

*UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA*

*Scuola di Medicina e Chirurgia*

*Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia*

*Dipartimento di Endocrinologia e Malattie del Metabolismo*

*Direttore ad interim: Prof. Roberto Vettor*

TESI DI LAUREA

**Valori dell'emocromo nei pazienti con incidentaloma del  
surrene**

Relatore: Prof. Filippo Ceccato

Laureando: Aurelio Porsenna

N. matricola: 1203968

Anno accademico: 2023 – 2024

Sede di Padova



## INDICE

RIASSUNTO	1
ABSTRACT	3
1. INTRODUZIONE	
1.1. Definizione di incidentaloma del surrene	5
1.2. Epidemiologia dell'incidentaloma del surrene	7
1.3. Storia naturale ed approccio clinico dell'incidentaloma del surrene	8
1.4. Definizione di ipercortisolismo e dati epidemiologici	11
1.5. Presentazione clinica della sindrome di Cushing	12
1.6. Definizione e caratteristiche di ipercortisolismo subclinico	15
1.6.1. Introduzione del concetto di MACS (mild autonomous cortisol secretion)	18
1.6.2. Trattamento dell'ipercortisolismo subclinico/MACS	20
1.7. Effetti dell'ipercortisolismo sulla conta leucocitaria	22
1.8. Effetti dell'ipercortisolismo sui valori dell'emocromo	25
1.8.1. Differenze di genere e sottotipo – specifiche nel contesto dell'ipercortisolismo	26
1.9. Correlazione fra gli indici infiammatori ematologici ed il rischio cardiovascolare	26
2. SCOPO DELLO STUDIO	30
2.1. Obiettivo primario	30
2.2. Obiettivo secondario	30
3. MATERIALI E METODI	31
3.1. Modello di studio	31
3.2. Popolazione	31
3.3. Raccolta dati	32
3.3.1. Dati clinici e anamnestici	32
3.3.2. Dati radiologici	33
3.3.3. Dati biochimici	33
3.4. Analisi statistica	34

4.	RISULTATI	35
4.1.	Caratteristiche della popolazione alla diagnosi	35
4.2.	Caratteristiche della popolazione al baseline	36
4.2.1.	Caratteristiche dell'emocromo nella popolazione in base a sesso e secrezione autonoma di cortisolo al baseline	36
4.2.2.	Caratteristiche dell'emocromo con formula leucocitaria nella popolazione in base ad età e secrezione autonoma di cortisolo al baseline	46
4.3.	Secrezione autonoma di cortisolo ed eventi cardiovascolari maggiori al baseline	52
4.4.	Caratteristiche della popolazione al 1° controllo	56
4.4.1.	Caratteristiche dell'emocromo nella popolazione in base a sesso e secrezione autonoma di cortisolo al 1° controllo	57
4.4.2.	Caratteristiche dell'emocromo nella popolazione in base ad età e secrezione autonoma di cortisolo al 1° controllo	62
4.5.	Secrezione autonoma di cortisolo ed eventi cardiovascolari maggiori al 1° controllo	62
4.6.	Confronto fra valori dell'emocromo al baseline e al 1° controllo	62
4.7.	Caratteristiche della popolazione al 2° controllo	62
5.	DISCUSSIONE	64
5.1.	Caratteristiche della popolazione alla diagnosi	64
5.2.	Caratteristiche della popolazione al baseline	65
5.2.1.	Differenze fra i valori dell'emocromo al baseline fra pazienti di sesso maschile e femminile: MACS vs NF – AI	65
5.2.2.	Differenze fra i valori dell'emocromo al baseline fra pazienti con MACS ed NF – AI: maschi vs femmine	67
5.2.3.	Differenze fra i valori dell'emocromo al baseline fra pazienti over – 65 ed under – 65: MACS vs NF – AI	68

5.2.4.	Differenze fra i valori dell'emocromo al baseline fra pazienti con MACS e pazienti con NF – AI: over – 65 vs under – 65	69
5.2.5.	Cortisolo post – DST, valori dell'emocromo e rischio cardiovascolare	70
5.3.	Caratteristiche della popolazione al 1° controllo	70
5.3.1.	Differenze fra i valori dell'emocromo al 1° controllo fra pazienti di sesso maschile e femminile: MACS vs NF – AI	70
5.3.2.	Differenze fra i valori dell'emocromo al 1° controllo fra pazienti con MACS ed NF – AI: maschi vs femmine	71
5.4.	Confronto dei valori dell'emocromo fra baseline e 1° controllo	72
6.	CONCLUSIONI	73
7.	BIBLIOGRAFIA	75
	RINGRAZIAMENTI	

## **RIASSUNTO**

### **Presupposti dello studio**

L'incidentaloma del surrene (IS) è definito come una massa surrenalica riscontrata incidentalmente nel contesto di altre indagini o trattamenti effettuati per altre cause.

Stime effettuate sulla popolazione generale pongono la sua prevalenza fra lo 0.1 e lo 0.43 %.

Un percentuale variabile dal 5 al 30% di pazienti con IS presenta inoltre ipercortisolismo subclinico, definito come uno stato di alterata secrezione di cortisolo con perdita del feedback dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA), in assenza dei classici segni o sintomi dell'ipercortisolismo, ma associato comunque ad una maggior incidenza di eventi cardiovascolari.

Le linee guida ESE/European Network for Study of Adrenal Tumors (ENSAT) del 2023 introducono il concetto di MACS, ovvero "mild autonomous cortisol secretion", per descrivere l'evidenza biochimica di una secrezione anomala di cortisolo, tipicamente associata al riscontro di incidentaloma del surrene.

È inoltre noto come l'ipercortisolismo clinico si associ ad alterazioni sesso – specifiche e sottotipo – specifiche dell'emocromo con formula leucocitaria.

### **Materiali e metodi**

Abbiamo realizzato uno studio osservazionale retrospettivo su una popolazione costituita da 157 pazienti, afferenti agli ambulatori dell'endocrinologia dell'Azienda Ospedaliera di Padova tra il 2001 ed il 2024.

### **Scopo dello studio**

L'obiettivo primario è investigare se le medesime alterazioni possano essere riscontrate anche nei pazienti con incidentaloma del surrene ed ipercortisolismo subclinico.

Come obiettivo secondario, abbiamo cercato un'eventuale correlazione fra il MACS ed eventi cardiovascolari maggiori.

### **Discussione**

I nostri risultati hanno mostrato che non solo la secrezione autonoma lieve di cortisolo si associ a differenze sesso – specifiche dei valori dell'emocromo con conta leucocitaria, talvolta analoghi a quelli documentati in letteratura nei pazienti con sindrome di Cushing, ma anche a nuove differenze dipendenti dall'età.

### **Conclusioni**

Abbiamo dunque evidenziato che anche la secrezione autonoma lieve di cortisolo può associarsi ad alterazioni dell'eritropoiesi, della funzione immunitaria e dello stato infiammatorio dei pazienti con diagnosi di incidentaloma del surrene e MACS.

## **ABSTRACT**

### **Background**

Adrenal incidentaloma (IS) is defined as an adrenal mass found incidentally in the context of other investigations or treatments performed for other causes.

Estimates made on the general population place its prevalence between 0.1 and 0.43%.

A percentage varying from 5 to 30% of patients with IS also presents subclinical hypercortisolism, defined as a state of altered cortisol secretion with loss of feedback from the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis, in the absence of the classic signs or symptoms of hypercortisolism, but still associated with a greater incidence of cardiovascular events.

The 2023 ESE/European Network for Study of Adrenal Tumors (ENSAT) guidelines introduce the concept of MACS, or "mild autonomous cortisol secretion", to describe the biochemical evidence of abnormal cortisol secretion, typically associated with the finding of incidentaloma of the adrenal gland.

It is also known that clinical hypercortisolism is associated with sex-specific and subtype-specific alterations of the blood count with leukocyte formula.

### **Materials and methods**

We conducted a retrospective observational study on a population consisting of 157 patients attending the endocrinology clinics of the Padua Hospital between 2001 and 2024.

### **Objective**

The primary objective is to investigate whether the same alterations can also be found in patients with adrenal incidentaloma and subclinical hypercortisolism.

As a secondary objective, we looked for a possible correlation between MACS and major cardiovascular events.

### **Results**

Our results showed that not only the mild autonomous secretion of cortisol is associated with sex-specific differences in blood count values with leukocyte count, sometimes similar to those documented in the literature in patients with Cushing's syndrome, but also with new differences dependent from age.

### **Conclusions**

We have therefore highlighted that even mild autonomous secretion of cortisol can be associated with alterations in erythropoiesis, immune function and the inflammatory state of patients diagnosed with adrenal incidentaloma and MACS.

## 1. INTRODUZIONE

---

### 1.1. DEFINIZIONE DI INCIDENTALOMA DEL SURRENE

L'incidentaloma del surrene (IS) è definito come una massa surrenalica non evidente dal punto di vista clinico, riscontrata incidentalmente nel contesto di altre indagini o trattamenti effettuati per cause non correlate alle ghiandole surrenali [1].

È necessario che esso abbia una dimensione pari ad almeno 1 cm, valore che arbitrariamente è stato identificato come cut – off per la definizione di incidentaloma del surrene [2, 3].

Altro parametro necessario per poter definire una massa come incidentaloma, è che il paziente nel quale viene riscontrata non abbia mai avuto una storia personale di patologia surrenalica né abbia, al momento della diagnosi, segni e/o sintomi riconducibili ad essa [3].

Definendo l'IS in questo modo, è chiaro come esso non corrisponda ad una specifica tipologia di tumore del surrene, ma che al contrario diverse tipologie possano rientrare nella definizione se ne soddisfano i criteri; si tratta quindi di uno spettro di lesioni variegata fra benigne, maligne ed extra-surrenaliche (Tabella 1) [4].

<b>Lesioni della corticale del surrene</b>
Adenoma (non funzionante)
Adenoma (funzionante) – Secernente cortisolo, secernente aldosterone.
Primary Macronodular Adrenal Hyperplasia (PMAH)
Carcinoma Cortico – surrenalico (secernente o non secernente)
<b>Lesioni della midollare del surrene</b>
Feocromocitoma (benigno o maligno)
Ganglioneuroma

Neuroblastoma, ganglioneuroblastoma
<b>Altre lesioni del surrene</b>
Mielolipoma, lipoma
Emangioma, angiosarcoma
Cisti
Amartoma, teratoma
<b>Metastasi</b>
<b>Patologie infiltrative</b>
Amiloidosi
Sarcoidosi
Linfoma
<b>Infezioni</b>
Ascesso
Funghi/parassiti
Citomegalovirus
<b>Emorragia o ematoma del surrene</b>
<b>Pseudotumor del surrene</b>
<b>Congenital Adrenal Hyperplasia (CAH)</b>

Tabella 1: Lo spettro di lesioni che possono presentarsi come IS [4].

Tecniche di diagnostica per immagini progressivamente più dettagliate, hanno permesso negli anni di incrementare significativamente il numero di masse incidentali del surrene individuate in corso di work-up diagnostici effettuati per altri fini.

Una volta individuate, non è tuttavia possibile definire con certezza e nell'immediato se tali masse siano benigne o maligne, o ancora se siano attive o meno dal punto di vista della secrezione ormonale; ciò nondimeno, tali informazioni saranno necessarie per decidere in merito ad un eventuale trattamento [1].

## **1.2. EPIDEMIOLOGIA DELL'INCIDENTALOMA DEL SURRENE**

La prevalenza esatta di IS non è definibile con precisione, per via della carenza di dati a riguardo provenienti da studi di popolazione; la maggioranza dei dati proviene infatti da studi basati su indagini autoptiche e radiologiche, comunque limitati dalla loro natura retrospettiva, dall'insufficiente corredo di informazioni cliniche e dal bias di campionamento [4].

In base ai risultati degli studi autoptici, la prevalenza media di IS risulta essere del 2.3%, variabile fra l'1 e il 7.8%, senza significative differenze di genere [5, 6].

Stime effettuate sulla popolazione generale, pongono il riscontro di incidentaloma del surrene allo 0.1%, che aumenta allo 0.43% se si considerano pazienti sottoposti ad ecografia per sintomi di origine presumibilmente non endocrinologica; le percentuali arrivano al 4.3% per pazienti con una pregressa diagnosi di patologia neoplastica [1].

IS sono riscontrati più frequentemente in soggetti di età superiore ai 70 anni [7], così come ne è altresì più comune il riscontro in pazienti bianchi, obesi, diabetici ed ipertesi [8].

Secondo due recenti studi basati sull'utilizzo di HRCT, la prevalenza di IS si attesterebbe a 4.4% e 5% [9, 10].

### **1.3. STORIA NATURALE ED APPROCCIO CLINICO DELL'INCIDENTALOMA DEL SURRENE**

L'approccio clinico agli incidentalomi del surrene dipende dallo stadio, grado e localizzazione della massa primaria.

A seguito del riscontro di una massa incidentale in sede surrenalica, è necessario procedere con raccolta anamnestica completa di storia familiare ed esame obiettivo, unitamente ad una valutazione biochimica completa e, se necessario, ulteriori indagini radiologiche.

Le indagini di laboratorio fondamentali per il paziente con incidentaloma surrenalico comprendono sicuramente il test di soppressione con 1 mg di desametasone (DST), e la determinazione delle metanefrine urinarie o plasmatiche, da preferire rispetto alla catecolaminuria delle 24 ore per questioni di maggiore sensibilità; il riscontro di incidentaloma dovrebbe indirizzare anche verso la determinazione di renina, aldosterone e del loro rapporto (ARR), nel sospetto di iperaldosteronismo primario, soprattutto in pazienti ipertesi.

Il test di soppressione al desametasone, positivo per valori di cortisolo superiori a 50 nmol/L con desametonemia efficace, ha lo scopo di individuare un eventuale stato di ipercortisolismo subclinico, nonché evidenziare una condizione di secrezione autonoma di cortisolo, qualora non producesse un effettivo abbattimento dei livelli di cortisolo sierico [1].

Il DST, test utilizzato ormai da 50 anni, sfrutta la capacità del desametasone di sopprimere la produzione ipofisaria di ormone adrenocorticotropo e dell'ormone di rilascio della corticotropina.

Quando l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene è intatto, l'effetto atteso a seguito di somministrazione esogena di cortisone è quello di feedback negativo sui recettori del cortisolo situati a livello di ipotalamo ed ipofisi, con conseguente inibizione del rilascio di CRH (corticotropin-releasing-hormone) e ACTH (ormone adrenocorticotropo); in questo modo vengono sopresse la produzione e la secrezione endogene di cortisolo sierico [11].

Per quanto riguarda l'esecuzione di ulteriori indagini radiologiche, si tratta essenzialmente di TAC o RM volte a determinare con più precisione la natura benigna o maligna delle masse incidentali.

Masse omogenee, dal contorno liscio ed uniforme e con valori di attenuazione del segnale inferiori a 10 HU (Hounsfield Units) sono verosimilmente benigne.

In generale, è raro che masse di dimensioni inferiori ai 4 cm siano maligne, mentre è certamente più probabile che lo siano per dimensioni maggiori ai 6 cm.

La scelta di trattamento chirurgico o meno è guidata essenzialmente dall'evidenza clinica e/o laboratoristica di attività ormonale e dalla potenziale benignità o malignità della massa.

Evidenza di attività glucocorticoide, mineralcorticoide, di secrezione di ormoni sessuali surrenalici (androgeni) o di eccesso di catecolamine, costituiscono un'indicazione per la scelta chirurgica.

La terapia medica potrebbe tuttavia essere una scelta in pazienti con evidenza clinico-laboratoristica di secrezione ormonale autonoma, ma non candidabili alla chirurgia; è il caso dell'utilizzo di inibitori della secrezione di cortisolo per la Sindrome di Cushing o di antagonisti dell'aldosterone per le masse secernenti tale ormone.

In assenza di sintomatologia, la scelta di operare o meno i pazienti con incidentaloma dipende dalla natura della lesione e dal rapporto rischio/beneficio. Ad esempio, i pazienti con feocromocitoma sono soggetti a rischio di crisi ipertensiva e pertanto meritevoli di intervento.

Allo stesso modo, l'adrenalectomia è un'opzione valida nei casi in cui si abbiano ipertensione ed eccesso di aldosterone.

Quanto agli incidentalomi con secrezione autonoma di cortisolo, le opzioni sono il follow-up o l'escissione chirurgica, in base ancora una volta alla natura benigna o maligna della massa, e dalla severità dei sintomi di ipercortisolismo, se presenti. [1]

L'algoritmo per la diagnosi ed il management degli incidentalomi del surrene, estrapolato dalle linee guida del 2016, è riassunto di seguito. (Figura 1) [4].

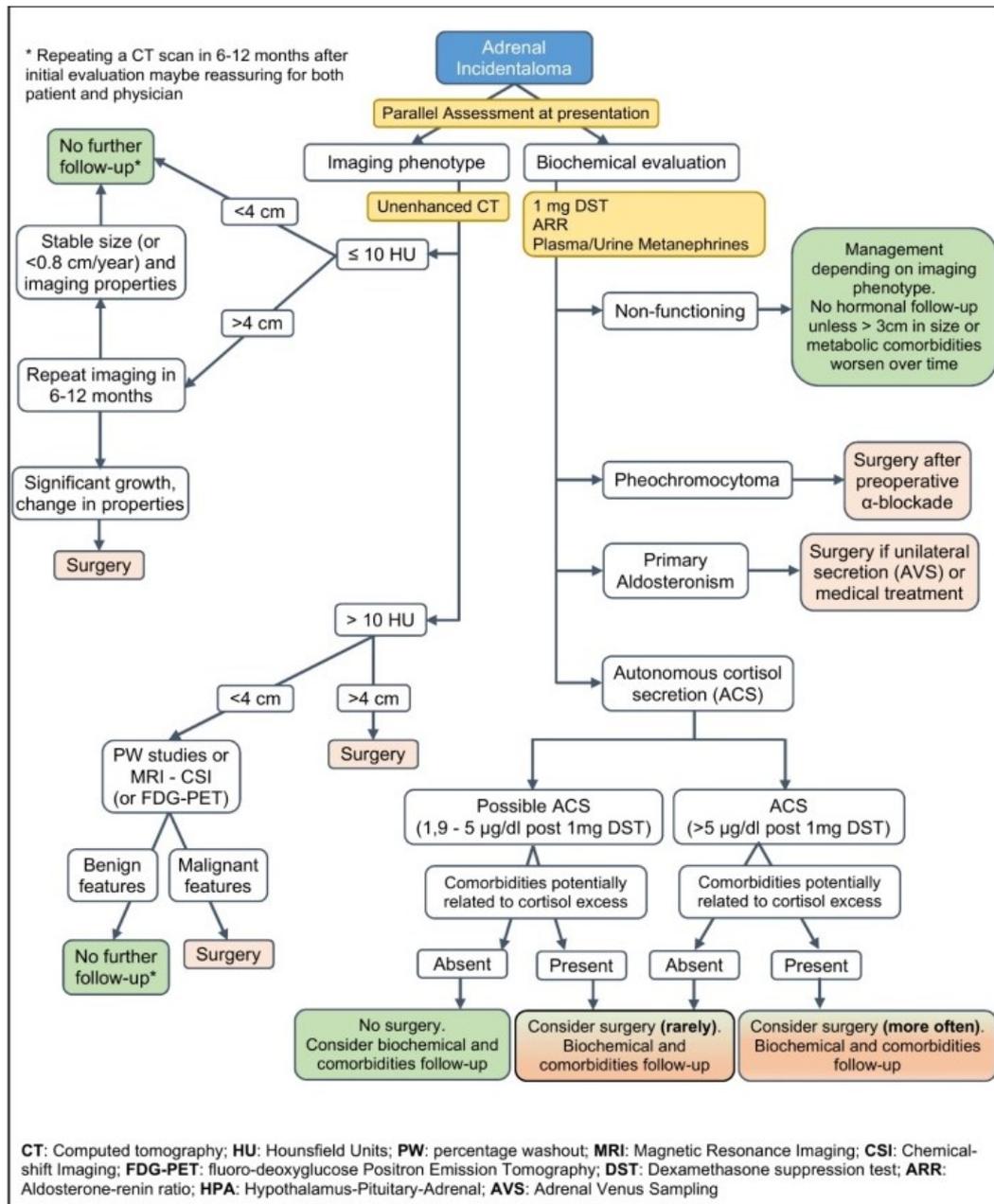


Figura 1: Algoritmo per la diagnosi e la gestione degli incidentalomi del surrene [4].

#### **1.4. DEFINIZIONE DI IPERCORTISOLISMO E DATI EPIDEMIOLOGICI**

L'ipercortisolismo, o Sindrome di Cushing, è una condizione caratterizzata da un'eccessiva e prolungata esposizione dell'organismo a glucocorticoidi, siano essi di origine endogena o esogena [12, 13, 14, 15].

Si stima che l'incidenza della Sindrome di Cushing, per tutte le cause, sia compresa fra gli 0.2 e i 5.0 casi per milione di abitanti, con una prevalenza compresa fra i 39 e i 79 casi per milione, in varie popolazioni [16, 17, 18, 19].

Alcuni studi suggeriscono una prevalenza maggiore in pazienti con diabete di tipo 2 mal controllato, ipertensione o osteoporosi precoce [20, 21, 22, 23].

Fisiologicamente, il prodotto finale dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA) è il cortisolo, secreto dalla zona fascicolata della ghiandola surrenale sotto lo stimolo dell'ormone adrenocorticotropo (ACTH), da parte dell'ipofisi. L'ACTH viene secreto dall'ipofisi in risposta all'ormone di rilascio della corticotropina (CRH) e alla vasopressina, prodotti a loro volta dall'ipotalamo. Il cortisolo esercita un controllo a feedback negativo sia sul CRH che sulla vasopressina a livello dell'ipotalamo e sull'ACTH nell'ipofisi. Negli individui normali, il cortisolo viene secreto secondo un ritmo circadiano: i livelli scendono durante la giornata a partire da un picco intorno alle ore 07:00 – 08:00 del mattino, fino ad un minimo intorno a mezzanotte, per poi riprendere a salire a partire dalle ore 02:00.

È la perdita di questo ritmo circadiano, insieme alla perdita del normale meccanismo di feedback dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA), che determina un'esposizione cronica a livelli eccessivi di cortisolo circolante e che dà origine allo stato clinico della sindrome di Cushing endogena.

L'eziologia della sindrome di Cushing può essere sostanzialmente suddivisa in due categorie, ACTH-dipendente e ACTH-indipendente.

Le forme ACTH-dipendenti sono caratterizzate da un'eccessiva produzione di ACTH, che stimola tutti e tre gli strati della corteccia surrenale e provoca iperplasia surrenale bilaterale e ipertrofia della ghiandola surrenale. Ciò si traduce in un aumento dimensionale delle ghiandole surrenali, che spesso mostrano alterazioni

micronodulari o talvolta macronodulari. I glucocorticoidi circolanti sono aumentati e spesso, in misura minore, sono accompagnati da un aumento degli androgeni sierici.

Le forme ACTH-indipendenti costituiscono un gruppo eterogeneo caratterizzato da bassi livelli di ACTH sierico, a causa dell'ipersecrezione di glucocorticoidi surrenalici o secondario alla somministrazione esogena di glucocorticoidi.

Ad eccezione degli adenomi surrenalici, che di solito secernono solo glucocorticoidi, altre forme si associano solitamente ad un aumento degli androgeni e talvolta dei precursori degli steroidi, oltre che di glucocorticoidi.

Le forme esogene sono invece legate ad un eccesso di glucocorticoidi somministrati dall'esterno.

Sono numerosi gli steroidi sintetici dotati di attività glucocorticoide i quali, se somministrati in quantità eccessive, possono dare origine alla sindrome di Cushing esogena. Essa costituisce inoltre la forma più comune di ipercortisolismo osservata nella pratica clinica, solitamente correlata al trattamento di condizioni croniche come l'asma bronchiale o le malattie reumatologiche [24].

### **1.5. PRESENTAZIONE CLINICA DELLA SINDROME DI CUSHING**

La presentazione clinica dei pazienti con sindrome di Cushing include alcuni segni e sintomi caratteristici, patognomonici, quali strie rubrae a livello addominale, pelle facilmente soggetta ad ecchimosi e atrofia prossimale degli arti superiori e inferiori, non necessariamente presenti tutti contemporaneamente.

Allo stesso tempo, altri elementi caratteristici del Cushing come l'aumento ponderale, l'eccesso di adipe addominale, l'aumentata irritabilità, astenia, acne ed irsutismo nelle pazienti di sesso femminile, sono facilmente riscontrabili anche nella popolazione generale [25].

Pazienti con caratteristiche atipiche per la loro giovane età, ovvero osteoporosi, ipertensione e diabete mellito non controllato, così come pazienti con evidenza

radiologica di noduli surrenalici rappresentano una popolazione ad alto rischio e pertanto meritevole di screening per ipercortisolismo [26].

L'obesità e l'aumento di peso, in particolare, sono tra i segni più comuni della sindrome di Cushing. La distribuzione del grasso può indirizzare nella diagnosi, poiché nella sindrome di Cushing si verifica un aumento dell'adiposità viscerale a livello del tronco, detta "androide"; depositi di grasso si ritrovano anche nelle guance e a carico delle fosse temporali ("facies lunare"), nell'area dorso-cervicale ("gibbo di bufalo") e sopra – clavare [27, 28].

Raramente, la deposizione di grasso nello spazio epidurale può manifestarsi attraverso la comparsa di deficit neurologici [29], mentre la deposizione in sede retro-orbitaria può dare origine a esoftalmo [30].

Benché si ponga l'accento sull'importanza dell'aumento dell'adipe nel contesto della Sindrome di Cushing, è bene evidenziare che uno studio svolto su 369 individui nel range dell'obesità o del sovrappeso sottoposti a screening per ipercortisolismo, non abbia evidenziato fra di essi alcun caso di Cushing; non è quindi raccomandabile avviare un iter diagnostico per Sindrome di Cushing su soggetti che si presentino soltanto obesi o sovrappesi, senza nessun altro segno o sintomo caratteristico [31].

Altro sintomo caratteristico è la miopatia che riguarda soprattutto i muscoli prossimali dell'arto inferiore e della spalla, ed è dovuta all'effetto catabolico dei glucocorticoidi. Quando si valuta tale condizione, è utile porre domande al paziente che mirino ad indagare alcune funzioni tipicamente influenzate dalla debolezza muscolare degli arti prossimali, quali ad esempio il salire le scale o l'alzarsi da una sedia. Un esempio di test da proporre al paziente consiste nell'estensione della gamba stando seduti o nell'alzarsi senza aiuto da una posizione accovacciata. La debolezza muscolare può essere esacerbata dall'ipokaliemia, come risultato della concomitante attività mineralcorticoide [32].

