active renin versus plasma renin activity to define aldosterone-to-renin ratio for primary aldosteronism. *J Hypertens*. 2004;22(2):377-81 per DRC-PRA.
- [18] Loh HH, Kamaruddin NA, Zakaria R, Sukor N. Improvement of bone turnover markers and bone mineral density following treatment of primary aldosteronism. *Minerva Endocrinol*. 2018;43(2):117-125. doi:10.23736/S0391-1977.16.02553-0.
- [19] O'Toole SM, Sze WC, Chung TT, et al. Low-grade Cortisol Cosecretion Has Limited Impact on ACTH-stimulated AVS Parameters in Primary Aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020;105(10):dgaa519. doi:10.1210/clinem/dgaa519.
- [20] Dekkers T, Deinum J, Schultzekool LJ, et al. Plasma metanephrine for assessing the selectivity of adrenal venous sampling. *Hypertension*. 2013;62(6):1152-1157. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.01601.
- [21] Elhassan YS, Alahdab F, Prete A, et al. Natural History of Adrenal Incidentalomas With and Without Mild Autonomous Cortisol Excess: A Systematic Review and Meta-analysis. *Ann Intern Med*. 2019;171(2):107-116. doi:10.7326/M18-3630.