Il 50% dei pazienti con Sindrome di Cushing risulta affetto da osteoporosi [33, 34]; essa può essere valutata attraverso densitometria ossea, e può essere riscontrata a seguito di un'importante storia personale di fratture, tipicamente a carico del

rachide, per via della prevalente perdita di osso trabecolare indotta dai glucocorticoidi [35].

Un altro effetto dell'ipercortisolismo è l'assottigliamento della pelle, meglio apprezzabile sul dorso della mano, definito segno di Liddle. Nel valutare l'assottigliamento cutaneo è sempre importante considerare l'età ed il sesso del paziente, poiché esso si riscontra altresì nei pazienti anziani, specie se di genere femminile. Lo spessore della pelle può essere al contrario preservato nelle donne con iperandrogenismo correlato alla sindrome di Cushing.

Il classico arrossamento del viso non è solo una conseguenza dell'assottigliamento della pelle ma anche della perdita di grasso sottocutaneo facciale.

Poiché anche il grasso sottocutaneo e il tessuto elastico sono ridotti, i pazienti soffrono facilmente di ecchimosi (bruising), che spesso possono essere interpretate erroneamente come porpora senile o addirittura dipendenti da un disturbo della coagulazione.

Le strie di colore viola, o strie rubre, maggiori di 1 cm di larghezza sono patognomiche della sindrome di Cushing; tipicamente osservate sull'addome, possono verificarsi anche in altre aree, come le cosce, il seno e le braccia.

Nella sindrome di Cushing si può osservare un aumento di peli sottili e non pigmentati sulla parte superiore delle guance e/o sulla fronte, così come un più tipico irsutismo dei peli terminali sul viso e sul corpo, che riflette un aumento degli androgeni.

Si riscontrano spesso infezioni fungine cutanee come tinea versicolor del tronco e onicomicosi, favorite dallo stato di immunosoppressione [36].

L'ipercortisolismo potrebbe essere alla base della soppressione di altri ormoni ipofisari causando, ad esempio, ipogonadismo ipogonadotropo sia in pazienti maschi che femmine, in misura proporzionale ai livelli di cortisolo [37].

Per quanto riguarda i principali effetti metabolici, l'ipercortisolismo si associa a insulino – resistenza ed iperinsulinemia; la condizione di intolleranza al glucosio è

riscontrata nel 20 – 30% dei pazienti con Cushing, mentre il diabete mellito arriva ad essere presente nel 30 – 40% di essi [38, 39].

Si osserva un aumento dei livelli di colesterolo e trigliceridi, ed un effetto variabile sulle HDL [40]. Tali effetti hanno eziologia multifattoriale, ma è degno di nota un effetto del cortisolo sull'aumento della sintesi epatica di VLDL, sulla lipolisi e sul metabolismo degli acidi grassi liberi [41].

Il corredo di sintomi del Cushing include anche alcuni sintomi psichiatrici quali insonnia, depressione, ansia, irritabilità, paranoia, istinti suicidi ed attacchi di panico, riscontrati in più della metà dei pazienti affetti da ipercortisolismo per qualsiasi causa [42, 43].

Benché sia nota un'associazione fra Sindrome di Cushing ed aumentato rischio cardiovascolare, non è chiaro se esso sia direttamente correlato ai livelli di cortisolo in sé o all'esposizione cronica; esistono a riguardo delle evidenze contrastanti che mettono in relazione i livelli di cortisolo, espressi come cortisolo libero urinario (CLU), e l'incremento di tale rischio.

Secondo alcuni studi, livelli elevati di cortisolo sembrerebbero associarsi ad un incremento della pressione sanguigna notturna, dell'indice di massa ventricolare sinistra e dello spessore relativo di parete [44]; sarebbero alla base dell'aumentata disfunzione endoteliale riscontrata in pazienti con Sindrome di Cushing [45] così come causa diretta di disfunzione cardiaca [46].

D'altro canto, pare che elementi come età, anamnesi familiare positiva e durata di malattia abbiano un effetto negativo più significativo sui fattori di rischio cardiovascolare rispetto ai livelli di cortisolo in sé, indicando un peso maggiore da parte dell'esposizione cronica [47].

## **1.6. DEFINIZIONE E CARATTERISTICHE DI IPERCORTISOLISMO SUBCLINICO**

L'ipercortisolismo subclinico (SH) è definito come uno stato di alterata secrezione di cortisolo, con perdita del feedback dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA) in

assenza dei classici segni o sintomi dell'eccesso di cortisolo clinicamente evidente, o "overt" [48, 49].

L'interesse per l'ipercortisolismo subclinico è dovuto alla sua elevata prevalenza. Infatti, si stima che esso sia presente nel 5-30% dei pazienti con masse surrenaliche riscontrate incidentalmente, gli incidentalomi surrenalici appunto. [48, 50].

Poiché si ritiene che l'incidentaloma del surrene sia presente in una percentuale di individui adulti variabile fra l'1 e il 7.8%, [6, 7], si può stimare che la prevalenza di ipercortisolismo subclinico in questa popolazione sia compresa tra lo 0.2 e il 2.0% [49].

Poiché è raro che l'ipercortisolismo subclinico progredisca verso forme clinicamente "overt", si preferisce evitare la dicitura di "Sindrome di Cushing subclinica" [9, 51, 52].

Tuttavia, sebbene l'ipercortisolismo subclinico per definizione non sia associato a segni e/o sintomi specifici di un evidente eccesso di cortisolo, come strie rubrae, tendenza alla comparsa di ecchimosi, debolezza muscolare prossimale e pletora facciale (gonfiore ed arrossamento del viso) [26], alcune evidenze suggeriscono come questa condizione, protratta a lungo termine, possa portare a conseguenze caratteristiche dell'eccesso di cortisolo, quali ad esempio diabete, ipertensione, obesità e osteoporosi [53, 54, 55, 56, 57, 58, 59].

I sintomi legati ad una persistenza di ipercortisolismo subclinico per periodi prolungati, sono in realtà di facile riscontro nella popolazione generale, e non necessariamente indicativi di ipercortisolismo subclinico alla base.

Per la diagnosi, che non a caso presenta diverse criticità, si dovrà sempre e comunque dimostrare l'esistenza di una o più anomalie biochimiche a carico dell'asse HPA [60].

Ad esempio, nei pazienti con incidentaloma del surrene la secrezione di cortisolo può manifestarsi in forma di spettro, che può variare da livelli completamente normali a livelli chiaramente aumentati, e presentare inoltre una significativa variabilità individuale [1, 61] (Figura 2) [62]. Pertanto, diagnosticare

l'ipercortisolismo subclinico mediante limiti arbitrari degli indici di secrezione di cortisolo porta a inevitabili errori nella classificazione di alcuni pazienti.

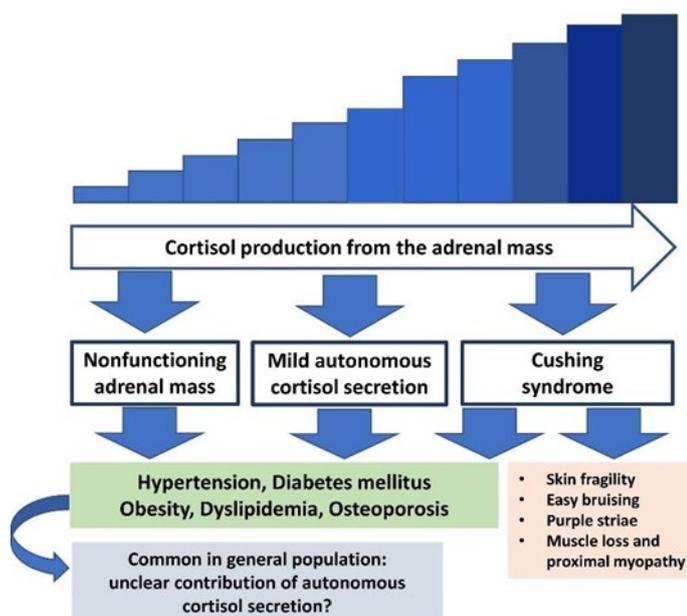


Figura 2: Interpretazione della secrezione di cortisolo surrenale come uno spettro di manifestazioni e comorbidità associate [62].

In secondo luogo, l'affidabilità di quasi tutti i marcatori dell'attività dell'asse HPA, in particolare ACTH e cortisolo libero urinario (UFC) nelle 24 ore, è bassa [1, 26, 63], e diverse comorbidità (ad esempio diabete di tipo 2 ed obesità) e farmaci concomitanti possono influenzare il risultato del test di soppressione al desametasone (DST) [64].

Infine, poiché l'ipercortisolismo subclinico per definizione non è caratterizzato da un quadro clinico specifico, manca un "gold standard" clinico per la sua diagnosi; a tal riguardo, la situazione è complicata inoltre dalla diversa sensibilità ai glucocorticoidi che può sussistere tra diversi individui e addirittura tra i diversi tessuti di uno stesso individuo, la quale è dovuta a polimorfismi a carico del recettore dei glucocorticoidi [65, 66, 67, 68] e del gene codificante per l'enzima 11 $\beta$ -idrossisteroide-deidrogenasi di tipo 1 [69, 70].

### 1.6.1. Introduzione del concetto di MACS (mild autonomous cortisol secretion)

In merito alla definizione di uno standard diagnostico per l'ipercortisolismo subclinico, intervengono le linee guida ESE/European Network for Study of Adrenal Tumors (ENSAT) del 2023, le quali introducono la dicitura "MACS", ovvero "mild autonomous cortisol secretion" in sostituzione di "possible autonomous cortisol secretion" delle precedenti linee guida ESE/ENSAT del 2016, e definiscono meglio l'interpretazione e l'utilizzo del test di soppressione al desametasone (DST) per la diagnosi di MACS o ipercortisolismo subclinico [71].

Mild autonomous cortisol secretion (MACS) è una dicitura utilizzata per descrivere l'evidenza biochimica di una secrezione anomala di cortisolo, tipicamente associata al riscontro di incidentaloma del surrene.

Il MACS si associa ad una maggiore prevalenza di fattori avversi di rischio cardiovascolare, a differenza dei tumori surrenalici non funzionanti (NFAT) e dunque non affetti da alcun eccesso di cortisolo [72].

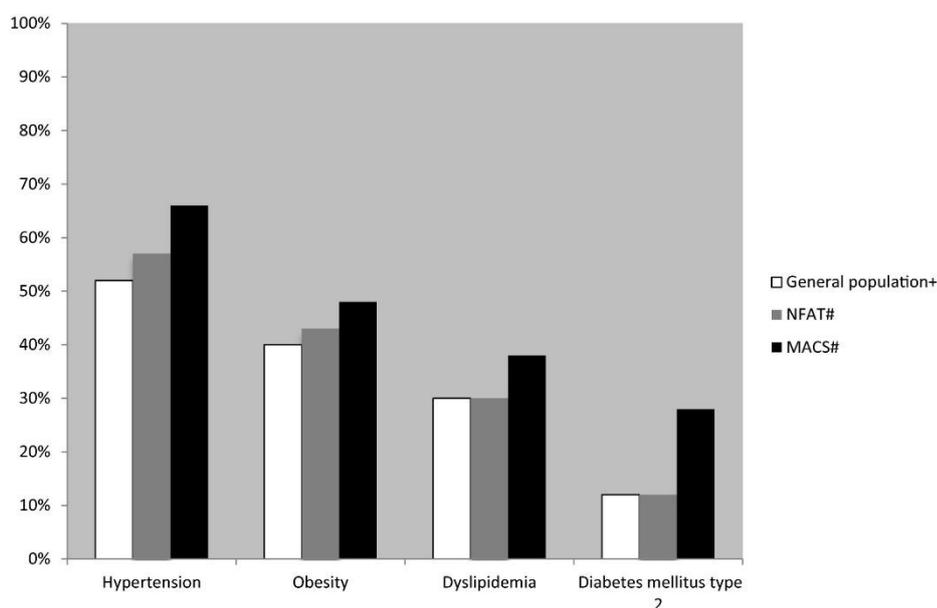


Figura 3: Prevalenza al basale (%) dei fattori di rischio cardiovascolare nella popolazione generale, nei pazienti con tumori surrenalici non funzionanti (NFAT) e nei pazienti con MACS [63].

La diagnosi di MACS viene effettuata mediante test finalizzati alla valutazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA). Questi includono, come già accennato, il test di soppressione del desametasone (con 1, 2 o 8 mg di desametasone), misurazioni del cortisolo nelle urine delle 24 ore, del ritmo del cortisolo salivare e del cortisolo salivare notturno (per valutare il ritmo circadiano della secrezione) e misurazioni della corticotropina (ACTH) [62].

Anche a parità di test diagnostici utilizzati, l'interpretazione dei risultati è complicata dall'uso di cut – off diversi, dalle differenze relative alla metodologia di analisi e dalle comorbidità dei singoli pazienti, come l'obesità o la depressione (correlata ad ipercortisolismo para-fisiologico, o pseudo-Cushing). Inoltre, l'interpretazione del test di soppressione al desametasone può essere influenzata dall'uso di farmaci che inducono o inibiscono l'isoenzima del citocromo P450 3A4, il quale è in grado di alterare il metabolismo del desametasone, portando a risultati anomali [73].

Dopo la somministrazione di una dose sovra – fisiologica di glucocorticoidi (1 mg di desametasone), la secrezione di cortisolo da parte della corteccia surrenale diminuisce significativamente, mentre nei pazienti con secrezione autonoma di cortisolo, questa non sarà influenzata dal desametasone e si presenterà con misurazioni di cortisolo post-DST  $>1.8 \mu\text{g/dL}$  ( $50 \text{ nmol/L}$ ).

Le linee guida ESE/European Network for Study of Adrenal Tumors (ENSAT) del 2016 sulla gestione dell'incidentaloma surrenalico raccomandavano che le concentrazioni di cortisolo dopo 1 mg di DST notturno dovessero essere interpretate come una variabile continua piuttosto che categorica, con concentrazioni di cortisolo mattutino comprese tra  $1.9$  e  $5.0 \mu\text{g/dL}$  ( $51$  e  $138 \text{ nmol/L}$ ) da interpretare come indicative di una “possibile secrezione autonoma di cortisolo” e concentrazioni di cortisolo  $>5.0 \mu\text{g/dL}$  ( $>138 \text{ nmol/L}$ ) come di una “secrezione autonoma di cortisolo” conclamata [74].

Un'importante novità introdotta dalle nuove linee guida ESE/ENSAT del 2023, è che, in tali pazienti, con concentrazioni di cortisolo post DST maggiori di  $50 \text{ nmol/L}$ , si adoperi la dicitura “MACS” per definire la loro condizione di ipercortisolismo subclinico, in assenza di segni e/o sintomi evidenti di Sindrome di

Cushing; viene ulteriormente ribadito che l'ipercortisolismo subclinico o MACS, pur non presentando caratteristiche cliniche eclatanti come nelle forme overt, si associ comunque un aumento del rischio mortalità e morbidità rispetto alla popolazione generale [71].

### **1.6.2. Trattamento dell'ipercortisolismo subclinico/MACS**

Le linee guida ESE/ENSAT del 2023 offrono una visione completa per quanto riguarda la gestione clinica del paziente con incidentaloma del surrene che mostri evidenza clinico-laboratoristica di secrezione autonoma di cortisolo (incluso il MACS).

Innanzitutto, è raccomandato il coinvolgimento di un team multidisciplinare comprendente la figura dell'endocrinologo, ma anche di radiologo e chirurgo con esperienza nella gestione e trattamento delle neoplasie surrenaliche.

Una volta appurata la presenza di MACS tramite test al decadron ed eventualmente mediante l'utilizzo di altri marcatori, questo dovrebbe essere ripetuto a conferma della diagnosi.

Tutti i pazienti con MACS dovrebbero inoltre essere sottoposti ad indagini volte ad evidenziare eventuale ipertensione, diabete mellito tipo 2 e/o fratture vertebrali, creando i presupposti per un loro tempestivo trattamento.

Lo standard terapeutico del MACS, nel contesto di una massa monolaterale secernente, è rappresentato dall'adrenalectomia monolaterale; essa deve essere tenuta in considerazione anche in virtù di eventuali comorbidità e altri fattori individuali del paziente, favorendo sempre un approccio personalizzato al caso.

Nel caso di masse benigne secernenti, è da preferire una tecnica chirurgica minimamente invasiva, mentre l'opzione chirurgica cessa di essere valida nel caso si riscontri una massa benigna, ma non secernente.

In caso di masse surrenaliche bilaterali, l'iter è lo stesso delle masse monolaterali, ma con particolar attenzione all'individualizzazione del trattamento;

l'adrenalectomia bilaterale è raccomandata soltanto nel caso in cui esse si associno ad ipercortisolismo overt [71].

La terapia medica, basata sull'utilizzo di inibitori della steroidogenesi (ad esempio metirapone e ketoconazolo) o di antagonisti dei recettori dei glucocorticoidi (come il mifepristone), è solitamente riservata ad alcuni casi selezionati di Sindrome di Cushing overt, quali ad esempio quelli in cui l'intervento chirurgico sia controindicato o durante la preparazione all'intervento. Tuttavia, sono in corso nuovi trail per valutare l'utilizzo di tali farmaci anche in pazienti che presentino MACS e comorbidità legate all'eccesso di cortisolo.

In generale, il ruolo del trattamento medico nei pazienti affetti da MACS è stato scarsamente studiato [75, 76, 77].

I pazienti che non necessitano di chirurgia, come nel caso di masse benigne, non secernenti ed asintomatiche, saranno comunque sottoposti a screening annuale ed eventuale rivalutazione in caso di peggioramento degli indici laboratoristici o della sintomatologia [71].

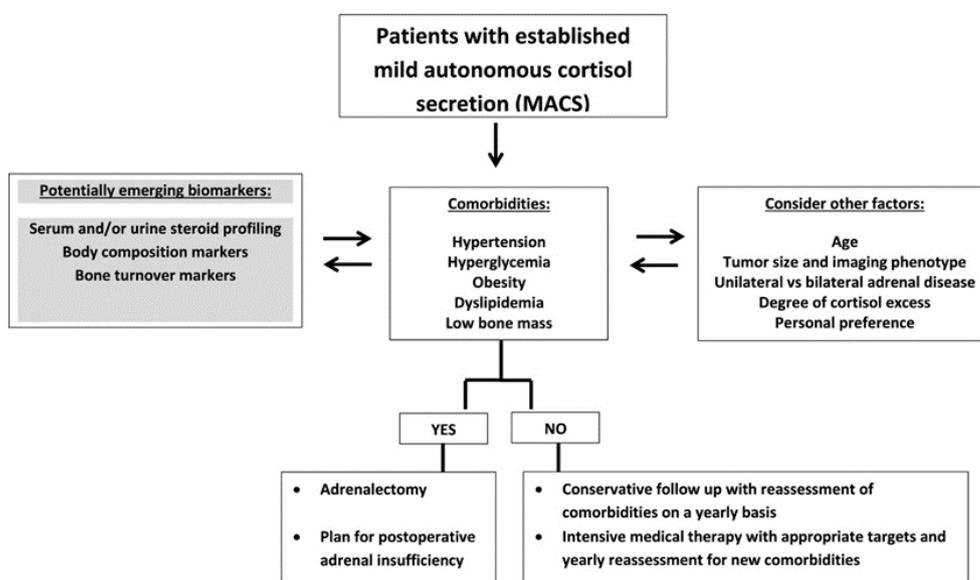


Figura 4: Approccio terapeutico suggerito per i pazienti con MACS [62].

## 1.7. EFFETTI DELL'IPERCORTISOLISMO SULLA CONTA LEUCOCITARIA

Indipendentemente dall'eziologia sottostante, uno dei principali effetti avversi dell'ipercortisolismo è l'aumentata suscettibilità alle infezioni, derivante da uno stato di leucocitosi, in particolare di neutrofilia, linfopenia ed eosinopenia [78, 79, 80, 81, 82] è noto, infatti, come l'eccesso di glucocorticoidi alteri l'azione dei T-helper (Th1 e Th2) [80], e riduca la proliferazione dei linfociti B [82].

Tali effetti rientrano nel contesto di immunosoppressione, che si può riscontrare nel Cushing endogeno o può essere indotta dall'assunzione di glucocorticoidi esogeni [83]

La leucocitosi indotta da glucocorticoidi è stata attribuita a diversi meccanismi, tra cui un aumento del rilascio di polimorfonucleati (PMN) dal midollo osseo alla circolazione [84], un ritardo dell'apoptosi dei neutrofilii circolanti [85] ed extravasazione verso i tessuti [86].

Un altro meccanismo che gioca un ruolo importante è l'afflusso di PMN dai pool marginalizzati intravascolari. Queste cellule si trovano nei polmoni, nel fegato, nella milza e nel midollo osseo, a stretto contatto con le cellule endoteliali dei piccoli vasi sanguigni. Segnali di stress come il cortisolo e le catecolamine possono attivare i granulociti maturi in questi pool marginalizzati affinché subiscano un rapido spostamento in circolo, con conseguente aumento acuto dei leucociti circolanti.

Il cortisolo determina anche un prolungamento della loro emivita e ritarda la loro scomparsa dalla circolazione [84].

In studi su soggetti sani è stato dimostrato infatti che la somministrazione di desametasone per via endovenosa o orale determina un aumento della conta dei neutrofilii e linfopenia; tale incremento è in relazione lineare con la dose introdotta per via endovenosa ma non per via orale [87].

Può essere utile sottolineare come i pazienti con leucocitosi persistente ed inspiegabile vengono spesso studiati approfonditamente per varie patologie ematologiche, talvolta senza successo. Questi pazienti dovrebbero essere sottoposti

anche a misurazioni del cortisolo e sottoposti a screening per la sindrome di Cushing, essendo nota la sua associazione con la leucocitosi [84].

Contrariamente a quanto visto per i PMN, esiste invece una correlazione negativa diretta fra i livelli sierici di cortisolo successivi alla somministrazione di 1 mg di desametasone e i livelli di linfociti, particolarmente pronunciata nei pazienti con secrezione ectopica di cortisolo, i quali inoltre presentano i livelli più elevati di cortisolo sierico post DST nonché una neutrofilia più marcata [88].

In generale, l'entità di queste alterazioni a carico dei leucociti dipende dal grado di ipercortisolismo ed è differente in base al sottotipo di Cushing preso in considerazione.

In particolare, in uno studio del 2023 sono state indagate nel dettaglio le differenze sottotipo-specifiche relative alla conta leucocitaria, nel contesto dell'ipercortisolismo.

Per quanto riguarda le forme ACTH-dipendenti di Cushing [i.e.: Morbo di Cushing (CD, ovvero la forma ipofisaria di sindrome di Cushing) e secrezione ectopica di cortisolo (ECS)], è stata riscontrata una correlazione positiva significativa fra i livelli di cortisolo e la conta di neutrofili e leucociti da un lato, mentre si è osservata una correlazione opposta relativamente a linfociti ed eosinofili; i pazienti con CD hanno mostrato un minor numero di leucociti e neutrofili rispetto ai pazienti con ECS, mentre in questi ultimi si osservavano livelli minori di linfociti ed eosinofili rispetto ai CD.

Nei pazienti con CD, il rapporto neutrofili/linfociti (NLR) risultava significativamente ridotto rispetto agli ECS.

Quanto alle forme ACTH-indipendenti, è stata riscontrata un'importante differenza nel numero di monociti fra i pazienti con adenoma surrenale secernente cortisolo (CPA) e adenocarcinoma del surrene (ACC); nel confronto fra CPA e altre forme di secrezione autonoma di cortisolo (ACS) sono emerse differenze relativamente al numero leucociti, neutrofili ed eosinofili, nonché relative all'NLR.

Infine, sono state evidenziate significative differenze nel numero di leucociti, neutrofili, linfociti ed eosinofili, nonché relative a NLR ed al rapporto piastrine/linfociti (PLR), nel confronto fra ACC ed ACS.

Le differenze nella conta leucocitaria fra i vari sottotipi di Cushing potrebbero potenzialmente essere utilizzate per una più semplice identificazione del sottotipo di malattia.

Inoltre, è interessante osservare come i valori della conta leucocitaria tendano a normalizzarsi a partire dai 3 mesi dalla remissione [88].

Uno studio del 2023, pubblicato sull'European Journal of Endocrinology, ha aggiunto alcune interessanti informazioni relative alle differenze fra valori della conta leucocitaria ed indici infiammatori nei pazienti con MACS.

È stata osservata una correlazione positiva fra i livelli di cortisolo circolanti e i valori di leucociti, neutrofili e monociti, indicativa di come anche una secrezione lieve di cortisolo possa influenzare lo stato immunitario.

Nei pazienti con CPA (cortisol producing adenoma) sono stati osservati livelli più elevati di leucociti, neutrofili, NLR (neutrophils-to-lymphocytes ratio) ed SII (systemic immune inflammation index) rispetto ai NFAT (non-functioning adrenal tumor).

L'importanza di queste differenze fra indici infiammatori, fra pazienti affetti da CPA ed NFAT, lascia intravedere la possibilità di utilizzarli per differenziare le due forme di neoplasia surrenalica; il medesimo studio, infatti, dimostra l'efficacia del loro utilizzo a tale scopo, sebbene raccomandi allo stesso tempo di non utilizzarli in maniera esclusiva, ma come ausilio alla diagnosi.

In relazione al dimorfismo sessuale fra i valori della conta leucocitaria osservati, sono stati riscontrati valori più elevati di LMR nelle pazienti femmine affette da NFAT, CPA – MACS e CS, rispetto ai pazienti maschi con le medesime patologie; al contrario, i valori di NLR sono risultati più elevati nei maschi, ma soltanto fra pazienti affetti da CPA – MACS; infine, sono stati osservati valori più elevati di monociti nei maschi rispetto alle femmine [89], ma quest'ultimo riscontro rientrerebbe nel contesto di una differenza fisiologica nota correlata al sesso [90].

In generale, questi risultati suggeriscono che potrebbero esserci differenze intrinseche nella risposta immunitaria tra uomini e donne, in particolare in risposta all'eccesso di cortisolo [89].

### **1.8. EFFETTI DELL'IPERCORTISOLISMO SUI VALORI DELL'EMOCROMO**

L'effetto dei glucocorticoidi comprende un'azione stimolante sull'eritropoiesi, sia in vivo che in vitro, nel contesto di quella che viene definita "eritropoiesi da stress" [91, 92, 93].

L'eritropoiesi allo stato basale è in grado di generare nuovi eritrociti a una velocità costante, pari a circa 2,000,000 di eritrociti al secondo [94], e ha già di per sé un'enorme capacità produttiva. Questa produzione è bilanciata dalla rimozione degli eritrociti senescenti da parte dei macrofagi nella milza e nel fegato. L'omeostasi degli eritrociti è finemente regolata per mantenerne un numero corretto, che sia adeguato per offrire un sufficiente apporto di ossigeno ai tessuti, evitando allo stesso tempo problemi di iperviscosità associati alla sovrapproduzione di emazie.

In risposta all'infiammazione causata da infezioni o danni tissutali vi è un incremento della richiesta di eritrociti al fine di mantenere l'omeostasi tissutale.

Il meccanismo che porta di conseguenza ad un aumento dell'eritropoiesi non è quello standard che è attivo allo stato basale (che al contrario, risulterà inibito in condizioni di stress), bensì uno differente che sfrutta nuovi mediatori e pathways.

Per mantenere l'omeostasi in queste condizioni, viene attivato infatti un percorso alternativo di eritropoiesi, detto da stress. Questo pathway alternativo è incentrato sul fattore bone-morphogenetic-protein-4 (BMP4), il quale è integrato nella risposta infiammatoria e la cui azione, fra l'altro, genera un bolo di nuovi eritrociti in grado di mantenere l'omeostasi fino al ripristino dell'eritropoiesi basale [95].

Inoltre, studi in vivo hanno dimostrato un ruolo del recettore dei glucocorticoidi (GR) nella proliferazione di cellule formanti colonie eritroide (CFU-E) a seguito di

emolisi e/o ipossia; a dimostrazione del coinvolgimento dei GR, tali studi hanno riportato l'assenza di proliferazione di CFU-E in topi knockout privi dei recettori dei glucocorticoidi [91].

Altri elementi a favore del coinvolgimento glucocorticoide, all'interno del meccanismo dell'eritropoiesi da stress, includono alcuni studi che testimoniano da un lato un aumento del numero di eritrociti in pazienti con Sindrome di Cushing overt, dall'altro, il riscontro di anemia normocromica normocitica in pazienti con insufficienza cortico – surrenalica [93, 96].

### **1.8.1. Differenze di genere e sottotipo – specifiche dell'eritropoiesi nel contesto dell'ipercortisolismo**

Se da una parte è noto come la policitemia possa essere interpretata come spia precoce di CS [97, 98], alcuni recenti studi mettono in dubbio quest'affermazione più generica, evidenziando nuove ed importanti differenze di genere e sottotipo-specifiche relativamente agli effetti dell'ipercortisolismo sull'eritropoiesi e, di conseguenza, sui valori dell'emocromo.

Già nel 2014, uno studio italiano evidenziava un prevalente stato di anemia ed eritropenia nei pazienti con CS di sesso maschile, e nessuna alterazione in tal senso in quelli di sesso femminile; per questa differenza, viene proposta una spiegazione basata sui livelli ridotti di testosterone riscontrati nei pazienti maschi affetti da CS, e nella correlazione riscontrata fra tali livelli di testosterone e il valore degli eritrociti [81].

A dirimere il dubbio su eventuali differenze di genere relativa alle modificazioni dell'emocromo nei pazienti affetti da Sindrome di Cushing, anche in relazione al sottotipo preso in considerazione, si pone un ulteriore studio, realizzato su una coorte di 218 pazienti affetti da ipercortisolismo.

Tale studio ha innanzitutto evidenziato valori di ematocrito (HCT) maggiori nelle pazienti di sesso femminile affette da Sindrome di Cushing clinicamente manifesta, benché tali valori rientrassero comunque all'interno del range fisiologico [99].

Essendo noto che l'aumento dei valori di HCT correla con un incremento del rischio vascolare [100], il medesimo studio ha indagato l'eventuale maggior riscontro di eventi CV maggiori nella popolazione studiata, senza però ottenere alcun riscontro in tal senso.

Quanto alle differenze fra sottotipi di Sindrome Cushing, sono stati riscontrati, all'interno della popolazione di sesso femminile, valori minori di HCT, numero di eritrociti e di emoglobina fra le pazienti con secrezione ectopica di cortisolo, rispetto a quelle affette da Morbo di Cushing.

Nei pazienti di sesso maschile affetti da Sindrome di Cushing, sono stati rilevati livelli ridotti di HCT, eritrociti ed emoglobina rispetto al gruppo di controllo, indipendentemente dal sottotipo di Cushing considerato; contemporaneamente, in molteplici pazienti di sesso maschile il numero ridotto di eritrociti si associava ad a livelli ridotti di testosterone, suggerendo un collegamento più rilevante del testosterone sulla funzione ematopoietica rispetto all'ipercortisolismo di per sé.

Non a caso, questi livelli ridotti di HCT, eritrociti ed emoglobina non trovavano riscontro analogo nelle pazienti di sesso femminile, né tantomeno in esse venivano evidenziate alterazioni dei livelli di testosterone correlabili alle suddette variazioni dell'emocromo. [99].

A sostegno di questa ipotesi, si cita un recente studio del 2023, il quale ha evidenziato come l'eccesso di cortisolo endogeno, nel contesto della CS, porti a vari gradi di ipogonadismo ipogonadotropo negli uomini affetti da ipercortisolismo, con compromissione più o meno grave dell'asse gonadotropo e delle funzioni testicolari nonché ad alterata spermatogenesi [101].

Infine, sia nei pazienti di sesso maschile che in quelli di sesso femminile, affetti da Sindrome di Cushing, è stato riscontrato un aumento del volume corpuscolare medio (MCV), che si ipotizza essere legato ad un'inflammazione della mucosa gastrica indotta dall'eccesso di glucocorticoidi, in grado di causare uno stato di malassorbimento impattante, fra l'altro, sui livelli di vitamina B12 e folati, causando di conseguenza macrocitosi [99].

Un'altra ipotesi è che, essendo molti pazienti con Sindrome di Cushing affetti al contempo da steatosi epatica [102], quest'ultima potrebbe essere alla base della macrocitosi osservata [103].

In sintesi, è stato evidenziato come alcuni fra i parametri dell'emocromo siano influenzati dallo stato di ipercortisolismo in maniera diversa, se si considerano separatamente i pazienti di sesso maschile e femminile e/o i diversi sottotipi di Cushing.

Le alterazioni principali nelle pazienti di sesso femminile consistono in un aumento dell'ematocrito e dei valori di emoglobina, con minime variazioni in base al sottotipo di Cushing considerato, mentre negli uomini si ha una diminuzione dei livelli di HCT, emoglobina ed eritrociti, per lo più correlata agli effetti aggiuntivi del concomitante ipogonadismo; quest'ultimo reperto sottolinea un preponderante effetto del testosterone sull'eritropoiesi rispetto a quello del cortisolo [81].

### **1.9. CORRELAZIONE FRA GLI INDICI INFIAMMATORI EMATOLOGICI ED IL RISCHIO CARDIOVASCOLARE**

Una revisione sistematica del 2023 ha raccolto e confrontato numerose evidenze relative al rapporto fra gli indici ematologici infiammatori, fra NLR ed LMR, ed il loro rapporto con il rischio cardiovascolare. Riguardo a questi indici, che rispecchiano anche il grado di infiammazione sistemica, sono state raccolte evidenze a partire da diversi studi, indicanti una correlazione tra questi marcatori e la gravità, la prognosi e la presenza di malattia coronarica. In particolare, è stato osservato come l'indice NLR fosse più elevato in pazienti con STEMI (ST-elevation myocardial infarction) e che valori elevati fossero associati ad insufficiente antiaggregazione, non stante la terapia; è stata poi individuata una sua correlazione positiva con una maggior incidenza di mancata rivascolarizzazione, a seguito di PCI (percutaneous coronary intervention), ed una correlazione con il danno miocardico, quantificato tramite CK – MB. Infine, è stata dimostrata la sua efficacia di buon indicatore prognostico di mortalità per eventi CV maggiori.

Per quanto riguarda l'indice LMR, è stato osservato come esso possa essere efficacemente utilizzato per la stratificazione del rischio di infarto miocardico, ma anche come indice prognostico per la valutazione della mortalità intra – ospedaliera e a lungo termine in pazienti con infarto miocardico acuto. [104].

## **2. SCOPO DELLO STUDIO**

---

### **2.1. OBIETTIVO PRIMARIO**

Scopo di questo studio è valutare le differenze all'emocromo con formula in una popolazione di pazienti con diagnosi di incidentaloma del surrene e secrezione autonoma lieve di cortisolo (MACS), afferenti agli ambulatori di Endocrinologia dell'Azienda Ospedaliera di Padova dal 2001 al 2024.

Abbiamo valutato tali differenze dividendo la popolazione di studio in tre gruppi principali, in base a secrezione autonoma lieve di cortisolo, sesso ed età pari a più o meno di 65 anni, realizzando poi le nostre analisi statistiche su sottogruppi dati dalla combinazione dei gruppi principali.

### **2.2. OBIETTIVO SECONDARIO**

In secondo luogo, ci siamo preposti di valutare se sussista una correlazione fra secrezione autonoma lieve di cortisolo ed una maggiore incidenza di eventi cardiovascolari, rispetto alla popolazione generale.

### 3. MATERIALI E METODI

---

#### 3.1. MODELLO DI STUDIO

Il modello di studio è di tipo osservazionale retrospettivo.

#### 3.2. POPOLAZIONE

Per questo studio sono stati raccolti i dati di 157 pazienti afferenti agli ambulatori dell'endocrinologia dell'Azienda Ospedaliera di Padova tra il 2001 ed il 2024.

Abbiamo considerato le prime visite e le visite di controllo documentate relative a pazienti con evidenza radiologica di incidentaloma del surrene, eseguite dal 2001 al 2024, identificando come "baseline" la prima visita corredata dei dati laboratoristici e radiologici necessari allo studio, in particolare un test di soppressione con 1mg di desametasone ed un emocromo con formula leucocitaria eseguito a più o meno un anno dal test al DST; le due visite di controllo successive, disponibili nei registri medici, altresì arricchite della medesima tipologia di dati funzionali al nostro studio sono state etichettate come "1° controllo" e "2° controllo".

Sono stati arruolati per lo studio solo quei pazienti che presentavano un quadro radiologico indicativo di incidentaloma del surrene, di qualsiasi etnia ed età.

Abbiamo escluso dallo studio i pazienti con i seguenti riscontri:

- Ipotiroidismo clinico;
- Patologie ematologiche;
- Fonti note di sanguinamento attivo;
- Insufficienza renale con necessità di supplementazione di EPO;
- Chemioterapia in atto;
- Infezione in corso.

### **3.3. RACCOLTA DATI**

Sono stati raccolti i dati clinici ed anamnestici rilevati durante la prime visite e le visite di controllo, raccogliendo inoltre i dati laboratoristici registrati contestualmente nei sistemi informatici sanitari dell'Azienda Ospedaliera di Padova e/o della Regione Veneto.

I dati di laboratorio sono stati presi in considerazione se datati a più o meno un anno dal test al DST, mentre per quanto riguarda i dati relativi all'imaging radiologico, sono stati utilizzati i referti più prossimi al suddetto test, senza tener conto di un limite temporale.

Sono stati realizzati 3 set di dati denominati "baseline", corrispondente alla prima visita disponibile corredata di almeno un esito di test al DST ed un emocromo realizzato a più o meno un anno di distanza, "1° controllo", corrispondente ad un controllo intermedio, sul totale delle visite, corredata dai medesimi risultati richiesti per il baseline, ed un "2° controllo", distanziato di almeno 1 anno rispetto al 1° controllo.

I dati endocrinologici e clinici sono stati raccolti all'interno dello studio osservazionale PITACORA e approvati dal comitato etico dell'Azienda Ospedale – Università di Padova (numero di protocollo AOP3318, registrazione comitato etico 5938-AO-24); tutti i pazienti hanno fornito consenso informato.

#### **3.3.1. Dati clinici ed anamnestici**

Sono stati raccolti dati anagrafici dei pazienti e attribuito a ciascuno di essi un codice identificativo denominato "ens@t ID"; sono stati inoltre raccolti i dati relativi alla data di diagnosi di incidentaloma del surrene ed età al momento della diagnosi. Per ciascun set di dati, sono state incluse informazioni relative a precedenti episodi riconducibili ad eventi cardiovascolari maggiori (infarto miocardico acuto, PTCA o bypass aortocoronarico, stroke, trombosi venosa profonda, embolia polmonare), così come peso, altezza, BMI ed eventuale altra neoplasia in atto.

### 3.3.2. Dati radiologici

Sono state incluse le informazioni relative a dimensione, espressa come misura in millimetri dell'asse maggiore della lesione neoplastica surrenalica, e localizzazione (destra, sinistra o bilaterale) della stessa, sia al momento della diagnosi che al baseline, primo e secondo follow-up.

Tali informazioni sono state ricavate dai referti dei vari controlli presso gli ambulatori dell'Endocrinologia di AOPD, e risultano essere elaborati a partire da indagini di ecografia, tomografia o risonanza magnetica; se disponibile a referto, è stato incluso il valore di unità Hounsfield (HU) calcolato per la lesione.

Sulla base di tali informazioni, è stata definita la variabile "location", codificata come:

- Lesione surrenalica monolaterale destra = 0;
- Lesione surrenalica monolaterale sinistra = 1;
- Lesione surrenalica bilaterale = 2;

e altresì la variabile "mono\_vs\_bilat" codificata come segue:

- Lesione surrenalica monolaterale = 1;
- Lesione surrenalica bilaterale = 2.

### 3.3.3. Dati biochimici

Per ciascun set di dati, ovvero per il baseline, il 1° controllo ed il 2° controllo, sono stati raccolti i valori di cortisolo in seguito al test con 1 mg di desametasone, i valori dell'emocromo con formula leucocitaria, e se disponibili, anche i dati relativi a protidogramma, dosaggio di vitamina B12 e acido folico.

Con tali dati, abbiamo suddiviso i pazienti con incidentaloma del surrene in maschi e femmine, secernenti o non secernenti, ovvero creato la variabile "sex\_and\_MACS" codificata come segue:

- Maschi non secernenti = 0;
- Maschi secernenti = 1;

- Femmine non secernenti = 2;
- Femmine secernenti = 3;

ove per “secernente” e “non secernente” si fa riferimento ai risultati del test di soppressione al desametasone, considerando “secernenti” i pazienti con valore di cortisolo post-DST superiore a 50 nmol/L, “non secernenti” per valori pari o inferiori a 50 nmol/L.

Un’analoga suddivisione è stata fatta, indipendentemente dal sesso, fra il gruppo di pazienti con età pari o superiore ai 65 anni, ed i pazienti con età inferiore, identificando la variabile “age65\_and\_MACS” e codificandone i valori come segue:

- Over 65 non secernenti = 0;
- Over 65 secernenti = 1;
- Under 65 non secernenti = 2;
- Under 65 secernenti = 3.

### **3.4. ANALISI STATISTICA**

Per l’analisi statistica sono stati utilizzati i programmi SPSS ed Excel.

Le variabili quantitative sono state valutate con medie, mediane, valori massimi, minimi, range interquartile, campo di variazione e deviazione standard; quelle qualitative come frequenza assoluta e percentuale.

Per studiare la normalità delle variabili sono stati utilizzati i test di Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk.

Per il confronto fra le variabili con distribuzione normale è stato utilizzato il t test, mentre per le variabili a distribuzione non normale, ovvero la maggior parte, il test di Mann-Whitney a campioni indipendenti.

Per il confronto fra i valori dell’emocromo fra il baseline e i follow – up è stato utilizzato il test dei ranghi con segno di Wilcoxon.

## 4. RISULTATI

---

### 4.1. CARATTERISTICHE DELLA POPOLAZIONE ALLA DIAGNOSI

Abbiamo raccolto i dati di 157 pazienti afferenti agli ambulatori di Endocrinologia dell'AOPD, con diagnosi di incidentaloma del surrene, dal 2001 al 2023.

Fra di essi, si contano 59 uomini (37.6% del totale) e 98 donne (62.4%).

L'età media alla diagnosi era di 61 anni, con un minimo di 27, un massimo di 86 ed un campo di variazione di 59 anni.

Per gli uomini, l'età media alla diagnosi è di 61.6 anni, per le donne, di 60.9.

Tutti i pazienti presentavano una diagnosi di incidentaloma del surrene, ciascuno con caratteristiche radiologiche coerenti con benignità.

In particolare, su 157 casi totali di incidentaloma, 109 erano monolaterali (69.4%), 48 i bilaterali (30.6%).

I casi di incidentaloma monolaterale erano ulteriormente suddivisi in 42 collocati a destra e 62 a sinistra (rispettivamente 26.8% e 42.7% dei casi totali).

Per tutti i casi di incidentaloma, è stato annotata la dimensione massima raggiunta dall'asse maggiore della lesione durante tutto il percorso clinico.

In relazione, dunque, alla massima crescita documentata, gli incidentalomi del surrene sinistro, inclusi quelli rientranti nel contesto di una diagnosi di incidentaloma bilaterale, presentavano una dimensione media dell'asse maggiore pari a 24.2 mm, con un minimo di 5, un massimo di 57 ed un range di variazione di 52 mm.

Analogamente, gli incidentalomi del surrene di destra presentavano una dimensione media dell'asse maggiore pari a 22.7 mm, con un minimo di 6, un massimo di 49 ed un range di variazione pari a 43 mm.

## 4.2. CARATTERISTICHE DELLA POPOLAZIONE AL BASELINE

Per 115 dei 157 pazienti totali, di cui 44 maschi e 71 femmine, erano disponibili informazioni relative al BMI; è stata calcolata la mediana relativa ai valori di BMI al baseline per maschi e femmine, risultando rispettivamente pari a 28.08 kg/m<sup>2</sup> e 27.34 kg/m<sup>2</sup>.

Sono state realizzate su sottogruppi di pazienti raggruppati per sesso e poi per età (over-65, under-65).

Innanzitutto, sono stati individuati 75 pazienti secernenti (47.8%), ovvero con valori di cortisolo post-DST maggiori di 50 nmol/L, e 89 pazienti non secernenti (52.2%), con valori di cortisolo pari o inferiori a 50 nmol/L.

Fra i secernenti, 26 sono maschi (16.6%) e 49 femmine (31.2%); fra i non secernenti, 33 maschi (21%) e 49 femmine (31.2%).

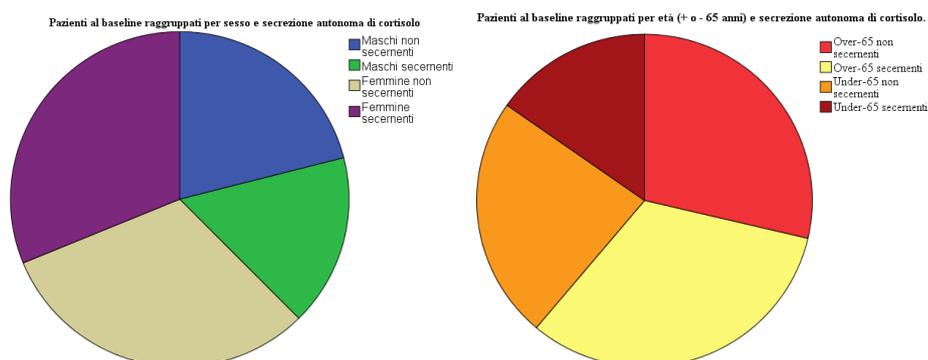


Figura 5: Caratteristiche della popolazione al baseline relativamente a sesso e secrezione autonoma di cortisolo e relativamente ad età (+ o - 65 anni) e secrezione autonoma di cortisolo.

Sulla base della soglia dei 65 anni, si identificano 51 over-65 secernenti (32.5%), 45 over-65 non secernenti (28.7%), 24 under-65 secernenti (15.3%) e 37 under-65 non secernenti (23.6%). Per quanto riguarda gli eventi cardiovascolari maggiori, se ne contano 17 (10.8%) sul totale di 157 pazienti al baseline.

### 4.2.1. Caratteristiche dell'emocromo nella popolazione in base a sesso e secrezione autonoma di cortisolo al baseline

Sono state per prima cosa indagate le distribuzioni dei valori dell'emocromo al baseline fra pazienti con MACS ed NF – AI, all'interno di due gruppi diversificati per sesso.

	Femmine			Maschi		
	MACS (N. casi = 49)	NF - AI (N. casi = 49)	p	MACS (N. casi = 26)	NF - AI (N. casi = 33)	p
<b>Hb, g/dL</b>	131.0 (121.7 – 141.2)	138.0 (132.7 – 146.0)	0.027	140.5 (127.5 – 154.7)	148.0 (134.0 – 156.5)	0.340
<b>HCT, L/L</b>	0.403 (0.376 – 0.438)	0.424 (0.403 – 0.450)	0.038	0.428 (0.383 – 0.470)	0.444 (0.414 – 0.477)	0.306
<b>RBC, n*10<sup>12</sup>/L</b>	4.59 (4.11 – 4.86)	4.69 (4.40 – 4.99)	0.074	4.67 (4.29 – 4.90)	5.01 (4.44 – 5.25)	0.051
<b>MCV, fL</b>	91.3 (87.1 – 94.4)	90.7 (86.3 – 93.3)	0.473	94.3 (30.0 – 31.9)	91.9 (88.0 – 96.5)	0.200
<b>MCH, pg</b>	29.5 (27.9 – 30.8)	29.8 (28.3 – 30.5)	0.955	31.5 (30.0 – 31.9)	30.3 (29.0 – 31.7)	0.127
<b>WBC, n*10<sup>9</sup>/L</b>	6.49 (5.29 – 8.00)	6.44 (5.55 – 7.73)	0.624	6.67 (5.79 – 7.71)	7.54 (6.12 – 8.55)	0.265
<b>Neutrofilii, n*10<sup>9</sup>/L</b>	3.58 (2.76 – 4.61)	3.37 (2.80 – 4.28)	0.494	4.26 (3.42 – 4.73)	3.95 (3.32 – 5.27)	0.963
<b>Linfociti, n*10<sup>9</sup>/L</b>	1.94 (1.45 – 2.42)	2.21 (1.71 – 2.55)	0.077	1.71 (1.15 – 2.15)	2.14 (1.85 – 2.42)	0.014
<b>Monociti, n*10<sup>9</sup>/L</b>	0.51 (0.47 – 0.65)	0.50 (0.42 – 0.60)	0.094	0.59 (0.49 – 0.78)	0.68 (0.56 – 0.81)	0.160
<b>Eosinofili, n*10<sup>9</sup>/L</b>	0.13 (0.08 – 0.22)	0.13 (0.09 – 0.20)	0.700	0.15 (0.05 – 0.28)	0.17 (0.11 – 0.29)	0.468
<b>Basofili, n*10<sup>9</sup>/L</b>	0.04 (0.02 – 0.05)	0.03 (0.02 – 0.05)	0.143	0.03 (0.01 – 0.04)	0.04 (0.03 – 0.06)	0.001
<b>NLR</b>	1.84 (1.28 – 2.90)	1.63 (1.24 – 2.05)	0.063	2.37 (1.89 – 3.64)	1.96 (1.54 – 2.84)	0.226
<b>LMR</b>	3.63 (2.57 – 4.43)	4.35 (3.44 – 5.45)	0.009	2.74 (2.25 – 4.01)	2.92 (2.40 – 4.02)	0.485

Tabella II: Analisi caso-controllo fra pazienti con e senza secrezione autonoma di cortisolo, raggruppati per sesso; i dati mostrati corrispondono alle mediane ed ai range interquartile.

Nel gruppo delle pazienti femmine, sono state riscontrati valori più ridotti di Hb (mediana 131 g/dL vs 138 g/dL), HCT (0.403 L/L vs 0.424 L/L), RBC (4.59 n\*10<sup>9</sup>/L vs 4.69 n\*10<sup>9</sup>/L) ed LMR (3.63 vs 4.35), nei pazienti con MACS rispetto ad NF – AI, con valore di significatività inferiore a 0.05.

Nel gruppo maschile, soltanto i linfociti (1.71 n\*10<sup>9</sup>/L vs 2.14 n\*10<sup>9</sup>/L) ed i basofili (0.03 n\*10<sup>9</sup>/L vs 0.04 n\*10<sup>9</sup>/L) hanno mostrato differenze statisticamente significative, risultando più ridotti nei pazienti con MACS; il confronto del valore di RBC fra pazienti maschi con MACS ed NF – AI ha mostrato un lieve decremento nei primi (4.67 n\*10<sup>12</sup>/L vs 5.01 n\*10<sup>12</sup>/L), con un p – value vicino alla significatività (p – value = 0.051).

La popolazione al baseline è stata successivamente suddivisa fra pazienti con MACS ed NF – AI, realizzando un confronto fra maschi e femmine all'interno di questi due gruppi.

	MACS			NF -AI		
	Maschi (N. casi = 26)	Femmine (N. casi = 49)	P	Maschi (N. casi = 33)	Femmine (N. casi = 49)	P
<b>Hb, g/dL</b>	140.5 (127.5 – 154.7)	131.0 (121.7 – 141.2)	0.010	148.0 (134.0 – 156.5)	138.0 (132.7 – 146.0)	0.004
<b>HCT, L/L</b>	0.428 (0.383 – 0.470)	0.403 (0.376 – 0.438)	0.047	0.444 (0.414 – 0.477)	0.424 (0.403 – 0.450)	0.030
<b>RBC, n*10<sup>12</sup>/L</b>	4.67 (4.29 – 4.90)	4.59 (4.11 – 4.86)	0.311	5.01 (4.44 – 5.25)	4.69 (4.40 – 4.99)	0.111
<b>MCV, fL</b>	94.3 (30.0 – 31.9)	91.3 (87.1 – 94.4)	0.016	91.9 (88.0 – 96.5)	90.7 (86.3 – 93.3)	0.179
<b>MCH, pg</b>	31.5 (30.0 – 31.9)	29.5 (27.9 – 30.8)	0.002	30.3 (29.0 – 31.7)	29.8 (28.3 – 30.5)	0.040
<b>WBC, n*10<sup>9</sup>/L</b>	6.67 (5.79 – 7.71)	6.49 (5.29 – 8.00)	0.426	7.54 (6.12 – 8.55)	6.44 (5.55 – 7.73)	0.005
<b>Neutrofil, n*10<sup>9</sup>/L</b>	4.26 (3.42 – 4.73)	3.58 (2.76 – 4.61)	0.098	3.95 (3.32 – 5.27)	3.37 (2.80 – 4.28)	0.012
<b>Linfociti, n*10<sup>9</sup>/L</b>	1.71 (1.15 – 2.15)	1.94 (1.45 – 2.42)	0.115	2.14 (1.85 – 2.42)	2.21 (1.71 – 2.55)	0.500
<b>Monociti, n*10<sup>9</sup>/L</b>	0.59 (0.49 – 0.78)	0.51 (0.47 – 0.65)	0.179	0.68 (0.56 – 0.81)	0.50 (0.42 – 0.60)	< 0.001
<b>Eosinofili, n*10<sup>9</sup>/L</b>	0.15 (0.05 – 0.28)	0.13 (0.08 – 0.22)	0.576	0.17 (0.11 – 0.29)	0.13 (0.09 – 0.20)	0.036
<b>Basofili, n*10<sup>9</sup>/L</b>	0.03 (0.01 – 0.04)	0.04 (0.02 – 0.05)	0.002	0.04 (0.03 – 0.06)	0.03 (0.02 – 0.05)	0.043
<b>NLR</b>	2.37 (1.89 – 3.64)	1.84 (1.28 – 2.90)	0.082	1.96 (1.54 – 2.84)	1.63 (1.24 – 2.05)	0.018
<b>LMR</b>	2.74 (2.25 – 4.01)	3.63 (2.57 – 4.43)	0.076	2.92 (2.40 – 4.02)	4.35 (3.44 – 5.45)	< 0.001

Tabella III: Analisi caso-controllo fra pazienti di sesso maschile e femminile, raggruppati per secrezione autonoma di cortisolo; i dati mostrati corrispondono alle mediane ed ai range interquartile

All'interno del gruppo dei pazienti con MACS, i valori di Hb (mediane 131.0 dg/dL vs 140.5 dg/dL), HCT (0.403 L/L vs 0.428 L/L), MCV (91.3 fL vs 94.3 fL) ed MCH (29.5 pg vs 31.5 pg) sono risultati più bassi nelle pazienti di sesso femminile rispetto ai maschi; i basofili sono invece risultati più elevati nelle donne rispetto agli uomini (0.04 n\*10<sup>9</sup>/L vs 0.03 m\*10<sup>9</sup>/L).

Per quanto riguarda i pazienti con NF – AI, i valori di Hb (138.0 g/dL vs 148.0 g/dL), HCT (0.424 L/L vs 0.444 L/L), MCH (29.8 pg vs 30.3 pg), WBC (6.44

$n \cdot 10^9/L$  vs  $7.54 n \cdot 10^9/L$ ), neutrofili ( $3.37 n \cdot 10^9/L$  vs  $3.95 n \cdot 10^9/L$ ), monociti ( $0.50 n \cdot 10^9/L$  vs  $0.68 n \cdot 10^9/L$ ), eosinofili ( $0.13 n \cdot 10^9/L$  vs  $0.17 n \cdot 10^9/L$ ), basofili ( $0.03 n \cdot 10^9/L$  vs  $0.04 n \cdot 10^9/L$ ) ed NLR (1.63 vs 1.96) sono risultati più ridotti nelle pazienti di sesso femminile rispetto ai maschi.

Soltanto i valori di LMR (2.92 vs 4.35) sono invece risultati più ridotti fra i pazienti di sesso maschile rispetto alle femmine.

Vengono riportati, a seguire, i grafici relativi alle distribuzioni dei valori dell'emocromo nelle categorie prese in esame.

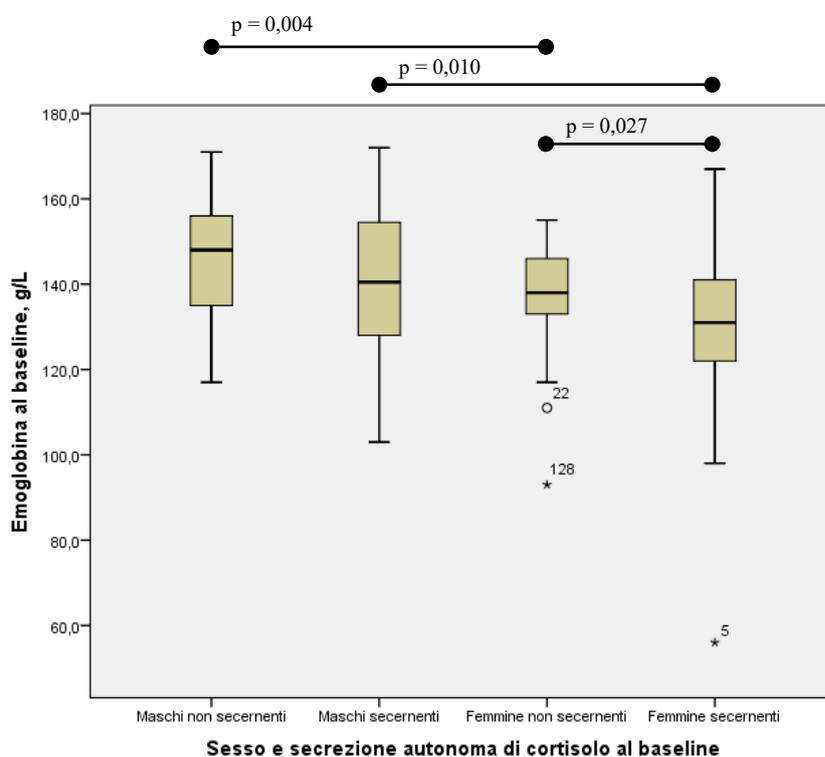


Figura 6: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori di emoglobina nelle categorie di sesso e secrezione autonoma di cortisolo, al baseline.

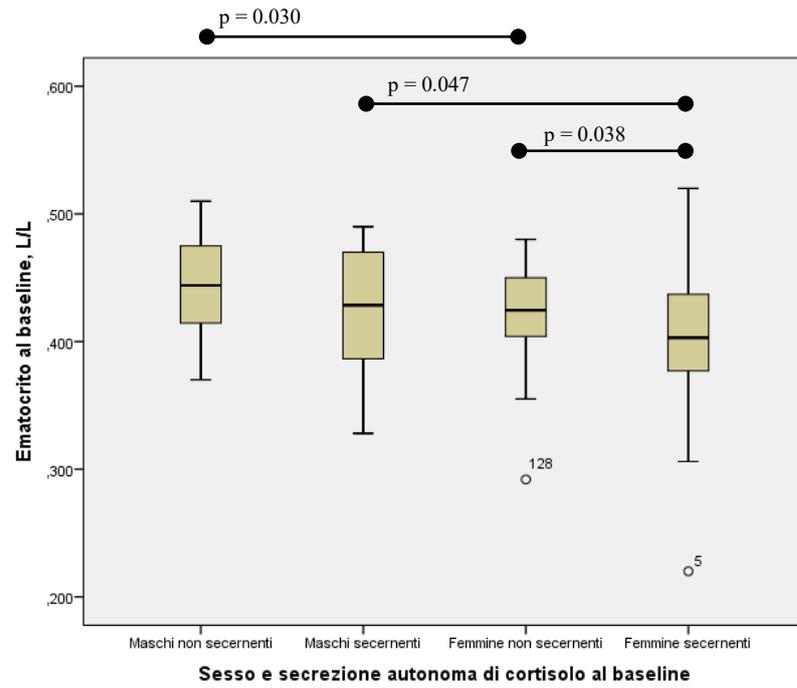


Figura 7: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori di ematocrito nelle categorie di sesso e secrezione autonoma di cortisolo, al baseline.

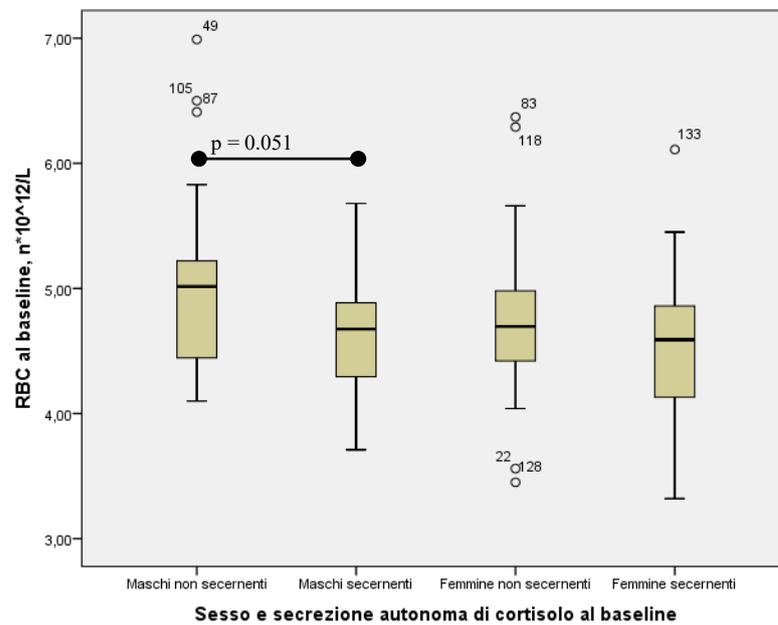


Figura 8: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori della conta eritrocitaria nelle categorie di sesso e secrezione autonoma di cortisolo, al baseline.

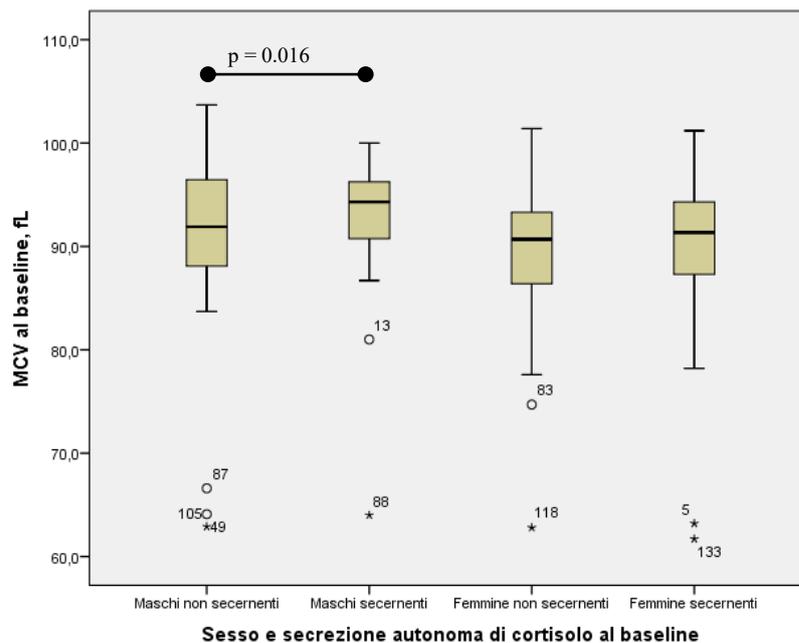


Figura 9: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori dell'MCV nelle categorie di sesso e secrezione autonoma di cortisolo, al baseline.

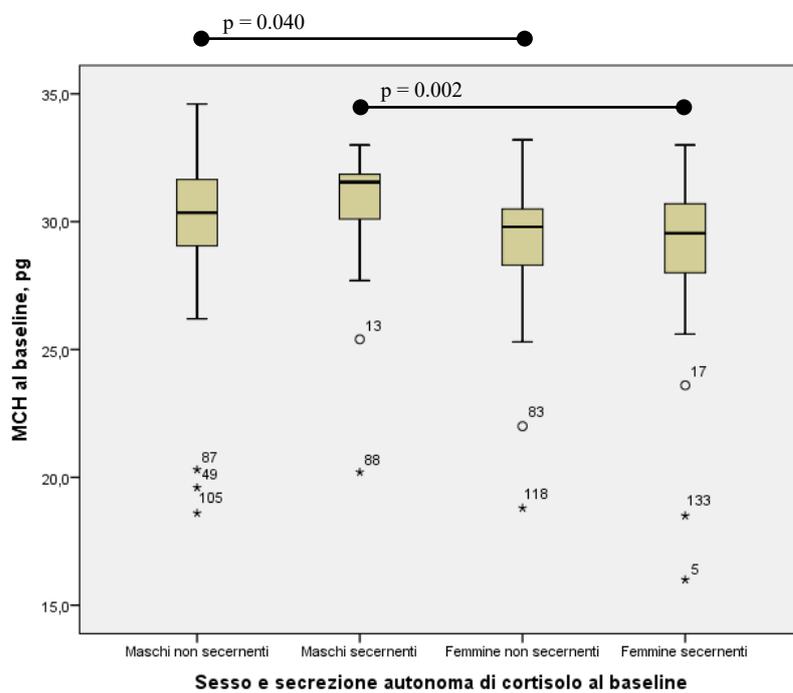


Figura 10: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori dell'MCH nelle categorie di sesso e secrezione autonoma di cortisolo, al baseline.

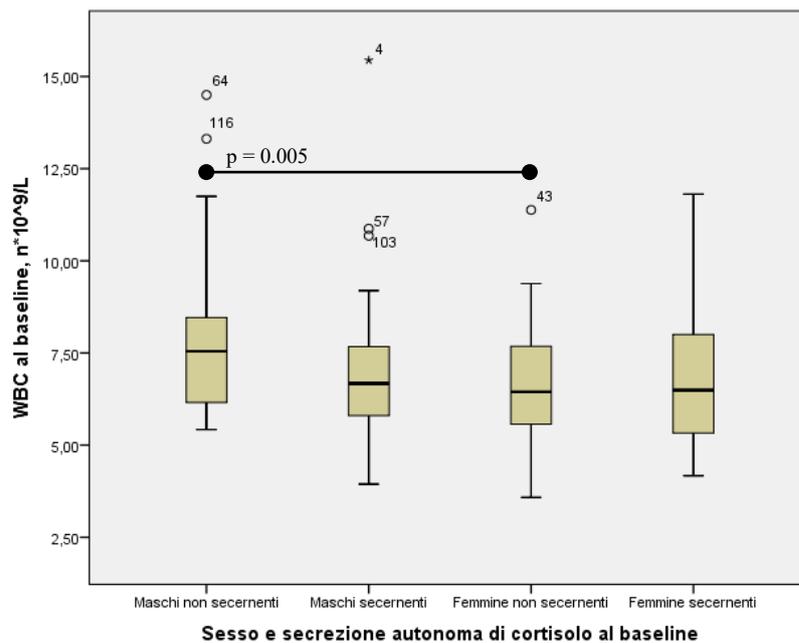


Figura 11: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori della conta leucocitaria nelle categorie di sesso e secrezione autonoma di cortisolo, al baseline.

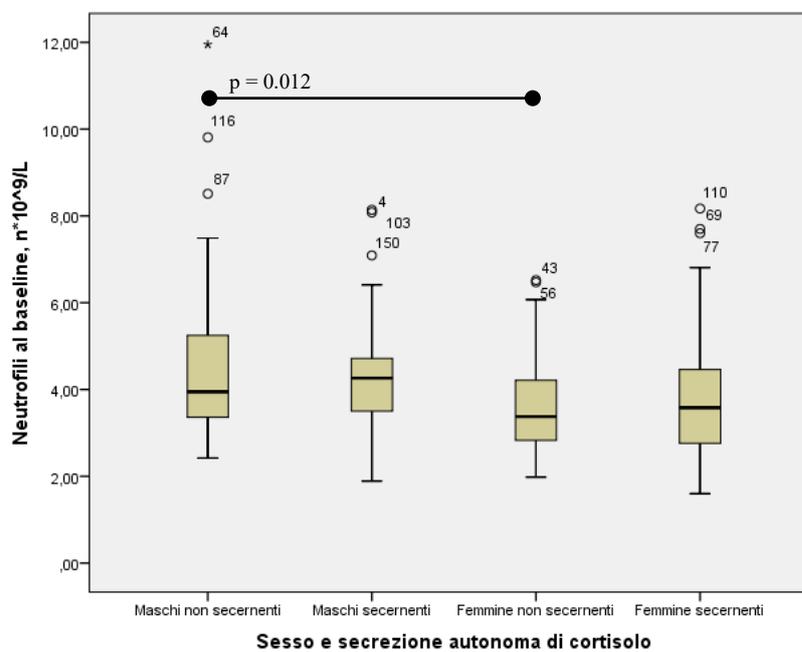


Figura 12: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori dei neutrofili nelle categorie di sesso e secrezione autonoma di cortisolo, al baseline.

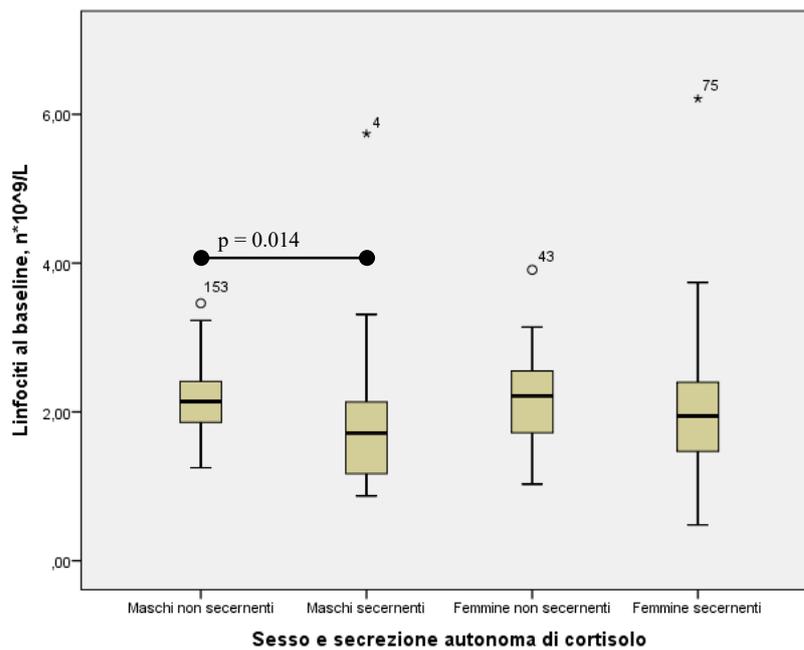


Figura 13: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori dei linfociti nelle categorie di sesso e secrezione autonoma di cortisolo, al baseline.

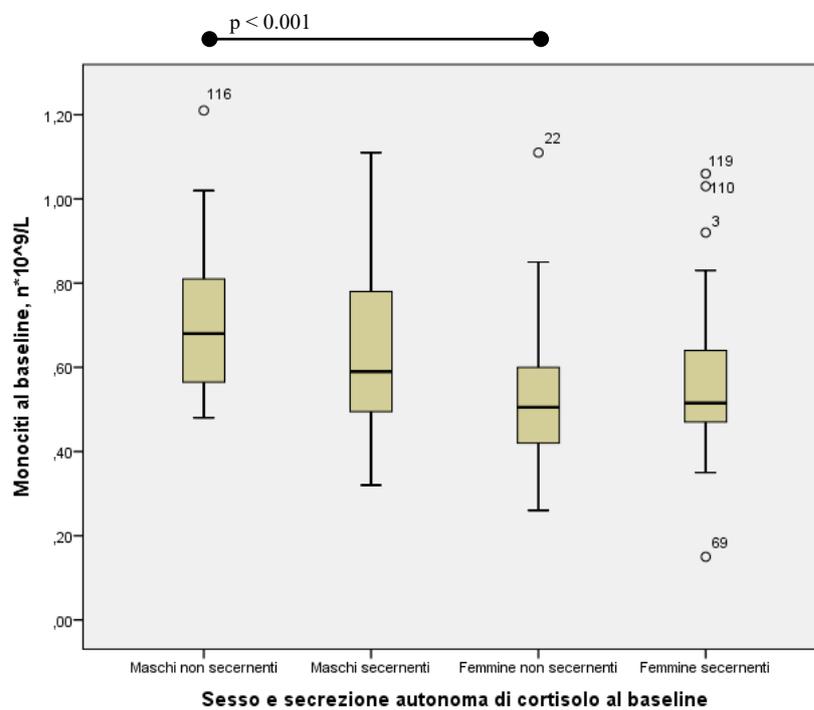


Figura 14: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori dei monociti nelle categorie di sesso e secrezione autonoma di cortisolo, al baseline.

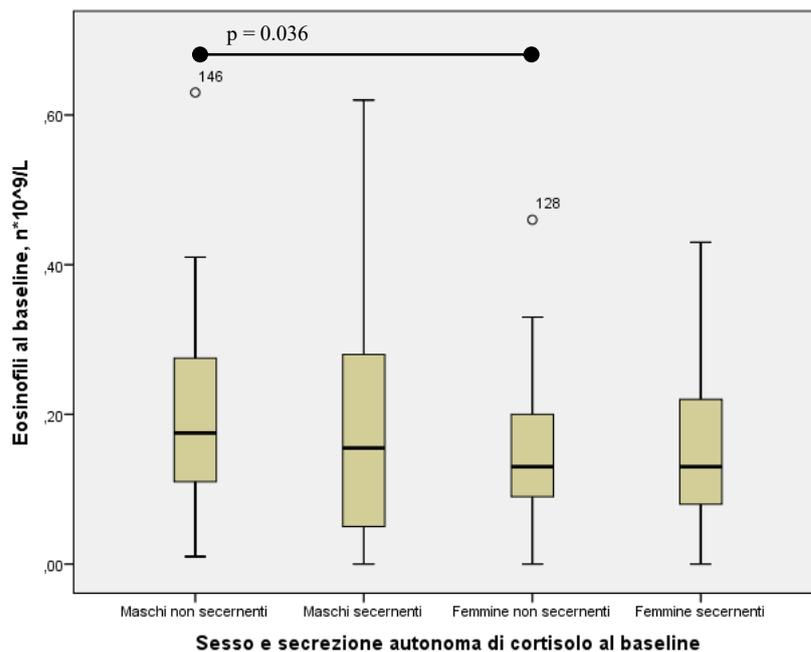


Figura 15: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori degli eosinofili nelle categorie di sesso e secrezione autonoma di cortisolo, al baseline.

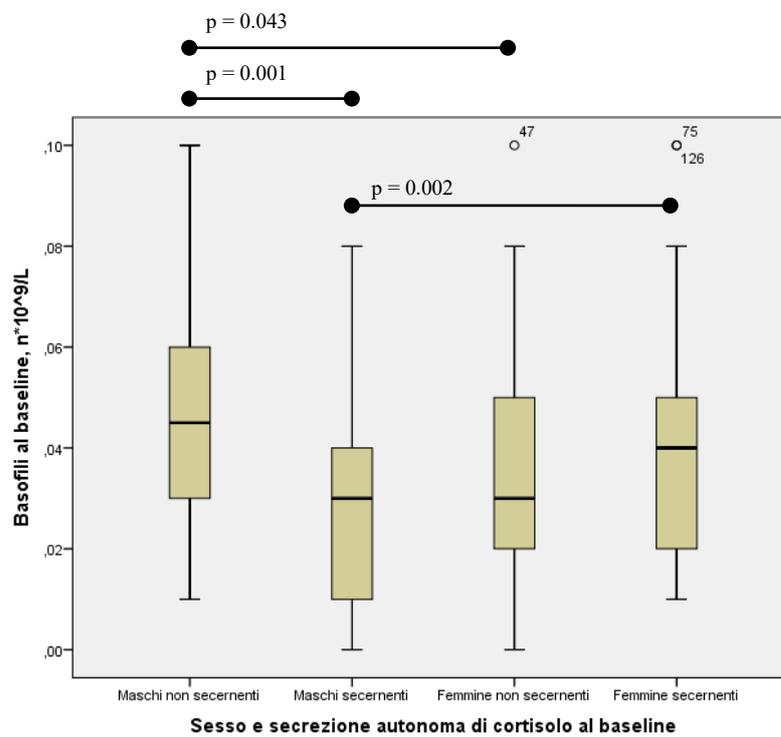


Figura 16: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori dei basofili nelle categorie di sesso e secrezione autonoma di cortisolo, al baseline.

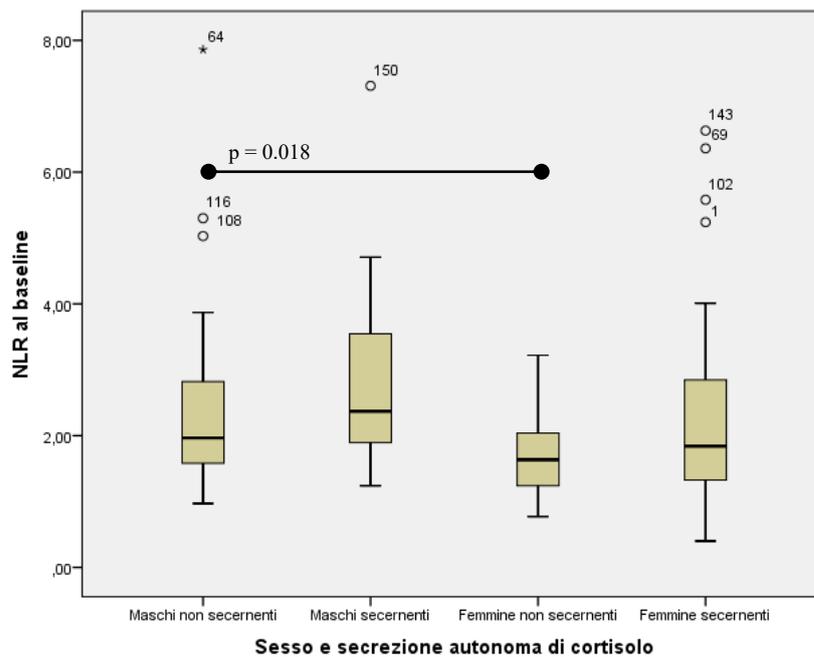


Figura 17: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori dell'indice NLR nelle categorie di sesso e secrezione autonoma di cortisolo, al baseline.

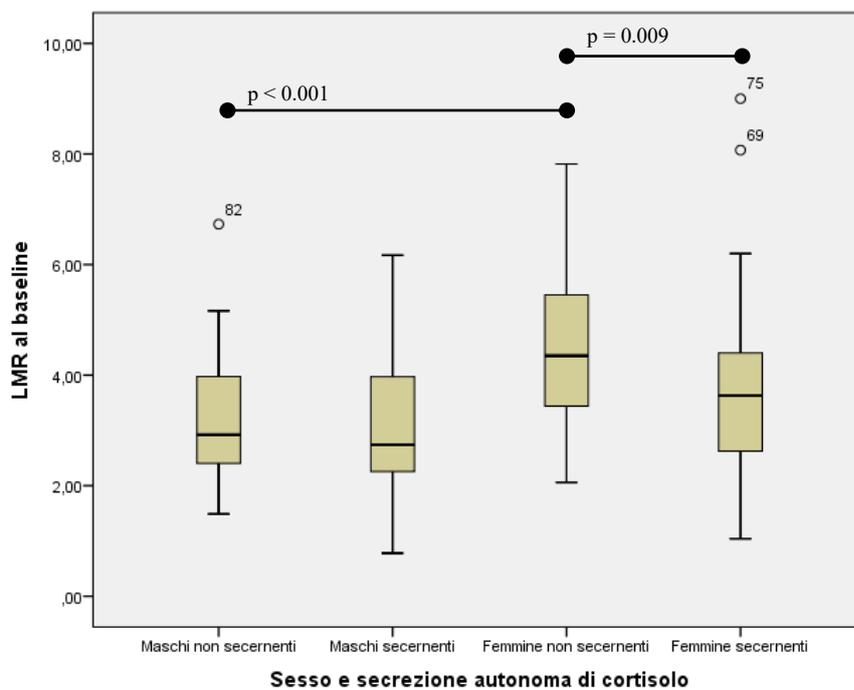


Figura 18: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori dell'indice LMR nelle categorie di sesso e secrezione autonoma di cortisolo, al baseline.

#### 4.2.2. Caratteristiche dell'emocromo con formula leucocitaria nella popolazione in base ad età e secrezione autonoma di cortisolo al baseline

Sono state indagate le distribuzioni dei valori dell'emocromo al baseline fra pazienti con MACS ed NF – AI, all'interno di due gruppi diversificati per età pari a più o meno di 65 anni.

	Over - 65			Under -65		
	MACS (N. casi = 51)	NF – AI (N. casi = 45)	p	MACS (N. casi = 24)	NF – AI (N. casi = 33)	p
<b>Hb, g/dL</b>	129.5 (120.5 – 141.0)	139.0 (131.5 – 150.0)	0.009	141.0 (132.0 – 150.7)	141.0 (134.5 – 151.5)	0.988
<b>HCT, L/L</b>	0.399 (0.371 – 0.430)	0.430 (0.403 – 0.458)	0.009	0.440 (0.401 – 0.457)	0.430 (0.407 – 0.450)	0.745
<b>RBC, n*10<sup>12</sup>/L</b>	4.41 (4.09 – 4.75)	4.68 (4.30 – 5.06)	0.042	4.78 (4.38 – 4.98)	4.75 (4.55 – 5.19)	0.312
<b>MCV, fL</b>	91.9 (87.1 – 95.3)	91.0 (86.2 – 96.4)	0.953	92.8 (89.7 – 95.3)	90.3 (87.6 – 93.1)	0.045
<b>MCH, pg</b>	30.1 (28.1 – 31.6)	29.9 (28.4 – 31.2)	0.982	30.3 (29.1 – 31.7)	29.8 (28.3 – 30.9)	0.163
<b>WBC, n*10<sup>9</sup>/L</b>	6.43 (5.27 – 8.32)	6.59 (5.59 – 8.18)	0.918	6.59 (5.60 – 7.53)	6.72 (5.73 – 7.67)	0.488
<b>Neutrofilii, n*10<sup>9</sup>/L</b>	3.93 (2.83 – 5.05)	3.81 (2.88 – 5.01)	0.957	3.69 (2.99 – 4.33)	3.51 (2.93 – 4.03)	0.765
<b>Linfociti, n*10<sup>9</sup>/L</b>	1.77 (1.27 – 2.12)	2.15 (1.61 – 2.45)	0.022	1.98 (1.60 – 2.68)	2.25 (1.95 – 2.60)	0.235
<b>Monociti, n*10<sup>9</sup>/L</b>	0.53 (0.47 – 0.71)	0.60 (0.50 – 0.78)	0.257	0.56 (0.49 – 0.68)	0.51 (0.44 – 0.61)	0.137
<b>Eosinofili, n*10<sup>9</sup>/L</b>	0.14 (0.08 – 0.26)	0.11 (0.07 – 0.23)	0.581	0.13 (0.06 – 0.20)	0.16 (0.12 – 0.21)	0.241
<b>Basofili, n*10<sup>9</sup>/L</b>	0.04 (0.02 – 0.05)	0.04 (0.02 – 0.05)	0.921	0.03 (0.02 – 0.04)	0.04 (0.02 – 0.05)	0.261
<b>NLR</b>	2.12 (1.42 – 3.13)	1.86 (1.43 – 2.78)	0.217	2.04 (1.26 – 2.66)	1.65 (1.24 – 2.04)	0.117
<b>LMR</b>	3.14 (2.26 – 4.37)	3.33 (2.63 – 4.35)	0.601	3.47 (2.50 – 4.26)	4.41 (3.50 – 5.55)	0.013

Tabella IV: Analisi caso-controllo fra pazienti con e senza secrezione autonoma di cortisolo, raggruppati per gruppi di età (+ o - di 65 anni); i dati mostrati corrispondono alle mediane ed ai range interquartili.

Fra i pazienti con più di 65 anni, sono stati riscontrati valori più bassi nei pazienti con MACS rispetto ai pazienti con NF – AI, per quanto riguarda Hb (mediane 129.5

g/dL vs 139.0 ng/dL), HCT (0.399 L/L vs 0.430 L/L), RBC (4.41  $n*10^{12}/L$  vs 4.68  $n*10^{12}/L$ ) e linfociti (1.77  $n*10^9/L$  vs 2.15  $n*10^9/L$ ).

Fra i pazienti under - 65, soltanto i valori di MCV ed LMR hanno mostrato differenze statisticamente significative; in particolare, i valori di MCV sono risultati più bassi fra gli NF - AI (90.3 fL vs 92.8 fL), mentre i valori di LMR sono risultati più ridotti fra i MACS (3.47 vs 4.41).

Sono state in seguito indagate le distribuzioni dei valori dell'emocromo al baseline fra pazienti over - 65 ed under - 65, all'interno di due gruppi diversificati per secrezione autonoma lieve di cortisolo.

	MACS			NF - AI		
	Over -65 (N. casi = 51)	Under - 65 (N. casi = 24)	P	Over 65 (N. casi = 45)	Under - 65 (N. casi = 37)	P
<b>Hb, g/dL</b>	129.5 (120.5 - 141.0)	141.0 (132.0 - 150.7)	0.014	139.0 (131.5 - 150.0)	141.0 (134.5 - 151.5)	0.671
<b>HCT, L/L</b>	0.399 (0.371 - 0.430)	0.440 (0.401 - 0.457)	0.009	0.430 (0.403 - 0.458)	0.430 (0.407 - 0.450)	0.989
<b>RBC, <math>n*10^{12}/L</math></b>	4.41 (4.09 - 4.75)	4.78 (4.38 - 4.98)	0.045	4.68 (4.30 - 5.06)	4.75 (4.55 - 5.19)	0.125
<b>MCV, fL</b>	91.9 (87.1 - 95.3)	92.8 (89.7 - 95.3)	0.485	91.0 (86.2 - 96.4)	90.3 (87.6 - 93.1)	0.265
<b>MCH, pg</b>	30.1 (28.1 - 31.6)	30.3 (29.1 - 31.7)	0.481	29.9 (28.4 - 31.2)	29.8 (28.3 - 30.9)	0.592
<b>WBC, <math>n*10^9/L</math></b>	6.43 (5.27 - 8.32)	6.59 (5.60 - 7.53)	0.678	6.59 (5.59 - 8.18)	6.72 (5.73 - 7.67)	0.941
<b>Neutrofil, <math>n*10^9/L</math></b>	3.93 (2.83 - 5.05)	3.69 (2.99 - 4.33)	0.256	3.81 (2.88 - 5.01)	3.51 (2.93 - 4.03)	0.274
<b>Linfociti, <math>n*10^9/L</math></b>	1.77 (1.27 - 2.12)	1.98 (1.60 - 2.68)	0.155	2.15 (1.61 - 2.45)	2.25 (1.95 - 2.60)	0.136
<b>Monociti, <math>n*10^9/L</math></b>	0.53 (0.47 - 0.71)	0.56 (0.49 - 0.68)	0.743	0.60 (0.50 - 0.78)	0.51 (0.44 - 0.61)	0.045
<b>Eosinofili, <math>n*10^9/L</math></b>	0.14 (0.08 - 0.26)	0.13 (0.06 - 0.20)	0.614	0.11 (0.07 - 0.23)	0.16 (0.12 - 0.21)	0.205
<b>Basofili, <math>n*10^9/L</math></b>	0.04 (0.02 - 0.05)	0.03 (0.02 - 0.04)	0.749	0.04 (0.02 - 0.05)	0.04 (0.02 - 0.05)	0.485
<b>NLR</b>	2.12 (1.42 - 3.13)	2.04 (1.26 - 2.66)	0.248	1.86 (1.43 - 2.78)	1.65 (1.24 - 2.04)	0.056
<b>LMR</b>	3.14 (2.26 - 4.37)	3.47 (2.50 - 4.26)	0.568	3.33 (2.63 - 4.35)	4.41 (3.50 - 5.55)	0.002

Tabella V: Analisi caso-controllo fra pazienti over - 65 e under - 65, raggruppati per secrezione autonoma di cortisolo; i dati mostrati corrispondono alle mediane ed ai range interquartili.

Fra i pazienti con MACS, i valori di Hb (mediane 129.5 g/dl vs 141.0 g/dL), HCT (0.399 L/L vs 0.440 L/L) ed RBC (4.41  $n*10^{12}/L$  vs 4.78  $n*10^{12}/L$ ) sono risultati più ridotti fra gli over - 65.

Fra i pazienti con NF – AI, il valore dei monociti è risultato più ridotto fra gli under – 65 ( $0.51 \text{ n} \cdot 10^9/\text{L}$  vs  $0.60 \text{ n} \cdot 10^9/\text{L}$ ), mentre quello dell'LMR più ridotto fra gli over – 65 (3.33 vs 4.41); il valore dell'indice NLR, con p – value vicino alla significatività (p – value = 0.056) è risultato più ridotto fra gli under – 65 (1.65 vs 1.86).

Vengono riportati, a seguire, i grafici relativi alle distribuzioni dei valori dell'emocromo nelle categorie prese in esame.

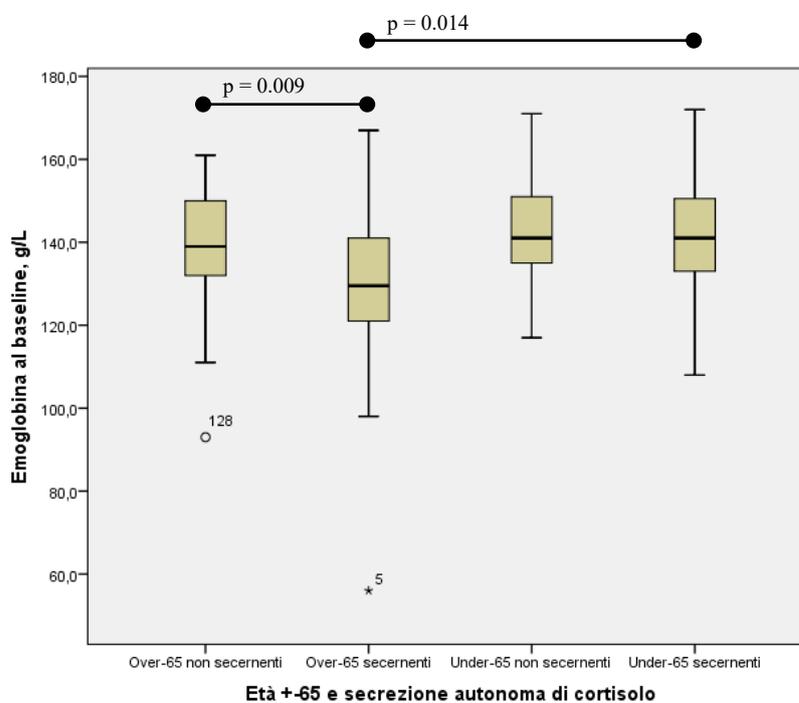


Figura 19: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori dell'emoglobina nelle categorie di età + o - 65 anni e secrezione autonoma di cortisolo, al baseline.

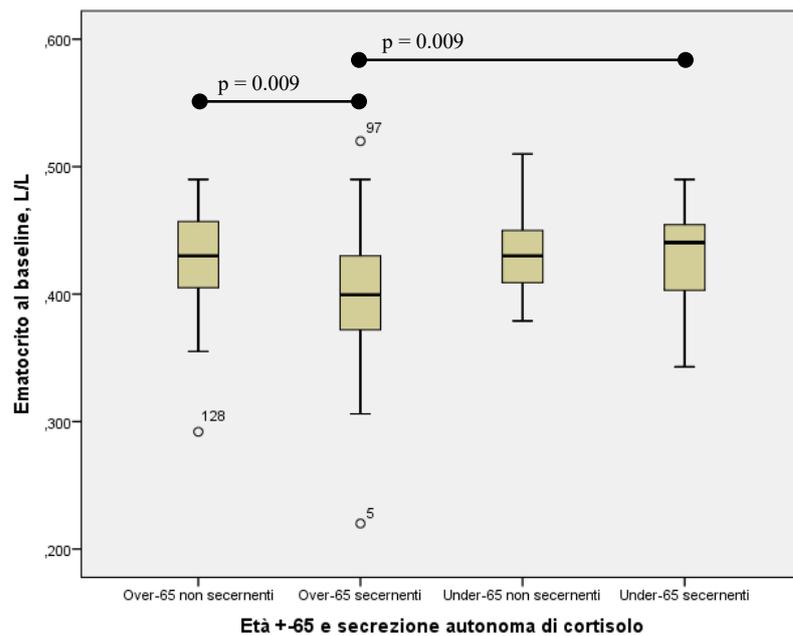


Figura 20: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori dell'ematocrito nelle categorie di età + o - 65 anni e secrezione autonoma di cortisolo, al baseline.

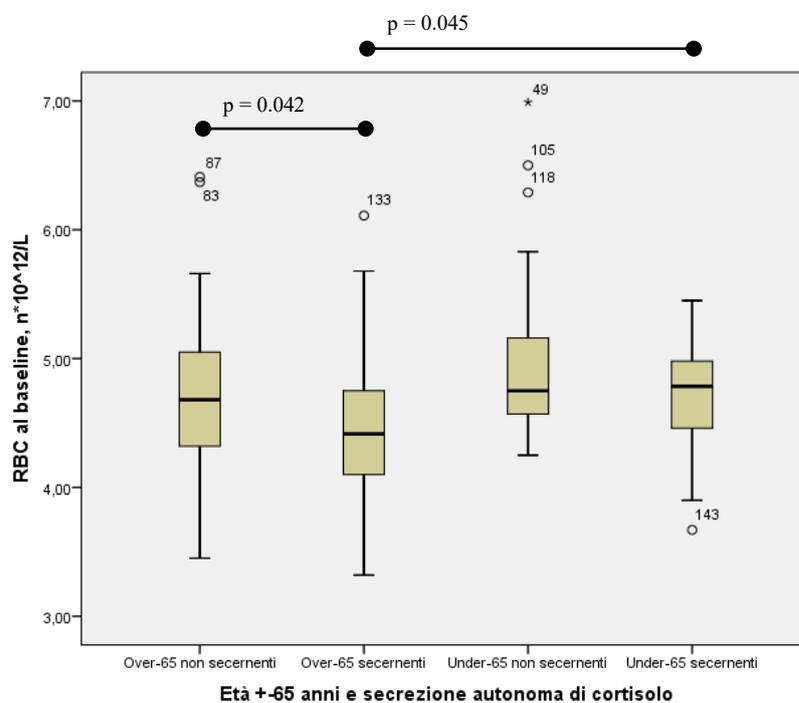


Figura 21: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori della conta eritrocitaria nelle categorie di età + o - 65 anni e secrezione autonoma di cortisolo, al baseline.

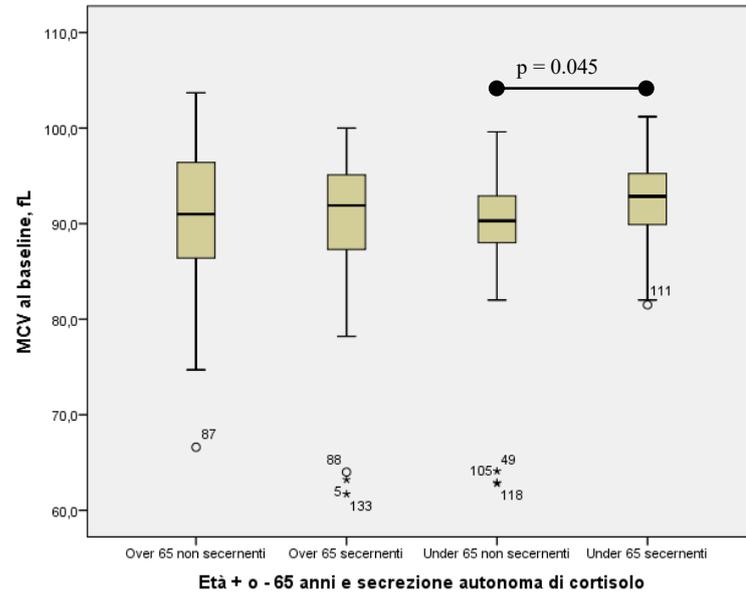


Figura 22: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori dell'MCV nelle categorie di età + o - 65 anni e secrezione autonoma di cortisolo, al baseline.

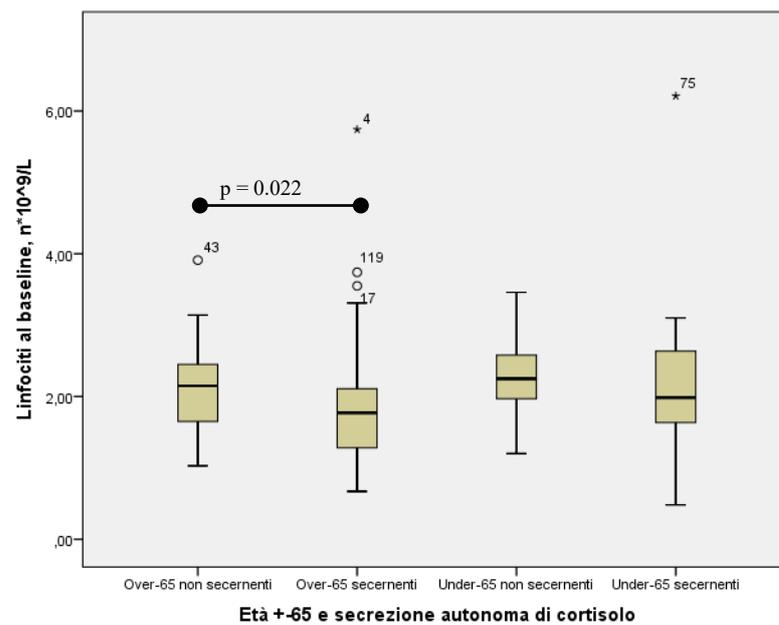


Figura 23: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori dei linfociti nelle categorie di età + o - 65 anni e secrezione autonoma di cortisolo, al baseline

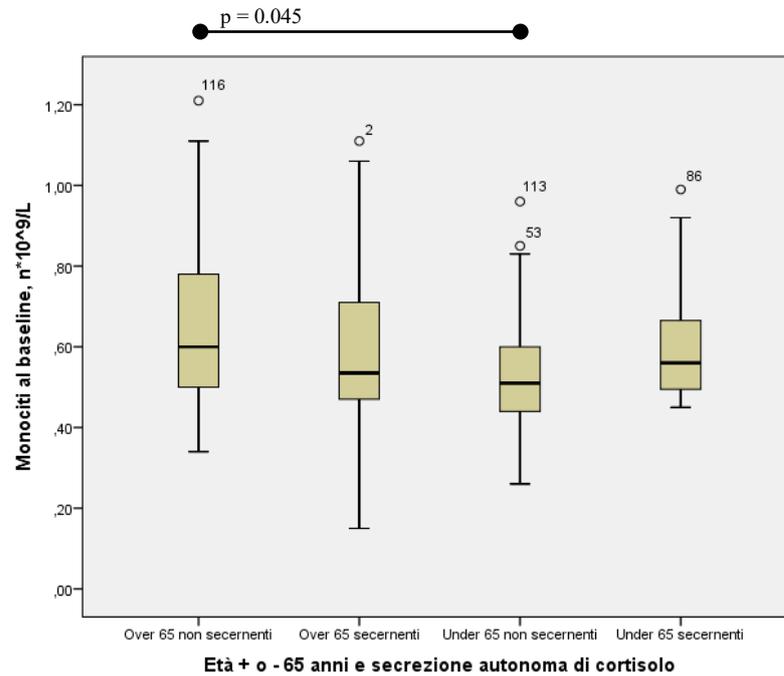


Figura 24: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori dei monociti nelle categorie di età + o - 65 anni e secrezione autonoma di cortisolo, al baseline.

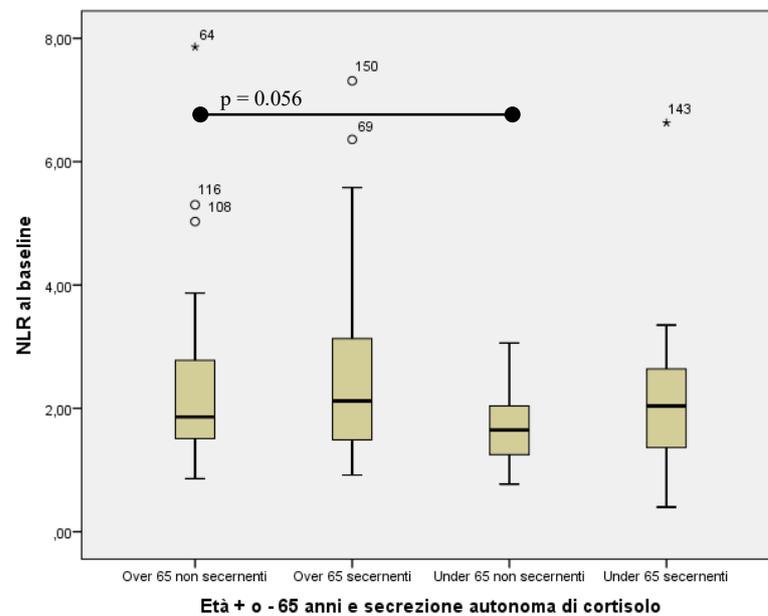


Figura 25: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori dell'indice NLR nelle categorie di età + o - 65 anni e secrezione autonoma di cortisolo, al baseline.

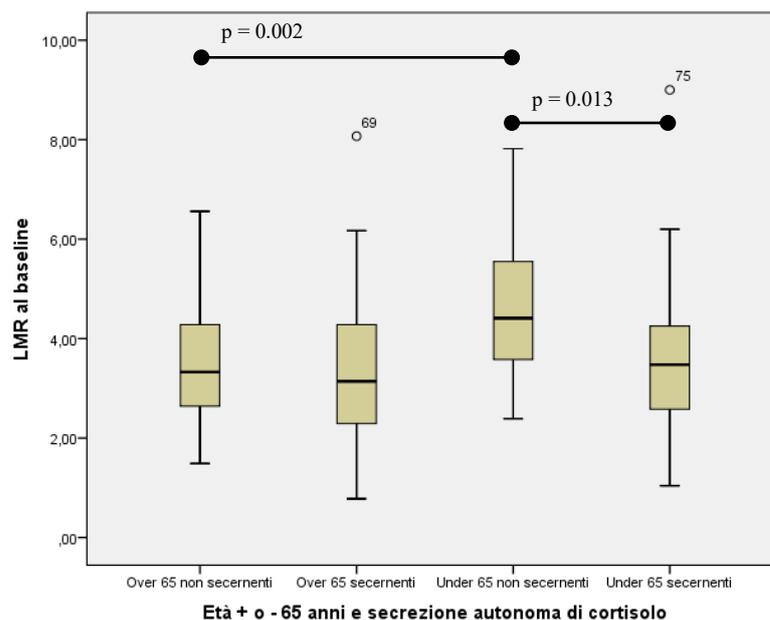


Figura 26: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori dell'indice LMR nelle categorie di età + o - 65 anni e secrezione autonoma di cortisolo, al baseline.

### 4.3. SECREZIONE AUTONOMA DI CORTISOLO ED EVENTI CARDIOVASCOLARI MAGGIORI AL BASELINE

Indipendentemente da sesso ed età, sono stati raccolti i dati relativi all'esistenza di eventi cardiovascolari documentati nella storia clinica dei pazienti, e si è studiata una loro eventuale maggior frequenza in pazienti con secrezione autonoma di cortisolo.

Calcolando il coefficiente di correlazione per ranghi di Spearman, è tuttavia emerso che tale correlazione, relativamente al nostro studio, non è riscontrabile.

In particolare, è stata studiata la correlazione fra i valori di cortisolo post-DST e la frequenza di eventi cardiovascolari, ottenendo un coefficiente di correlazione  $r_s$  pari a 0.44 ed un p - value pari a 0.585; entrambi i risultati suggeriscono un'assenza di correlazione.

L'assenza di tale correlazione è stata confermata anche considerando il sottogruppo di sole pazienti donne (p - value = 0.857).

Sono tuttavia emerse differenze statisticamente significative relativamente ai valori di Hb (129.0 vs 139.0 g/dL), HCT (0.396 vs 0.428 L/L) ed RBC (4.36 vs 4.69  $n \cdot 10^{12}/L$ ) nel confronto fra pazienti con e senza evidenza di eventi CV maggiori al baseline.

	<b>Evento/i CV</b>	<b>No Evento/i CV</b>	<b>p - value</b>
<b>Hb, g/dL</b>	129.0 (116.0 – 145.0)	139.0 (130.0 – 149.0)	0.027
<b>HCT, L/L</b>	0.396 (0.356 – 0.442)	0.428 (0.400 – 0.450)	0.032
<b>RBC, <math>n \cdot 10^{12}/L</math></b>	4.36 (3.83 – 4.80)	4.69 (4.34 – 5.04)	0.009

Tabella VI: Analisi caso-controllo fra pazienti con e senza evidenza di eventi CV al baseline, relativa ai valori di Hb, HCT ed RBC; i dati mostrati corrispondono alle mediane ed ai range interquartili

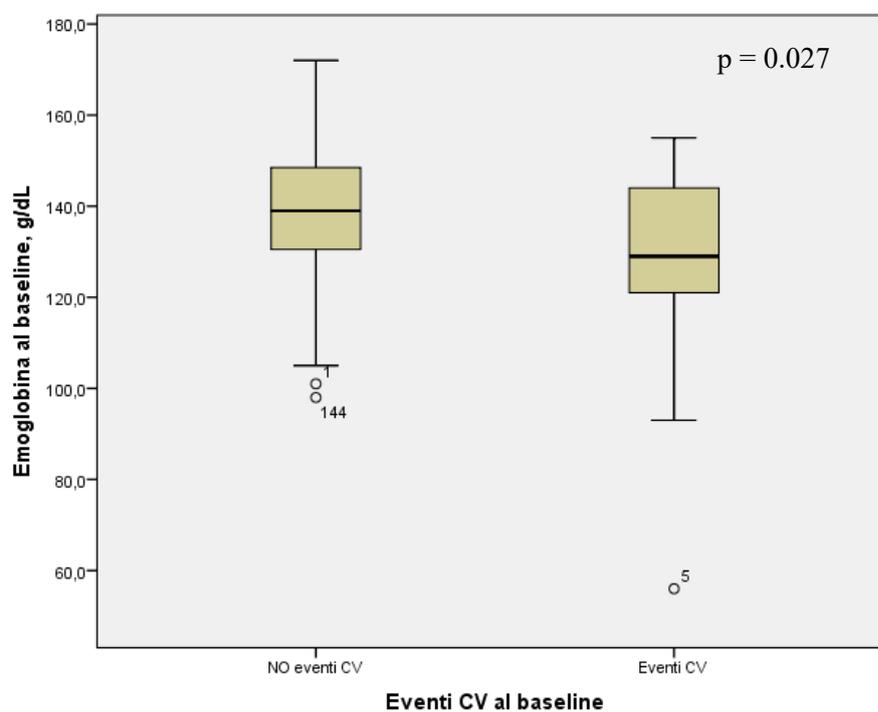


Figura 27: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori dell'emoglobina fra le categorie di pazienti con e senza evidenza di eventi CV, al baseline.

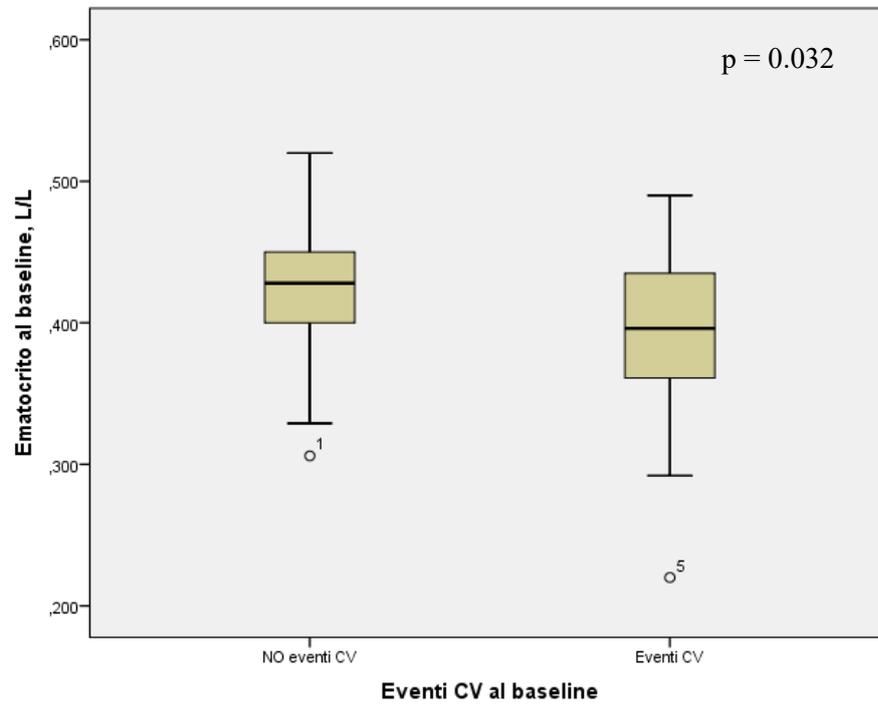


Figura 28: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori dell'ematocrito fra le categorie di pazienti con e senza evidenza di eventi CV, al baseline.

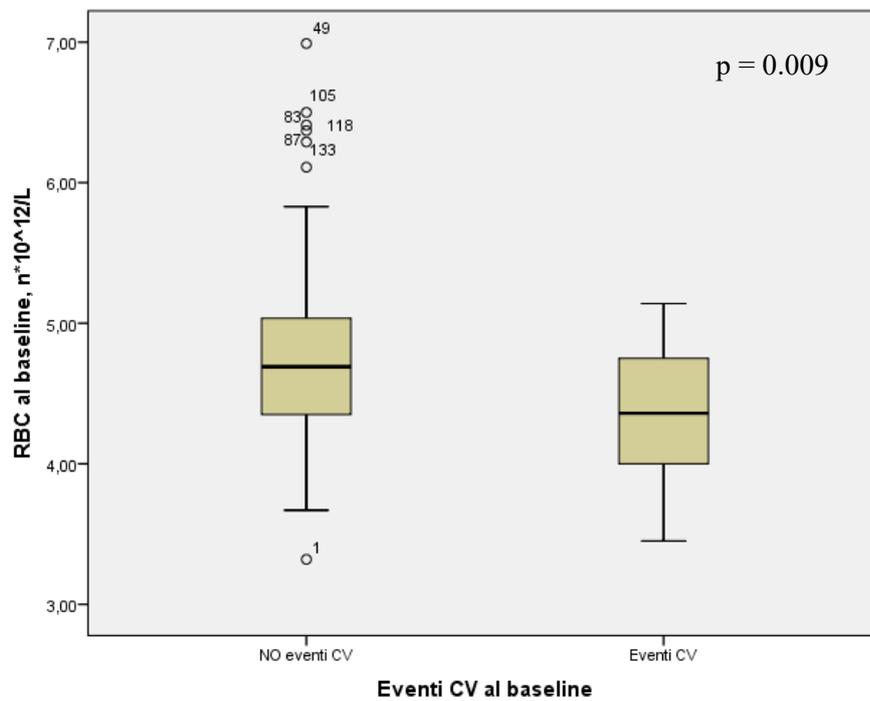


Figura 29: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori dell'RBC fra le categorie di pazienti con e senza evidenza di eventi CV, al baseline.

Numero paziente	Età alla diagnosi	Dimensione (mm) incidentaloma dx e/o sx	Cortisolo post - DST al 1° controllo (nmol/L)	Evento/i CV
4	72	14 SX	71	IMA
5	74	14 SX	56	IMA
9	62	10 SX - 6 DX	60	IMA
13	69	8 SX - 19 DX	160	IMA
22	81	20 SX	20	IMA, TVP, EP
32	77	30 SX	102	IMA
57	61	34 SX - 18 DX	82	IMA
59	62	35 SX	15	IMA
74	61	23 DX	33	IMA
98	62	20 SX	166	IMA
99	32	10 SX	57	Stroke ischemico
106	72	14 DX	30	IMA
113	52	10 DX	40	IMA, stroke ischemico
126	77	28 SX - 18 DX	107	IMA
128	79	12 SX	38	IMA
137	63	10 SX	53	IMA
151	60	25 SX	50	IMA, stroke ischemico, TVP

Tabella VII: Dati anonimi dei pazienti con eventi CV maggiori pregressi al baseline; IMA = infarto miocardico acuto; TVP = trombosi venosa profonda; EP = embolia polmonare.

#### 4.4. CARATTERISTICHE DELLA POPOLAZIONE AL 1ST – FOLLOWUP

Per 59 (37.6%) dei 157 pazienti totali, di cui 27 maschi (17.2%) e 32 femmine (20.4%), erano disponibili informazioni relative al cortisolo post-DST e all'emocromo, mancanti invece per i restanti 98 pazienti (62.4%); sono stati nuovamente realizzati 4 sottogruppi di pazienti, raggruppati per evidenza o meno di secrezione autonoma di cortisolo (cortisolo post-DST > 50 nmol/L), poi ulteriormente sotto-suddivisi in base a sesso (M/F) ed età (over-65, under-65).

Innanzitutto, sono stati individuati 37 pazienti secernenti (23.6%), ovvero con valori di cortisolo post-DST maggiori di 50 nmol/L, e 22 pazienti non secernenti (14%), con valori di cortisolo pari o inferiori a 50 nmol/L.

Sul totale dei pazienti, si contano inoltre 19 maschi (12.1%) e 18 femmine (11.5%) secernenti; 8 maschi (5.1%) e 14 femmine (8.9%) non secernenti.

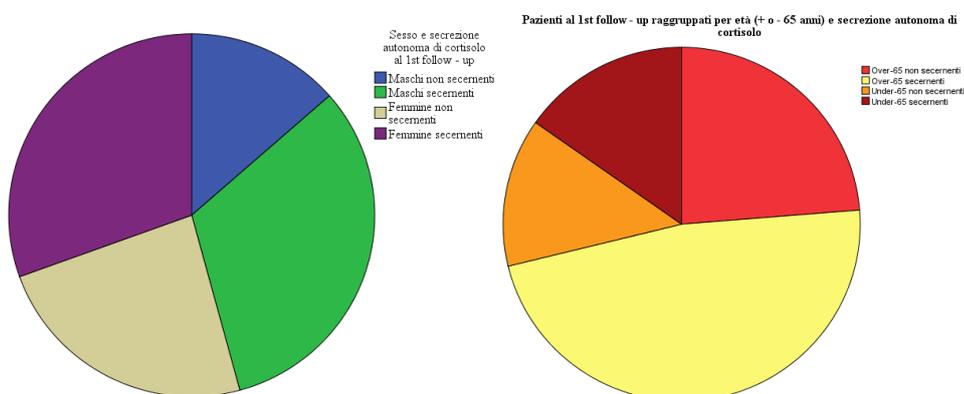


Figura 30: Caratteristiche della popolazione al 1° controllo relativamente a sesso e secrezione autonoma di cortisolo, e relativamente ad età (+ o - 65 anni) e secrezione autonoma di cortisolo.

Sulla base della soglia dei 65 anni, si identificano 28 over-65 secernenti (17.8%), 14 over-65 non secernenti (8.9%), 9 under-65 secernenti (5.7%) e 8 under-65 non secernenti (5.1%).

Per 47 (29.9%) dei 157 pazienti totali, di cui 19 maschi (12.1%) e 28 femmine (17.8%), erano disponibili informazioni relative al BMI; è stata calcolata la mediana relativa ai valori di BMI al 1° controllo per maschi e femmine, risultando rispettivamente pari a 28.08 kg/m<sup>2</sup> e 29.14 kg/m<sup>2</sup>.

#### 4.4.1. Caratteristiche dell'emocromo nella popolazione in base a sesso e secrezione autonoma di cortisolo al 1° controllo

Sono state indagate le distribuzioni dei valori dell'emocromo al 1° controllo fra pazienti con MACS ed NF – AI, all'interno di due gruppi diversificati per sesso.

	Femmine			Maschi		
	MACS (N. casi = 16)	NF – AI (N. casi = 12)	p	MACS (N. casi = 18)	NF – AI (N. casi = 7)	p
<b>Hb, g/dL</b>	133.0 (114.2 – 142.5)	133.0 (126.0 – 146.5)	0.610	137.0 (130.0 – 155.0)	144.0 (134.0 – 147.0)	0.976
<b>HCT, L/L</b>	0.401 (0.365 – 0.445)	0.420 (0.393 – 0.448)	0.486	0.423 (0.400 – 0.460)	0.420 (0.400 – 0.460)	0.808
<b>RBC, n*10<sup>12</sup>/L</b>	4.50 (4.39 – 4.80)	4.73 (4.55 – 5.25)	0.171	4.59 (4.33 – 4.88)	4.57 (3.89 – 5.17)	0.880
<b>MCV, fL</b>	90.5 (84.9 – 93.9)	89.6 (81.9 – 91.3)	0.390	93.4 (90.9 – 95.7)	92.0 (89.0 – 100.4)	0.809
<b>MCH, pg</b>	29.1 (25.6 – 30.5)	28.6 (25.9 – 29.7)	0.693	31.6 (29.8 – 32.1)	33.0 (28.4 – 34.4)	0.414
<b>WBC, n*10<sup>9</sup>/L</b>	7.47 (6.81 – 8.61)	7.53 (4.76 – 8.17)	0.444	5.82 (4.58 – 7.32)	6.74 (6.09 – 9.44)	0.250
<b>Neutrofilii, n*10<sup>9</sup>/L</b>	4.12 (3.18 – 4.81)	4.23 (2.74 – 4.56)	0.710	3.49 (2.50 – 4.31)	3.97 (3.00 – 6.64)	0.204
<b>Linfociti, n*10<sup>9</sup>/L</b>	2.34 (1.56 – 2.87)	2.05 (1.29 – 2.65)	0.610	1.66 (1.14 – 1.86)	2.29 (1.52 – 2.49)	0.084
<b>Monociti, n*10<sup>9</sup>/L</b>	0.67 (0.51 – 0.82)	0.52 (0.39 – 0.67)	0.057	0.54 (0.50 – 0.66)	0.68 (0.42 – 0.85)	0.438
<b>Eosinofili, n*10<sup>9</sup>/L</b>	0.21 (0.11 – 0.34)	0.15 (0.08 – 0.19)	0.119	0.19 (0.13 – 0.32)	0.2 (0.16 – 0.29)	0.972
<b>Basofili, n*10<sup>9</sup>/L</b>	0.04 (0.02 – 0.08)	0.03 (0.02 – 0.04)	0.310	0.04 (0.02 – 0.05)	0.05 (0.03 – 0.06)	0.057
<b>NLR</b>	1.83 (1.25 – 2.30)	2.03 (1.61 – 2.69)	0.486	2.08 (1.57 – 2.83)	2.01 (1.14 – 3.64)	0.972
<b>LMR</b>	3.65 (2.45 – 4.47)	3.63 (2.92 – 5.29)	0.546	2.47 (2.08 – 3.65)	3.37 (2.23 – 4.43)	0.378

Tabella VIII: Analisi caso-controllo fra pazienti con e senza secrezione autonoma di cortisolo, raggruppati per sesso; i dati mostrati corrispondono alle mediane.

Fra le pazienti di sesso femminile, soltanto il valore dei monociti ha mostrato differenze vicine alla significatività ( $p$  – value = 0.057), risultando aumentato nei MACS (mediane 0.67 n\*10<sup>9</sup>/L vs 0.052 n\*10<sup>9</sup>/L).

Fra i maschi, il valore dei basofili è risultato più ridotto nei MACS, con un  $p$  – value vicino alla significatività ( $p$  – value = 0.057).

La popolazione al 1° controllo è stata successivamente suddivisa fra pazienti con MACS ed NF – AI, realizzando un confronto fra maschi e femmine all'interno di questi due gruppi.

	MACS			NF - AI		
	Maschi (N. casi = 18)	Femmine (N. casi = 16)	P	Maschi (N. casi = 7)	Femmine (N. casi = 12)	P
<b>Hb, g/dL</b>	137.0 (130.0 – 155.0)	133.0 (114.2 – 142.5)	0.101	144.0 (134.0 – 147.0)	133.0 (126.0 – 146.5)	0.397
<b>HCT, L/L</b>	0.423 (0.400 – 0.460)	0.401 (0.365 – 0.445)	0.187	0.420 (0.400 – 0.460)	0.420 (0.393 – 0.448)	0.734
<b>RBC, n*10<sup>12</sup>/L</b>	4.59 (4.33 – 4.88)	4.50 (4.39 – 4.80)	0.877	4.57 (3.89 – 5.17)	4.73 (4.55 – 5.25)	0.498
<b>MCV, fL</b>	93.4 (90.9 – 95.7)	90.5 (84.9 – 93.9)	0.019	92.0 (89.0 – 100.4)	89.6 (81.9 – 91.3)	0.128
<b>MCH, pg</b>	31.6 (29.8 – 32.1)	29.1 (25.6 – 30.5)	0.007	33.0 (28.4 – 34.4)	28.6 (25.9 – 29.7)	0.076
<b>WBC, n*10<sup>9</sup>/L</b>	5.82 (4.58 – 7.32)	7.47 (6.81 – 8.61)	0.112	6.74 (6.09 – 9.44)	7.53 (4.76 – 8.17)	0.612
<b>Neutrofili, n*10<sup>9</sup>/L</b>	3.49 (2.50 – 4.31)	4.12 (3.18 – 4.81)	0.166	3.97 (3.00 – 6.64)	4.23 (2.74 – 4.56)	0.447
<b>Linfociti, n*10<sup>9</sup>/L</b>	1.66 (1.14 – 1.86)	2.34 (1.56 – 2.87)	0.026	2.29 (1.52 – 2.49)	2.05 (1.29 – 2.65)	0.866
<b>Monociti, n*10<sup>9</sup>/L</b>	0.54 (0.50 – 0.66)	0.67 (0.51 – 0.82)	0.228	0.68 (0.42 – 0.85)	0.52 (0.39 – 0.67)	0.139
<b>Eosinofili, n*10<sup>9</sup>/L</b>	0.19 (0.13 – 0.32)	0.21 (0.11 – 0.34)	0.767	0.2 (0.16 – 0.29)	0.15 (0.08 – 0.19)	0.116
<b>Basofili, n*10<sup>9</sup>/L</b>	0.04 (0.02 – 0.05)	0.04 (0.02 – 0.08)	0.347	0.05 (0.03 – 0.06)	0.03 (0.02 – 0.04)	0.039
<b>NLR</b>	2.08 (1.57 – 2.83)	1.83 (1.25 – 2.30)	0.192	2.01 (1.14 – 3.64)	2.03 (1.61 – 2.69)	0.767
<b>LMR</b>	2.47 (2.08 – 3.65)	3.65 (2.45 – 4.47)	0.075	3.37 (2.23 – 4.43)	3.63 (2.92 – 5.29)	0.398

Tabella IX: Analisi caso-controllo fra pazienti di sesso maschile e femminile, raggruppati per secrezione autonoma di cortisolo; i dati mostrati corrispondono alle mediane.

Fra i pazienti con MACS, i valori di MCV (mediane 90.5 fL vs 93.4 fL) ed MCH (29.1 pg vs 31.6 pg) sono risultati più ridotti nelle femmine rispetto ai maschi; al contrario, i linfociti sono risultati più ridotti nei pazienti maschi rispetto alle femmine (1.66 n\*10<sup>9</sup>/L vs 2.34 n\*10<sup>9</sup>/L).

Fra i pazienti con NF – AI, soltanto il valore dei basofili ha mostrato differenze statisticamente significative, risultando più ridotto nelle pazienti di sesso femminile rispetto ai maschi (0.03 n\*10<sup>9</sup>/L vs 0.05 n\*10<sup>9</sup>/L).

Vengono riportati, a seguire, i grafici relativi alle distribuzioni dei valori dell'emocromo nelle categorie prese in esame.

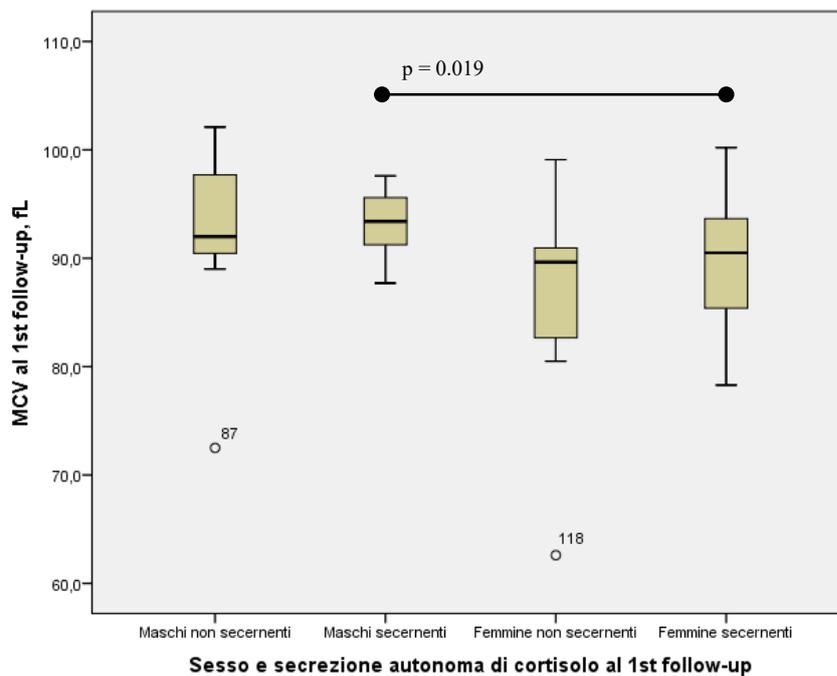


Figura 31: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori dell'MCV nelle categorie di sesso e secrezione autonoma di cortisolo, al 1° controllo.

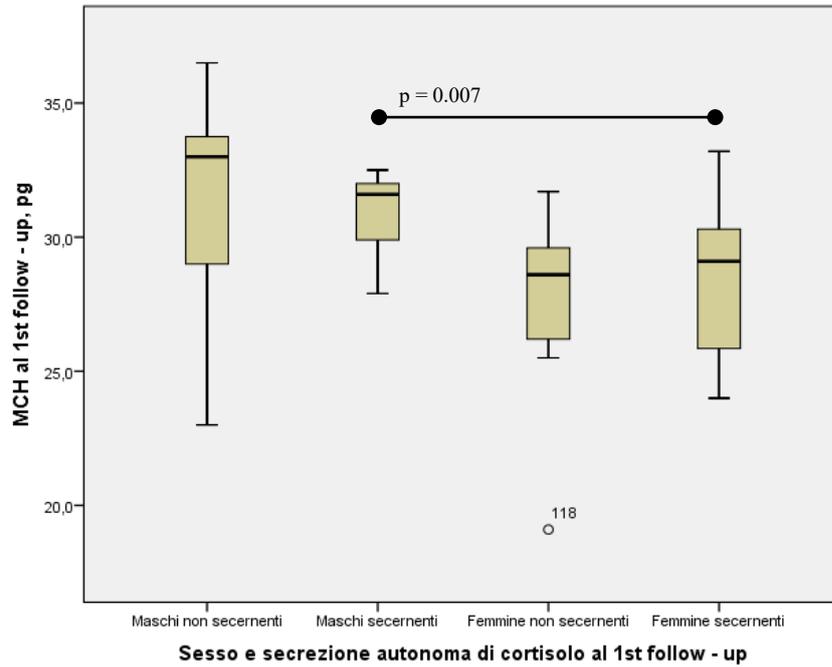


Figura 32: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori dell'MCH nelle categorie di sesso e secrezione autonoma di cortisolo, al 1° controllo.

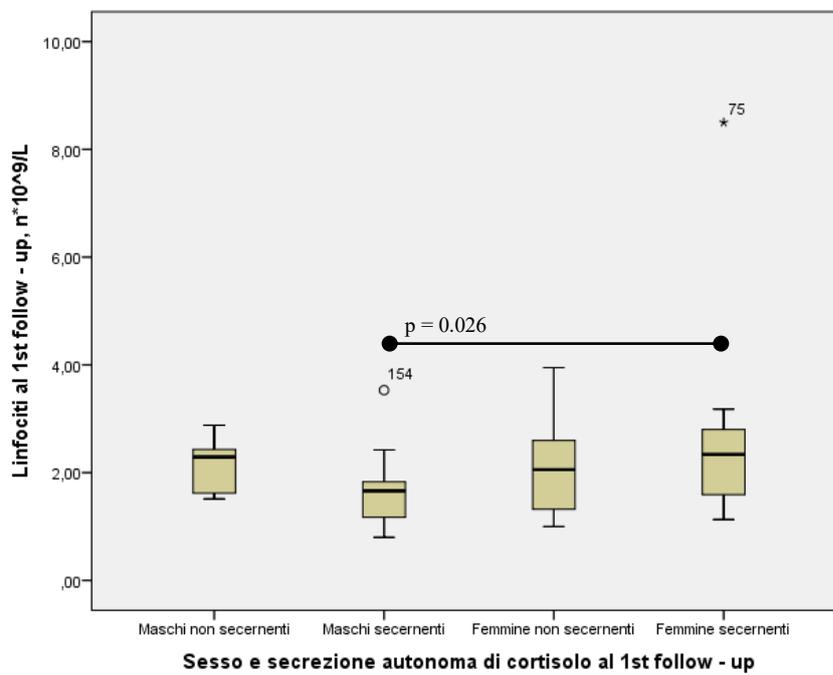


Figura 33: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori dei linfociti nelle categorie di sesso e secrezione autonoma di cortisolo, al 1° controllo.

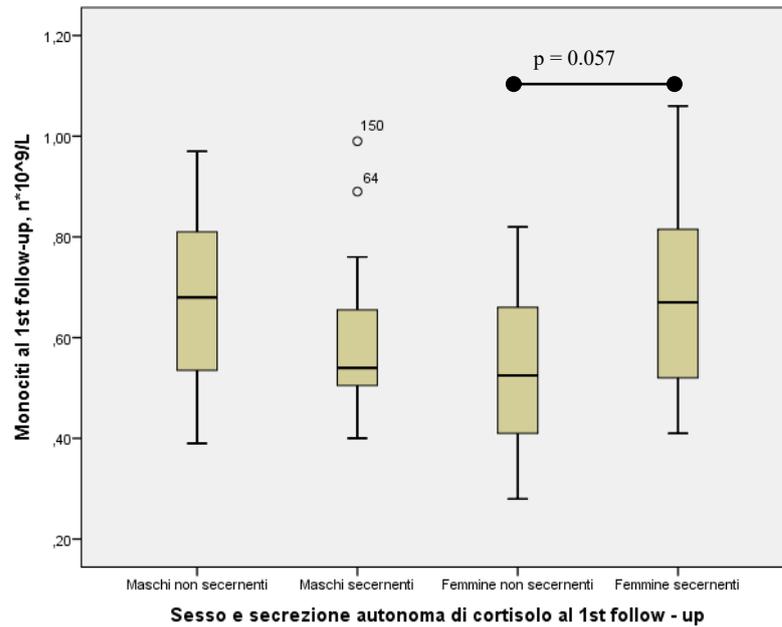


Figura 34: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori dei monociti nelle categorie di sesso e secrezione autonoma di cortisolo, al 1° controllo.

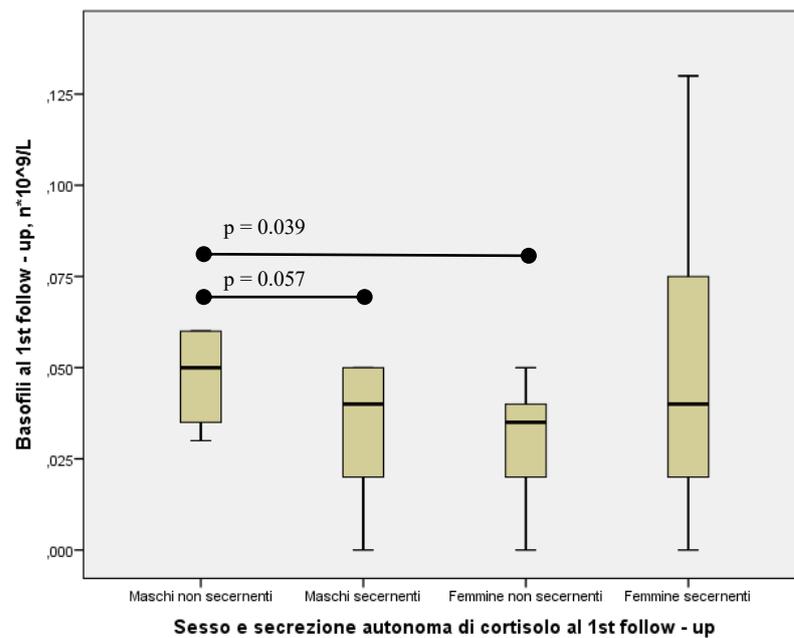


Figura 35: Grafico a scatole relativo alla distribuzione dei valori dei basofili nelle categorie di sesso e secrezione autonoma di cortisolo, al 1° controllo.

#### **4.4.2. Caratteristiche dell'emocromo nella popolazione in base ad età e secrezione autonoma di cortisolo al 1° controllo**

Non è stata trovata alcuna associazione statisticamente significativa fra i valori dell'emocromo registrati al 1° controllo e le categorie di pazienti suddivisi per gruppi di età (+ o - di 65 anni) e secrezione autonoma di cortisolo; in particolare, tale assenza di associazione è stata verificata mediante test di Mann - Whitney a campioni indipendenti, riportante per ciascuna associazione un valore di significatività superiore a 0.05.

#### **4.5. SECREZIONE AUTONOMA DI CORTISOLO ED EVENTI CARDIOVASCOLARI MAGGIORI AL 1° CONTROLLO**

Non è stato registrato alcun evento cardiovascolare maggiore di nuova insorgenza fra i pazienti con dati disponibili, relativamente al 1° controllo.

#### **4.6. CONFRONTO FRA VALORI DELL'EMOCROMO AL BASELINE E AL 1° CONTROLLO**

Mediante test dei ranghi con segno di Wilcoxon, è stato riscontrato un unico cambiamento statisticamente significativo ( $p$  - value = 0.010;  $Z = - 2.568$ ) per quanto riguarda il valore dei monociti nei pazienti con MACS; il valore delle mediane per questi ultimi era infatti di  $0.53 \text{ n} \cdot 10^9/\text{L}$  al baseline, e  $0.57 \text{ n} \cdot 10^9/\text{L}$  al 1° controllo, evidenziando un lieve ma significativo aumento.

#### **4.7. CARATTERISTICHE DELLA POPOLAZIONE AL 2° CONTROLLO**

Per 24 (15.3%) dei 157 pazienti totali, di cui 10 maschi (6.4%) e 14 femmine (8.9%), erano disponibili informazioni relative al cortisolo post-DST e

all'emocromo, mancanti invece per i restanti 133 pazienti (84.7%); sono stati nuovamente realizzati 4 sottogruppi di pazienti, raggruppati per evidenza o meno di secrezione autonoma di cortisolo (cortisolo post-DST > 50 nmol/L), poi ulteriormente sotto-suddivisi in base a sesso (M/F) ed età (over-65, under-65).

Innanzitutto, sono stati individuati 17 pazienti secernenti (10.8%), ovvero con valori di cortisolo post-DST maggiori di 50 nmol/L, e 7 pazienti non secernenti (4.6%), con valori di cortisolo pari o inferiori a 50 nmol/L.

Sul totale dei pazienti, si contano inoltre 6 maschi (3.8%) e 11 femmine (7%) secernenti; 4 maschi (2.5%) e 3 femmine (1.9%) non secernenti. Sulla base della soglia dei 65 anni, si identificano 10 over-65 secernenti (6.4%), 2 over-65 non secernenti (1.3%), 5 under-65 secernenti (3.2%) e 5 under-65 non secernenti (3.2%).

Per 20 (12.7%) dei 157 pazienti totali, di cui 7 maschi (4.5%) e 13 femmine (8.3%), erano disponibili informazioni relative al BMI; è stata calcolata la mediana relativa ai valori di BMI al 2° controllo per maschi e femmine, risultando rispettivamente pari a 28.06 kg/m<sup>2</sup> e 27.4 kg/m<sup>2</sup>.

Non è stato registrato alcun evento cardiovascolare maggiore di nuova insorgenza, al 2° controllo.

Per via del numero esiguo di pazienti con dati disponibili relativi al 2° controllo, non è stata effettuata alcuna indagine statistica relativa ad essi.

## 5. DISCUSSIONE

---

### 5.1. CARATTERISTICHE DELLA POPOLAZIONE ALLA DIAGNOSI

Per questo studio sono stati raccolti i dati di 157 pazienti afferenti agli ambulatori dell'endocrinologia dell'Azienda Ospedaliera di Padova tra il 2001 ed il 2024, con diagnosi di incidentaloma del surrene.

L'età media alla diagnosi era di 61 anni, con un minimo di 27, un massimo di 86 ed un campo di variazione di 59 anni.

Per gli uomini, l'età media alla diagnosi è di 61.6 anni, per le donne, di 60.9.

Secondo due studi, rispettivamente di Terzolo M et al. e Young WF et al., il riscontro di incidentaloma del surrene è più frequente in pazienti di età superiore ai 70 anni [2, 3].

Le nostre analisi hanno invece riportato un'età media alla diagnosi più bassa, sia per i maschi che per le femmine, lasciando ipotizzare che nella nostra popolazione di studio la diagnosi sia stata realizzata più precocemente. È pur vero però che, come riportato dalle nuove linee guida ESE/European Network for Study of Adrenal Tumors (ENSAT) del 2023, l'effetto della secrezione autonoma lieve di cortisolo, in pazienti molto anziani, abbia effetti meno rilevanti rispetto a quelli più giovani [71], e pertanto alcuni pazienti anziani con incidentaloma del surrene non vengono rivalutati a fondo dal punto di vista funzionale.

D'altro canto, stratificando i dati dei nostri pazienti per età ed in particolare dividendoli in due gruppi in base all'età maggiore o minore di 65 anni, emerge una prevalenza maggiore nel gruppo degli over – 65, pari al 61.2% dei casi totali di incidentaloma del surrene; questo dato, rispetto al precedente, si avvicina di più ai risultati dei due studi citati.

In base ai risultati di uno studio di Grumbach MM et al., è raro che, in generale, masse di dimensioni inferiori ai 4 cm siano maligne, mentre è certamente più probabile che lo siano per dimensioni maggiori di 6 cm [1].

Concordemente a quest'ultimo studio, anche noi abbiamo avuto modo di evidenziare che le dimensioni medie dell'asse maggiore ed i valori massimi degli incidentalomi osservati, tutti con caratteristiche radiologiche compatibili con benignità, fossero inferiori ai 6 cm; in particolare, gli incidentalomi del surrene sinistro, inclusi quelli rientranti nel contesto di una diagnosi di incidentaloma bilaterale, presentavano una dimensione media dell'asse maggiore pari a 24.2 mm, con un minimo di 5, un massimo di 57 ed un range di variazione di 52 mm; analogamente, gli incidentalomi del surrene di destra presentavano una dimensione media dell'asse maggiore pari a 22.8-mm, con un minimo di 6, un massimo di 49 ed un range di variazione pari a 43 mm.

## **5.2. CARATTERISTICHE DELLA POPOLAZIONE AL BASELINE**

Due studi, di Terzolo M et al., stimano che l'ipercortisolismo subclinico sia presente nel 5-30% dei pazienti con masse surrenaliche riscontrate incidentalmente [48, 50].

In base ai nostri dati, il riscontro di MACS (mild autonomous cortisol secretion), ovvero una condizione di ipercortisolismo subclinico in assenza di segni e/o sintomi evidenti di Sindrome di Cushing [71], è stato riscontrato nel 47.8% dei pazienti dello studio, aventi diagnosi di incidentaloma del surrene; il valore, dunque, risulta più elevato rispetto ai dati presenti nella letteratura presa in riferimento.

Sono stati inoltre misurati i valori mediani di BMI, risultando pari a 28.08 kg/m<sup>2</sup> per i maschi e 27.37 kg/m<sup>2</sup> per le femmine, entrambi rientranti nel range del sovrappeso; secondo uno studio di Barzon L et al., il riscontro di IS è più frequente in individui nel range dell'obesità (BMI => 30.0 kg/m<sup>2</sup>) [8].

### **5.2.1. Differenze fra i valori dell'emocromo al baseline fra pazienti di sesso maschile e femminile: MACS vs NF – AI**

In base ai nostri risultati, le principali differenze all'interno del gruppo femminile hanno riguardato i valori di Hb, HCT ed LMR, i quali sono risultati più ridotti fra i MACS.

Tali riscontri vanno in contrasto con i risultati dello studio di Detomas M. et al. nel quale, fra le pazienti di sesso femminile affette da CS, erano invece stati evidenziati valori Hb, HCT, MCV, MCH ed RBC più elevati rispetto al gruppo di controllo [99].

Per quanto riguarda i valori di LMR, il riscontro di valori più ridotti nei MACS è concorde ai risultati del lavoro di Favero et al., il quale ne ha evidenziato una correlazione negativa con i livelli sierici di cortisolo in entrambi i sessi [89].

All'interno del gruppo maschile, soltanto i valori di linfociti e basofili hanno mostrato differenze significative, risultando più ridotti fra i MACS; i valori dell'RBC, sebbene con un livello di significatività vicino a quello desiderato ( $p$  - value = 0.051) hanno mostrato numeri più ridotti fra i MACS.

Il riscontro di valori ridotti di RBC nei maschi con MACS rispetto agli NF-AI, sebbene con livello di significatività pari a 0.051, concorda con quanto evidenziato dallo studio di Detomas M et al., nel quale tale differenza viene spiegata in base ad una riduzione dei livelli di testosterone nei pazienti affetti da CS, suggerendo un collegamento più rilevante del testosterone sulla funzione ematopoietica rispetto all'ipercortisolismo di per sé [99].

A sostegno di tale ipotesi, uno studio italiano del 2014 di Ambrogio AG et al. evidenziava uno stato di eritropenia nei pazienti con CS di sesso maschile e nessuna alterazione in tal senso in quelli di sesso femminile, nonché una correlazione fra i livelli di eritrociti e quelli di testosterone negli uomini.

Per quanto riguarda il riscontro di linfociti e basofili più ridotti nei MACS, rispetto agli NF - AI, tale riscontro trova elementi concordi in letteratura: è infatti nota l'associazione fra eccesso di cortisolo e linfopenia [78, 79, 80, 81, 82], così come di una correlazione negativa fra i valori di cortisolo post - DST ed il numero di linfociti, eosinofili e basofili [88], sebbene tali fonti non evidenzino in tal senso una differenza sesso - specifica; al contrario, secondo lo studio di Favero et al., il valore dei linfociti, eosinofili e basofili non correla significativamente con i valori di cortisolo post - DST [89].

### **5.2.2. Differenze fra i valori dell'emocromo al baseline fra pazienti con MACS ed NF – AI: maschi vs femmine**

Le principali differenze all'interno del gruppo dei MACS hanno riguardato i valori di Hb, HCT, MCV, MCH, risultati più elevati nei pazienti di sesso maschile, e dei basofili, risultati invece più elevati nelle pazienti di sesso femminile.

Per quanto riguarda i valori di Hb ed HCT, il riscontro di valori più elevati nei pazienti di sesso maschile rispetto alle femmine non trova riscontro in letteratura, la quale, al contrario, evidenzia valori più ridotti nei pazienti maschi affetti da sindrome di Cushing e possibilmente legati a livelli ridotti di testosterone, come già visto per i valori di RBC nel gruppo dei maschi con MACS o NF – AI.

Per quanto riguarda i valori di MCV ed MCH nella popolazione maschile, non erano state riscontrate correlazioni significative con i valori di cortisolo post – DST nello studio di Detomas M et al., né particolari alterazioni sesso – specifiche nella popolazione di sesso maschile [99]; tale riscontro da parte nostra non trova dunque giustificazione nella letteratura presa in esame.

In relazione al valore dei basofili, è documentata in letteratura una correlazione negativa con i valori di cortisolo post – DST ma, anche in questo caso, nessuna alterazione sesso – specifica [88]; al contrario, secondo lo studio di Favero et al., il valore dei basofili non correla significativamente con i valori di cortisolo post – DST [89].

All'interno del gruppo dei pazienti con NF – AI, sono state evidenziate differenze sesso – specifiche per i valori di Hb, HCT, MCH, WBC, neutrofili, monociti, eosinofili, basofili ed NLR, risultati più elevati nei pazienti di sesso maschile; i valori di LMR sono invece risultati più elevati nelle pazienti di sesso femminile.

Per quanto riguarda i valori dei monociti, più elevati nei maschi rispetto alle femmine, è possibile che tale riscontro costituisca una differenza fisiologica fra i due sessi, secondo quanto riportato dallo studio di Kroon J et al. [90].

Il riscontro di valori ridotti di LMR nelle pazienti di sesso femminile rispetto ai maschi trova un precedente nello studio di Favero et al., il quale ha evidenziato una

differenza analoga nel gruppo di pazienti con NFAT, oltre che fra i pazienti con MACS o CS conclamata.

In merito alle altre differenze osservate, non è stato trovato alcun riscontro analogo nel contesto della letteratura presente.

### **5.2.3. Differenze fra i valori dell'emocromo al baseline fra pazienti over – 65 ed under – 65: MACS vs NF – AI**

All'interno del gruppo degli over – 65, i valori di Hb, HCT, RBC e linfociti hanno riportato differenze significative, risultando più ridotti nei pazienti con MACS rispetto a quelli con NF – AI.

Benché sia nota una riduzione dei valori di Hb, HCT ed RBC nei pazienti con CS di sesso maschile, possibilmente legata a ridotti livelli di testosterone [99], non è possibile confrontare i nostri risultati con quelli presenti nella letteratura presa in esame, in quanto non informativi relativamente ad un confronto fra gruppi divisi per età.

Per quanto riguarda i valori dei linfociti, il nostro riscontro è invece concorde con lo studio di Detomas M et al., il quale ha evidenziato una correlazione negativa fra i valori di cortisolo post – DST e il valore dei linfociti [88]; anche altre fonti prese in esame testimoniano, fra l'altro, una riduzione del numero dei linfociti nel contesto dell'ipercortisolismo [78, 79, 80, 81, 82] ed è inoltre noto come l'eccesso di glucocorticoidi alteri l'azione dei T-helper (Th1 e Th2) [80] e riduca la proliferazione dei linfociti B, quale possibile causa di un numero più ridotto di linfociti nei pazienti con ipercortisolismo di vario grado [82].

Per quanto riguarda il gruppo degli under – 65, sono risultati valori più elevati di MCV nei pazienti con MACS rispetto a quelli con NF – AI e, al contrario, valori di LMR più elevati nei pazienti con NF – AI.

Il riscontro di valori di MCV più elevati nei MACS è concorde con quanto evidenziato nello studio di Detomas M et al., il quale ha riportato un valore di MCV più elevato nei pazienti affetti da CS, sia maschi che femmine; le motivazioni

addotte dallo studio, in merito a tale riscontro, fanno riferimento ad una possibile infiammazione della mucosa gastrica con conseguente malassorbimento di vitamina B12 e folati, causa a sua volta di macrocitosi [99], o alla possibile correlazione fra macrocitosi e steatosi epatica [103], la quale pare essere più frequente nei pazienti affetti da CS [102].

Riguardo ai valori di LMR, il riscontro da parte nostra di valori più elevati nei pazienti con NF – AI, rispetto ai pazienti con MACS, contrasta con quanto evidenziato dallo studio di Favero et al., il quale ha invece evidenziato una correlazione negativa fra livelli di cortisolo post – DST e valori di LMR.

#### **5.2.4. Differenze fra i valori dell'emocromo al baseline fra pazienti con MACS e pazienti con NF – AI: over – 65 vs under – 65**

All'interno del gruppo dei pazienti con MACS, le differenze significative riscontrate fra i pazienti over – 65 ed under – 65 hanno riguardato i valori di Hb, HCT ed RBC, risultati più ridotti negli over – 65 rispetto agli under – 65.

Tali differenze non trovano alcun esempio analogo nella letteratura presa in visione, la quale ha invece evidenziato differenze sesso – specifiche più che legate all'età.

All'interno del gruppo degli NF – AI, il valore di monociti ed NLR, quest'ultimo con p – value vicino alla significatività (0.056), sono risultati più elevati negli over – 65 rispetto agli under – 65; per l'indice LMR sono invece stati riscontrati valori più ridotti negli over – 65.

Anche in questo caso, non è possibile trovare riscontri simili nella letteratura esaminata.

Essendo però nota la correlazione fra gli indici NLR ed LMR ed il rischio cardiovascolare [104], il riscontro di tali valori rispettivamente più elevati e più ridotti fra gli over – 65 evidenzia la possibilità di un maggior rischio cardiovascolare in tale gruppo, il quale potrebbe giovare da un controllo maggiore dei valori e degli indici infiammatori ematologici.

### **5.2.5. Cortisolo post – DST, valori dell'emocromo e rischio cardiovascolare**

Non è stata trovata alcuna correlazione fra i valori del cortisolo post – DST ed il numero di eventi cardiovascolari nella popolazione al baseline.

Ciononostante, la maggior parte dei pazienti con eventi CV pregressi mostrava valori di cortisolo post – DST superiori al cut – off di 50 nmol/L.

Per quanto riguarda i valori dell'emocromo, abbiamo riscontrato valori di Hb, HCT ed RBC più ridotti nei pazienti con evidenza di uno o più eventi cardiovascolari pregressi al baseline.

Il riscontro di valori di HCT più ridotti fra i pazienti con eventi CV pregressi è discorde con lo studio di Detomas M, il quale al contrario mostrava valori più alti di HCT nel sottogruppo di pazienti con MACS e storia di eventi CV.

## **5.3. CARATTERISTICHE DELLA POPOLAZIONE AL 1° controllo**

Relativamente al 1° controllo, le informazioni relative all'emocromo ed ai valori di cortisolo post – DST erano disponibili per 59 dei 157 pazienti totali dello studio (37.6 %).

Per 47 dei 59 pazienti al 1° controllo, di cui 19 maschi (32.2%) e 28 femmine (47.5%) erano disponibili informazioni relative al BMI, rimanendo dunque 12 casi mancanti (20.3%) di tale dato. Le mediane relative ai valori di BMI sono risultate pari a 28.08 kg/m<sup>2</sup> per i maschi e 29.14 kg/m<sup>2</sup> per le femmine, rientrando anche in questo caso, come per i valori osservati al baseline, nel range del sovrappeso.

### **5.3.1. Differenze fra i valori dell'emocromo al 1° controllo fra pazienti di sesso maschile e femminile: MACS vs NF – AI**

All'interno del gruppo delle femmine, è stata riportata un'unica differenza relativa ai valori dei monociti, tuttavia con p – value soltanto “vicino” alla significatività (0.057).

In particolare, sono stati riscontrati valori più elevati nei pazienti con MACS rispetto ai pazienti con NF – AI, analogamente a quanto evidenziato nello studio di Favero et al., secondo il quale esiste una correlazione positiva fra valori di cortisolo post – DST e valori dei monociti, nei pazienti con MACS [89].

All'interno del gruppo dei maschi, i valori dei basofili hanno mostrato numeri più ridotti nei pazienti con MACS, rispetto a quelli con NF – AI, ma anche in questo caso con un p – value vicino alla significatività (0.057).

Tale riscontro trova nuovamente discordi i risultati mostrati dagli studi di Detomas M et al. e Favero et al., non concordi relativamente all'esistenza di una correlazione significativa fra i livelli di cortisolo post – DST ed il valore dei basofili.

### **5.3.2. Differenze fra i valori dell'emocromo al 1° controllo fra pazienti con MACS ed NF – AI: maschi vs femmine**

All'interno del gruppo dei pazienti con MACS, i valori di MCV ed MCH sono risultati più elevati nei pazienti di sesso maschile, rispetto alle femmine; al contrario, i valori dei linfociti sono risultati più elevati nelle pazienti di sesso femminile.

Per quanto riguarda i valori di MCV ed MCH nella popolazione maschile, come già visto per il baseline, non erano state riscontrate correlazioni significative con i valori di cortisolo post – DST nello studio di Detomas M et al., né particolari alterazioni sesso – specifiche nella popolazione di sesso maschile per tali valori dell'emocromo [99]; è interessante osservare, tuttavia, che tale riscontro ricalca il medesimo risultato osservato al baseline, da parte nostra, per la popolazione di sesso maschile con MACS.

Il riscontro di valori di linfociti più elevati nelle pazienti di sesso femminile con MACS non trova riscontro nella letteratura presa in esame.

All'interno del gruppo dei pazienti con NF – AI, soltanto i valori dei basofili hanno mostrato differenze statisticamente significative fra pazienti di sesso maschile e

femminile, risultando più elevati fra i maschi, ma tale riscontro non trova precedenti nella letteratura presa in visione.

#### **5.4. CONFRONTO DEI VALORI DELL'EMOCROMO FRA BASELINE E 1° controllo**

È stato riscontrato un unico cambiamento statisticamente significativo ( $p - \text{value} = 0.010$ ;  $Z = - 2.568$ ) nel gruppo di pazienti con MACS, per quanto riguarda il valore dei monociti; si può ipotizzare dunque che l'esposizione a valori di cortisolo lievemente in eccesso, nell'arco di tempo intercorso fra le visite corrispondenti al baseline e quelle corrispondenti al 1° controllo (pari ad almeno un anno), abbia generato tale innalzamento, seppur lieve, dei valori dei monociti.

## 6. CONCLUSIONI

---

L'incidentaloma del surrene è una patologia frequente nella popolazione generale, e i cui numeri crescono sempre di più grazie al progresso tecnologico e scientifico nel campo della diagnostica per immagini.

I nostri dati hanno evidenziato questo aspetto riportando un'età media alla diagnosi di circa 10 anni più ridotta rispetto a quanto riportato in letteratura.

Abbiamo inoltre avuto modo di osservare una prevalenza di secrezione autonoma lieve di cortisolo, nei pazienti con diagnosi di incidentaloma del surrene, anch'essa maggiore rispetto ai dati disponibili in letteratura.

Sulla base di una correlazione documentata fra i valori di cortisolo e i valori dell'emocromo con conta leucocitaria e di differenze sesso – specifiche e sottotipo - specifiche in tal senso, abbiamo indagato se tali differenze possano essere riscontrate nei pazienti con diagnosi di incidentaloma del surrene inclusi nel nostro studio, ampliando ulteriormente la ricerca a possibili differenze legate all'età.

Abbiamo riscontrato valori di Hb, HCT ed LMR più ridotti nelle femmine con MACS rispetto a quelle con NF – AI, e valori di linfociti e basofili più ridotti nei maschi con MACS rispetto ai pazienti maschi con NF – AI.

Confrontando maschi e femmine con evidenza di MACS, abbiamo evidenziando valori di Hb, HCT, MCV ed MCH più ridotti nelle pazienti di sesso femminile, e valori di basofili e linfociti più ridotti in quelli di sesso maschile.

Fra i pazienti con NF – AI, abbiamo evidenziato valori di Hb, HCT, MCH, WBC, neutrofili, monociti, eosinofili, basofili ed NLR più ridotti nelle pazienti di sesso femminile, e valori di LMR più ridotti in quelli di sesso maschile, evidenziando come differenze sesso - specifiche lievi ma statisticamente significative sussistano anche in pazienti con diagnosi di incidentaloma del surrene ma in assenza di secrezione autonoma lieve di cortisolo.

Considerando il gruppo degli over – 65, sono emerse differenze relative ai valori di Hb, HCT, RBC e linfociti, risultati più ridotti nei pazienti con MACS rispetto a

quelli con NF – AI; fra gli under – 65, i valori di MCV sono risultati più bassi fra i pazienti con NF – AI, quelli di LMR, invece, più ridotti fra i pazienti con MACS.

Le analisi realizzate nel gruppo di pazienti con MACS, hanno inoltre evidenziato valori di Hb, HCT ed RBC più ridotti fra gli over – 65, mentre nel gruppo di pazienti con NF – AI, soltanto i valori di monociti, più bassi fra under – 65, e di LMR, più ridotti fra gli over – 65, hanno mostrato differenze statisticamente significative.

Oltre che differenze sesso – specifiche, il nostro studio ha evidenziato possibili alterazioni dell'emocromo con conta leucocitaria dipendenti anche dall'età dei pazienti presa in considerazione, meritevoli di ulteriori approfondimenti in virtù di una loro correlazione nota con il rischio cardiovascolare.

È inoltre emerso un lieve ma significativo aumento nel valore dei monociti, confrontando i valori del 1° controllo a quelli del baseline.

Sebbene, infine, nessuna correlazione fra i livelli di cortisolo post – DST ed il numero di eventi cardiovascolari maggiori sia stata trovata, abbiamo comunque riscontrato valori di Hb, HCT ed RBC più ridotti nei pazienti con evidenza di uno o più eventi cardiovascolari pregressi al baseline.

Questi risultati hanno mostrato che anche una secrezione autonoma lieve di cortisolo, o MACS, può produrre alterazioni caratteristiche e sesso – specifiche dell'emocromo e della conta leucocitaria, talvolta analoghe a quelle documentate in letteratura nei pazienti con sindrome di Cushing; in altre parole, anche il MACS è in grado di alterare l'eritropoiesi, la funzione immunitaria e lo stato infiammatorio dei pazienti.

Questi riscontri, infine, potrebbero fornire utili informazioni per una possibile futura indagine relativa alle comorbidità correlate al MACS e di come esse siano influenzate dagli effetti dell'ipercortisolismo lieve.

## 7. BIBLIOGRAFIA

---

1. Grumbach MM, Biller BM, Braunstein GD, Campbell KK, Carney JA, Godley PA, Harris EL, Lee JK, Oertel YC, Posner MC, Schlechte JA, Wieand HS. Management of the clinically inapparent adrenal mass ("incidentaloma"). *Ann Intern Med.* 2003 Mar 4;138(5):424-9. doi: 10.7326/0003-4819-138-5-200303040-00013. PMID: 12614096.
2. Terzolo M, Stigliano A, Chiodini I, Loli P, Furlani L, Arnaldi G, Reimondo G, Pia A, Toscano V, Zini M, Borretta G, Papini E, Garofalo P, Allolio B, Dupas B, Mantero F, Tabarin A; Italian Association of Clinical Endocrinologists. AME position statement on adrenal incidentaloma. *Eur J Endocrinol.* 2011 Jun;164(6):851-70. doi: 10.1530/EJE-10-1147. Epub 2011 Apr 6. PMID: 21471169.
3. Young WF Jr. Clinical practice. The incidentally discovered adrenal mass. *N Engl J Med.* 2007 Feb 8;356(6):601-10. doi: 10.1056/NEJMc065470. PMID: 17287480.
4. Chatzellis E, Kaltsas G. Adrenal Incidentalomas. [Updated 2019 Nov 7]. In: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, et al., editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-.
5. Rineheart JF WO and CW. Adenomatous hyperplasia of the adrenal cortex associated with essential hypertension. *Arch. Pathol.* 1941;(34):1031-1034.
6. Russell RP, Masi AT, Richter ED. Adrenal cortical adenomas and hypertension. A clinical pathologic analysis of 690 cases with matched controls and a review of the literature. *Medicine (Baltimore).* 1972 May;51(3):211-25. PMID: 5021770.
7. Kloos RT, Gross MD, Francis IR, Korobkin M, Shapiro B. Incidentally discovered adrenal masses. *Endocr Rev.* 1995 Aug;16(4):460-84. doi: 10.1210/edrv-16-4-460. PMID: 8521790.
8. Barzon L, Sonino N, Fallo F, Palu G, Boscaro M. Prevalence and natural history of adrenal incidentalomas. *Eur J Endocrinol.* 2003 Oct;149(4):273-85. doi: 10.1530/eje.0.1490273. PMID: 14514341.

9. Bovio S, Cataldi A, Reimondo G, Sperone P, Novello S, Berruti A, Borasio P, Fava C, Dogliotti L, Scagliotti GV, Angeli A, Terzolo M. Prevalence of adrenal incidentaloma in a contemporary computerized tomography series. *J Endocrinol Invest*. 2006 Apr;29(4):298-302. doi: 10.1007/BF03344099. PMID: 16699294.
10. Song JH, Chaudhry FS, Mayo-Smith WW. The incidental adrenal mass on CT: prevalence of adrenal disease in 1,049 consecutive adrenal masses in patients with no known malignancy. *AJR Am J Roentgenol*. 2008 May;190(5):1163-8. doi: 10.2214/AJR.07.2799. PMID: 18430826.
11. Keevil BG. Improving the Dexamethasone Suppression Test. *Clin Chem*. 2021 Jul 6;67(7):929-931. doi: 10.1093/clinchem/hvab076. PMID: 34125167.
12. Lynnette K. Nieman, Beverly M. K. Biller, James W. Findling, John Newell-Price, Martin O. Savage, Paul M. Stewart, Victor M. Montori, The Diagnosis of Cushing's Syndrome: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Volume 93, Issue 5, 1 May 2008, Pages 1526–1540, <https://doi.org/10.1210/jc.2008-0125>
13. Arnaldi G, Angeli A, Atkinson AB, Bertagna X, Cavagnini F, Chrousos GP, Fava GA, Findling JW, Gaillard RC, Grossman AB, Kola B, Lacroix A, Mancini T, Mantero F, Newell-Price J, Nieman LK, Sonino N, Vance ML, Giustina A, Boscaro M. Diagnosis and complications of Cushing's syndrome: a consensus statement. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003 Dec;88(12):5593-602. doi: 10.1210/jc.2003-030871. PMID: 14671138.
14. Biller BM, Grossman AB, Stewart PM, Melmed S, Bertagna X, Bertherat J, Buchfelder M, Colao A, Hermus AR, Hofland LJ, Klibanski A, Lacroix A, Lindsay JR, Newell-Price J, Nieman LK, Petersenn S, Sonino N, Stalla GK, Swearingen B, Vance ML, Wass JA, Boscaro M. Treatment of adrenocorticotropin-dependent Cushing's syndrome: a consensus statement. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008 Jul;93(7):2454-62. doi: 10.1210/jc.2007-2734. Epub 2008 Apr 15. PMID: 18413427; PMCID: PMC3214276.
15. Newell-Price J, Bertagna X, Grossman AB, Nieman LK. Cushing's syndrome. *Lancet*. 2006 May 13;367(9522):1605-17. doi: 10.1016/S0140-6736(06)68699-6. PMID: 16698415.
16. Lindholm J, Juul S, Jørgensen JO, Astrup J, Bjerre P, Feldt-Rasmussen U, Hagen C, Jørgensen J, Kosteljanetz M, Kristensen L, Laurberg P, Schmidt K, Weeke J. Incidence and late prognosis of Cushing's syndrome: a population-based study. *J Clin Endocrinol*

- Metab. 2001 Jan;86(1):117-23. doi: 10.1210/jcem.86.1.7093. PMID: 11231987.
17. Steffensen C, Bak AM, Rubeck KZ, Jørgensen JO. Epidemiology of Cushing's syndrome. *Neuroendocrinology*. 2010;92 Suppl 1:1-5. doi: 10.1159/000314297. Epub 2010 Sep 10. PMID: 20829610.
  18. Bolland MJ, Holdaway IM, Berkeley JE, Lim S, Dransfield WJ, Conaglen JV, Croxson MS, Gamble GD, Hunt PJ, Toomath RJ. Mortality and morbidity in Cushing's syndrome in New Zealand. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011 Oct;75(4):436-42. doi: 10.1111/j.1365-2265.2011.04124.x. Erratum in: *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2020 Jul;93(1): PMID: 21609352.
  19. Valassi E, Santos A, Yaneva M, Tóth M, Strasburger CJ, Chanson P, Wass JA, Chabre O, Pfeifer M, Feelders RA, Tsagarakis S, Trainer PJ, Franz H, Zopf K, Zacharieva S, Lamberts SW, Tabarin A, Webb SM; ERCUSYN Study Group. The European Registry on Cushing's syndrome: 2-year experience. Baseline demographic and clinical characteristics. *Eur J Endocrinol*. 2011 Sep;165(3):383-92. doi: 10.1530/EJE-11-0272. Epub 2011 Jun 29. PMID: 21715416.
  20. Terzolo M, Reimondo G, Chiodini I, Castello R, Giordano R, Ciccarelli E, Limone P, Crivellaro C, Martinelli I, Montini M, Disoteco O, Ambrosi B, Lanzi R, Arosio M, Senni S, Balestrieri A, Solaroli E, Madeo B, De Giovanni R, Strollo F, Battista R, Scorsone A, Giagulli VA, Collura D, Scillitani A, Cozzi R, Faustini-Fustini M, Pia A, Rinaldi R, Allasino B, Peraga G, Tassone F, Garofalo P, Papini E, Borretta G. Screening of Cushing's syndrome in outpatients with type 2 diabetes: results of a prospective multicentric study in Italy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 Oct;97(10):3467-75. doi: 10.1210/jc.2012-1323. Epub 2012 Jul 5. PMID: 22767639.
  21. Tabarin A, Perez P. Pros and cons of screening for occult Cushing syndrome. *Nat Rev Endocrinol*. 2011 Mar 22;7(8):445-55. doi: 10.1038/nrendo.2011.51. PMID: 21423244.
  22. Chiodini I, Mascia ML, Muscarella S, Battista C, Minisola S, Arosio M, Santini SA, Guglielmi G, Carnevale V, Scillitani A. Subclinical hypercortisolism among outpatients referred for osteoporosis. *Ann Intern Med*. 2007 Oct 16;147(8):541-8. doi: 10.7326/0003-4819-147-8-200710160-00006. PMID: 17938392.
  23. Krarup T, Krarup T, Hagen C. Do patients with type 2 diabetes mellitus have an increased prevalence of Cushing's syndrome? *Diabetes Metab Res Rev*. 2012 Mar;28(3):219-27. doi: 10.1002/dmrr.2262. PMID: 22162117.

24. Juszczak A, Morris D, Grossman A. Cushing's Syndrome. [Updated 2021 Jan 5]. In: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, et al., editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279088/>
25. Nieman LK. Cushing's syndrome: update on signs, symptoms and biochemical screening. *Eur J Endocrinol*. 2015 Oct;173(4):M33-8. doi: 10.1530/EJE-15-0464. Epub 2015 Jul 8. PMID: 26156970; PMCID: PMC4553096.
26. Nieman LK, Biller BM, Findling JW, Newell-Price J, Savage MO, Stewart PM, Montori VM. The diagnosis of Cushing's syndrome: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008 May;93(5):1526-40. doi: 10.1210/jc.2008-0125. Epub 2008 Mar 11. PMID: 18334580; PMCID: PMC2386281.
27. Ross EJ, Linch DC. Cushing's syndrome--killing disease: discriminatory value of signs and symptoms aiding early diagnosis. *Lancet*. 1982 Sep 18;2(8299):646-9. doi: 10.1016/s0140-6736(82)92749-0. PMID: 6125785.
28. Wajchenberg BL, Bosco A, Marone MM, Levin S, Rocha M, Lerário AC, Nery M, Goldman J, Liberman B. Estimation of body fat and lean tissue distribution by dual energy X-ray absorptiometry and abdominal body fat evaluation by computed tomography in Cushing's disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995 Sep;80(9):2791-4. doi: 10.1210/jcem.80.9.7673425. PMID: 7673425.
29. Koch CA, Doppman JL, Watson JC, Patronas NJ, Nieman LK. Spinal epidural lipomatosis in a patient with the ectopic corticotropin syndrome. *N Engl J Med*. 1999 Oct 28;341(18):1399-400. doi: 10.1056/NEJM199910283411814. PMID: 10577094.
30. Panzer SW, Patrinely JR, Wilson HK. Exophthalmos and iatrogenic Cushing's syndrome. *Ophthalmic Plast Reconstr Surg*. 1994 Dec;10(4):278-82. doi: 10.1097/00002341-199412000-00012. PMID: 7865451.
31. Baid SK, Rubino D, Sinaii N, Ramsey S, Frank A, Nieman LK. Specificity of screening tests for Cushing's syndrome in an overweight and obese population. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009 Oct;94(10):3857-64. doi: 10.1210/jc.2008-2766. Epub 2009 Jul 14. PMID: 19602562; PMCID: PMC2758724.
32. Newell-Price J, Trainer P, Besser M, Grossman A. The diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome and pseudo-Cushing's

- states. *Endocr Rev.* 1998 Oct;19(5):647-72. doi: 10.1210/edrv.19.5.0346. PMID: 9793762.
33. Kaltsas G, Manetti L, Grossman AB. Osteoporosis in Cushing's syndrome. *Front Horm Res.* 2002;30:60-72. doi: 10.1159/000061073. PMID: 11892271.
34. Ilias I, Milionis C, Zoumakis E. An Overview of Glucocorticoid-Induced Osteoporosis. 2022 Mar 19. In: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, Boyce A, Chrousos G, Corpas E, de Herder WW, Dhatariya K, Dungan K, Hofland J, Kalra S, Kaltsas G, Kapoor N, Koch C, Kopp P, Korbonits M, Kovacs CS, Kuohung W, Laferrère B, Levy M, McGee EA, McLachlan R, New M, Purnell J, Sahay R, Shah AS, Singer F, Sperling MA, Stratakis CA, Trencé DL, Wilson DP, editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. PMID: 25905202.
35. Canalis E. Clinical review 83: Mechanisms of glucocorticoid action in bone: implications to glucocorticoid-induced osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996 Oct;81(10):3441-7. doi: 10.1210/jcem.81.10.8855781. PMID: 8855781.
36. Wajchenberg BL, Mendonca BB, Liberman B, Pereira MA, Carneiro PC, Wakamatsu A, Kirschner MA. Ectopic adrenocorticotrophic hormone syndrome. *Endocr Rev.* 1994 Dec;15(6):752-87. doi: 10.1210/edrv-15-6-752. Erratum in: *Endocr Rev* 1995 Aug;16(4):507. PMID: 7705280.
37. Lado-Abeal J, Rodriguez-Arno J, Newell-Price JD, Perry LA, Grossman AB, Besser GM, Trainer PJ. Menstrual abnormalities in women with Cushing's disease are correlated with hypercortisolemia rather than raised circulating androgen levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998 Sep;83(9):3083-8. doi: 10.1210/jcem.83.9.5084. PMID: 9745407.
38. Biering H, Knappe G, Gerl H, Lochs H. Diabetes-Häufigkeit bei Akromegalie und Cushing-Syndrom [Prevalence of diabetes in acromegaly and Cushing syndrome]. *Acta Med Austriaca.* 2000;27(1):27-31. German. doi: 10.1046/j.1563-2571.2000.200106.x. PMID: 10812460.
39. Feingold KR. Atypical Forms of Diabetes. 2022 Feb 24. In: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, Boyce A, Chrousos G, Corpas E, de Herder WW, Dhatariya K, Dungan K, Hofland J, Kalra S, Kaltsas G, Kapoor N, Koch C, Kopp P, Korbonits M, Kovacs CS, Kuohung W, Laferrère B, Levy M, McGee EA, McLachlan R, New M, Purnell J, Sahay R, Shah AS, Singer F, Sperling MA, Stratakis CA, Trencé DL,

- Wilson DP, editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. PMID: 25905351.
40. Feingold KR. The Effect of Endocrine Disorders on Lipids and Lipoproteins. 2023 Apr 6. In: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, Boyce A, Chrousos G, Corpas E, de Herder WW, Dhatariya K, Dungan K, Hofland J, Kalra S, Kaltsas G, Kapoor N, Koch C, Kopp P, Korbonits M, Kovacs CS, Kuohung W, Laferrère B, Levy M, McGee EA, McLachlan R, New M, Purnell J, Sahay R, Shah AS, Singer F, Sperling MA, Stratakis CA, Trencé DL, Wilson DP, editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. PMID: 28121116.
  41. Arnaldi G, Scandali VM, Trementino L, Cardinaletti M, Appolloni G, Boscaro M. Pathophysiology of dyslipidemia in Cushing's syndrome. *Neuroendocrinology*. 2010;92 Suppl 1:86-90. doi: 10.1159/000314213. Epub 2010 Sep 10. PMID: 20829625.
  42. Kelly WF. Psychiatric aspects of Cushing's syndrome. *QJM*. 1996 Jul;89(7):543-51. doi: 10.1093/qjmed/89.7.543. PMID: 8759496.
  43. Santos A, Resmini E, Pascual JC, Crespo I, Webb SM. Psychiatric Symptoms in Patients with Cushing's Syndrome: Prevalence, Diagnosis and Management. *Drugs*. 2017 May;77(8):829-842. doi: 10.1007/s40265-017-0735-z. PMID: 28393326.
  44. Fallo F, Maffei P, Dalla Pozza A, Carli M, Della Mea P, Lupia M, Rabbia F, Sonino N. Cardiovascular autonomic function in Cushing's syndrome. *J Endocrinol Invest*. 2009 Jan;32(1):41-5. doi: 10.1007/BF03345677. PMID: 19337014.
  45. Akaza I, Yoshimoto T, Tsuchiya K, Hirata Y. Endothelial dysfunction associated with hypercortisolism is reversible in Cushing's syndrome. *Endocr J*. 2010;57(3):245-52. doi: 10.1507/endocrj.k09e-260. Epub 2009 Dec 20. PMID: 20023367.
  46. Takagi S, Tanabe A, Tsuiki M, Naruse M, Takano K. Hypokalemia, diabetes mellitus, and hypercortisolemia are the major contributing factors to cardiac dysfunction in adrenal Cushing's syndrome. *Endocr J*. 2009;56(8):1009-18. doi: 10.1507/endocrj.k09e-198. Epub 2009 Sep 29. PMID: 19789419.
  47. Colao A, Pivonello R, Spiezia S, Faggiano A, Ferone D, Filippella M, Marzullo P, Cerbone G, Siciliani M, Lombardi G. Persistence of increased cardiovascular risk in patients with Cushing's disease after five years of successful cure. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999 Aug;84(8):2664-72. doi: 10.1210/jcem.84.8.5896. PMID: 10443657.

48. Terzolo M, Bovio S, Reimondo G, Pia A, Osella G, Borretta G, Angeli A. Subclinical Cushing's syndrome in adrenal incidentalomas. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2005 Jun;34(2):423-39, x. doi: 10.1016/j.ecl.2005.01.008. PMID: 15850851.
49. Reincke M. Subclinical Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2000 Mar;29(1):43-56. doi: 10.1016/s0889-8529(05)70115-8. PMID: 10732263.
50. Terzolo M, Reimondo G, Bovio S, Angeli A. Subclinical Cushing's syndrome. *Pituitary.* 2004;7(4):217-23. doi: 10.1007/s11102-005-4024-6. PMID: 16132200.
51. Young WF Jr. Management approaches to adrenal incidentalomas. A view from Rochester, Minnesota. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2000 Mar;29(1):159-85, x. doi: 10.1016/s0889-8529(05)70122-5. PMID: 10732270.
52. Barzon L, Scaroni C, Sonino N, Fallo F, Paoletta A, Boscaro M. Risk factors and long-term follow-up of adrenal incidentalomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999 Feb;84(2):520-6. doi: 10.1210/jcem.84.2.5444. PMID: 10022410.
53. Terzolo M, Pia A, Ali A, Osella G, Reimondo G, Bovio S, Daffara F, Procopio M, Paccotti P, Borretta G, Angeli A. Adrenal incidentaloma: a new cause of the metabolic syndrome? *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Mar;87(3):998-1003. doi: 10.1210/jcem.87.3.8277. PMID: 11889151.
54. Garrapa GG, Pantanetti P, Arnaldi G, Mantero F, Faloia E. Body composition and metabolic features in women with adrenal incidentaloma or Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Nov;86(11):5301-6. doi: 10.1210/jcem.86.11.8059. PMID: 11701696.
55. Tauchmanová L, Rossi R, Biondi B, Pulcrano M, Nuzzo V, Palmieri EA, Fazio S, Lombardi G. Patients with subclinical Cushing's syndrome due to adrenal adenoma have increased cardiovascular risk. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Nov;87(11):4872-8. doi: 10.1210/jc.2001-011766. PMID: 12414841.
56. Rossi R, Tauchmanova L, Luciano A, Di Martino M, Battista C, Del Viscovo L, Nuzzo V, Lombardi G. Subclinical Cushing's syndrome in patients with adrenal incidentaloma: clinical and biochemical features. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000 Apr;85(4):1440-8. doi: 10.1210/jcem.85.4.6515. PMID: 10770179.

57. Chiodini I, Guglielmi G, Battista C, Carnevale V, Torlontano M, Cammisa M, Trischitta V, Scillitani A. Spinal volumetric bone mineral density and vertebral fractures in female patients with adrenal incidentalomas: the effects of subclinical hypercortisolism and gonadal status. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 May;89(5):2237-41. doi: 10.1210/jc.2003-031413. PMID: 15126547.
58. Chiodini I, Viti R, Coletti F, Guglielmi G, Battista C, Ermetici F, Morelli V, Salcuni A, Carnevale V, Urbano F, Muscarella S, Ambrosi B, Arosio M, Beck-Peccoz P, Scillitani A. Eugonadal male patients with adrenal incidentalomas and subclinical hypercortisolism have increased rate of vertebral fractures. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2009 Feb;70(2):208-13. doi: 10.1111/j.1365-2265.2008.03310.x. Epub 2008 Jun 10. PMID: 18547342.
59. Chiodini I, Morelli V, Masserini B, Salcuni AS, Eller-Vainicher C, Viti R, Coletti F, Guglielmi G, Battista C, Carnevale V, Iorio L, Beck-Peccoz P, Arosio M, Ambrosi B, Scillitani A. Bone mineral density, prevalence of vertebral fractures, and bone quality in patients with adrenal incidentalomas with and without subclinical hypercortisolism: an Italian multicenter study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Sep;94(9):3207-14. doi: 10.1210/jc.2009-0468. Epub 2009 Jun 23. PMID: 19549741.
60. Chiodini I, Diagnosis and Treatment of Subclinical Hypercortisolism, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Volume 96, Issue 5, 1 May 2011, Pages 1223–1236, <https://doi.org/10.1210/jc.2010-2722>
61. Terzolo M, Bovio S, Pia A, Conton PA, Reimondo G, Dall'Asta C, Bemporad D, Angeli A, Opocher G, Mannelli M, Ambrosi B, Mantero F. Midnight serum cortisol as a marker of increased cardiovascular risk in patients with a clinically inapparent adrenal adenoma. *Eur J Endocrinol.* 2005 Aug;153(2):307-15. doi: 10.1530/eje.1.01959. PMID: 16061838.
62. Delivanis DA, Athimulam S, Bancos I. Modern Management of Mild Autonomous Cortisol Secretion. *Clin Pharmacol Ther.* 2019 Dec;106(6):1209-1221. doi: 10.1002/cpt.1551. Epub 2019 Aug 6. PMID: 31206616.
63. Tsagarakis S, Vassiliadi D, Thalassinou N. Endogenous subclinical hypercortisolism: Diagnostic uncertainties and clinical implications. *J Endocrinol Invest.* 2006 May;29(5):471-82. doi: 10.1007/BF03344133. PMID: 16794373.

64. Valassi E, Swearingen B, Lee H, Nachtigall LB, Donoho DA, Klibanski A, Biller BM. Concomitant medication use can confound interpretation of the combined dexamethasone-corticotropin releasing hormone test in Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Dec;94(12):4851-9. doi: 10.1210/jc.2009-1500. Epub 2009 Oct 22. PMID: 19850679; PMCID: PMC2795659.
65. van Rossum EF, Russcher H, Lamberts SW. Genetic polymorphisms and multifactorial diseases: facts and fallacies revealed by the glucocorticoid receptor gene. *Trends Endocrinol Metab.* 2005 Dec;16(10):445-50. doi: 10.1016/j.tem.2005.10.009. Epub 2005 Nov 4. PMID: 16275120.
66. Manenschijn L, van den Akker EL, Lamberts SW, van Rossum EF. Clinical features associated with glucocorticoid receptor polymorphisms. An overview. *Ann N Y Acad Sci.* 2009 Oct;1179:179-98. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.05013.x. PMID: 19906240.
67. Szappanos A, Patócs A, Tőke J, Boyle B, Sereg M, Majnik J, Borgulya G, Varga I, Likó I, Rácz K, Tóth M. BclI polymorphism of the glucocorticoid receptor gene is associated with decreased bone mineral density in patients with endogenous hypercortisolism. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2009 Nov;71(5):636-43. doi: 10.1111/j.1365-2265.2009.03528.x. Epub 2009 Jan 22. PMID: 19207316.
68. Morelli V, Donadio F, Eller-Vainicher C, Cirello V, Olgiati L, Savoca C, Cairoli E, Salcuni AS, Beck-Peccoz P, Chiodini I. Role of glucocorticoid receptor polymorphism in adrenal incidentalomas. *Eur J Clin Invest.* 2010 Sep;40(9):803-11. doi: 10.1111/j.1365-2362.2010.02330.x. Epub 2010 Jun 23. PMID: 20584071.
69. Tomlinson JW, Walker EA, Bujalska IJ, Draper N, Lavery GG, Cooper MS, Hewison M, Stewart PM. 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1: a tissue-specific regulator of glucocorticoid response. *Endocr Rev.* 2004 Oct;25(5):831-66. doi: 10.1210/er.2003-0031. PMID: 15466942.
70. Hwang JY, Lee SH, Kim GS, Koh JM, Go MJ, Kim YJ, Kim HC, Kim TH, Hong JM, Park EK, Lee JY, Kim SY. HSD11B1 polymorphisms predicted bone mineral density and fracture risk in postmenopausal women without a clinically apparent hypercortisolemia. *Bone.* 2009 Dec;45(6):1098-103. doi: 10.1016/j.bone.2009.07.080. Epub 2009 Aug 6. PMID: 19651257.
71. Fassnacht M, Tsagarakis S, Terzolo M, Tabarin A, Sahdev A, Newell-Price J, Pelsma I, Marina L, Lorenz K, Bancos I, Arlt W, Dekkers OM. European Society of Endocrinology clinical practice

- guidelines on the management of adrenal incidentalomas, in collaboration with the European Network for the Study of Adrenal Tumors. *Eur J Endocrinol.* 2023 Jul 20;189(1):G1-G42. doi: 10.1093/ejendo/lvad066. PMID: 37318239.
72. Mansmann G, Lau J, Balk E, Rothberg M, Miyachi Y, Bornstein SR. The clinically inapparent adrenal mass: update in diagnosis and management. *Endocr Rev.* 2004 Apr;25(2):309-40. doi: 10.1210/er.2002-0031. PMID: 15082524.
73. Debono M, Newell-Price J. Subclinical hypercortisolism in adrenal incidentaloma. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2015 Jun;22(3):185-92. doi: 10.1097/MED.000000000000151. PMID: 25871961.
74. Fassnacht M, Arlt W, Bancos I, Dralle H, Newell-Price J, Sahdev A, Tabarin A, Terzolo M, Tsagarakis S, Dekkers OM. Management of adrenal incidentalomas: European Society of Endocrinology Clinical Practice Guideline in collaboration with the European Network for the Study of Adrenal Tumors. *Eur J Endocrinol.* 2016 Aug;175(2):G1-G34. doi: 10.1530/EJE-16-0467. PMID: 27390021.
75. Debono M, Chadarevian R, Eastell R, Ross RJ, Newell-Price J. Mifepristone reduces insulin resistance in patient volunteers with adrenal incidentalomas that secrete low levels of cortisol: a pilot study. *PLoS One.* 2013;8(4):e60984. doi: 10.1371/journal.pone.0060984. Epub 2013 Apr 5. PMID: 23577182; PMCID: PMC3618218.
76. Fleseriu M, Biller BM, Findling JW, Molitch ME, Scheingart DE, Gross C; SEISMIC Study Investigators. Mifepristone, a glucocorticoid receptor antagonist, produces clinical and metabolic benefits in patients with Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 Jun;97(6):2039-49. doi: 10.1210/jc.2011-3350. Epub 2012 Mar 30. PMID: 22466348.
77. Daniel E, Aylwin S, Mustafa O, Ball S, Munir A, Boelaert K, Chortis V, Cuthbertson DJ, Daousi C, Rajeev SP, Davis J, Cheer K, Drake W, Gunganah K, Grossman A, Gurnell M, Powlson AS, Karavitaki N, Huguet I, Kearney T, Mohit K, Meeran K, Hill N, Rees A, Lansdown AJ, Trainer PJ, Minder AE, Newell-Price J. Effectiveness of Metyrapone in Treating Cushing's Syndrome: A Retrospective Multicenter Study in 195 Patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 Nov;100(11):4146-54. doi: 10.1210/jc.2015-2616. Epub 2015 Sep 9. PMID: 26353009; PMCID: PMC5393433.
78. Chifu I, Detomas M, Dischinger U, Kimpel O, Megerle F, Hahner S, Fassnacht M, Altieri B. Management of Patients With

- Glucocorticoid-Related Diseases and COVID-19. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021 Sep 14;12:705214. doi: 10.3389/fendo.2021.705214. PMID: 34594302; PMCID: PMC8476969.
79. Masri-Iraqi H, Robenshtok E, Tzvetov G, Manistersky Y, Shimon I. Elevated white blood cell counts in Cushing's disease: association with hypercortisolism. *Pituitary*. 2014 Oct;17(5):436-40. doi: 10.1007/s11102-013-0522-0. PMID: 24078318.
80. Pivonello R, Isidori AM, De Martino MC, Newell-Price J, Biller BM, Colao A. Complications of Cushing's syndrome: state of the art. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2016 Jul;4(7):611-29. doi: 10.1016/S2213-8587(16)00086-3. Epub 2016 May 10. PMID: 27177728.
81. Ambrogio AG, De Martin M, Ascoli P, Cavagnini F, Pecori Giraldi F. Gender-dependent changes in haematological parameters in patients with Cushing's disease before and after remission. *Eur J Endocrinol*. 2014 Feb 4;170(3):393-400. doi: 10.1530/EJE-13-0824. PMID: 24362410.
82. Hasenmajer V, Sbardella E, Sciarra F, Minnetti M, Isidori AM, Venneri MA. The Immune System in Cushing's Syndrome. *Trends Endocrinol Metab*. 2020 Sep;31(9):655-669. doi: 10.1016/j.tem.2020.04.004. Epub 2020 May 6. PMID: 32387195.
83. Rhen T, Cidlowski JA. Antiinflammatory action of glucocorticoids--new mechanisms for old drugs. *N Engl J Med*. 2005 Oct 20;353(16):1711-23. doi: 10.1056/NEJMra050541. PMID: 16236742.
84. Nakagawa M, Terashima T, D'yachkova Y, Bondy GP, Hogg JC, van Eeden SF. Glucocorticoid-induced granulocytosis: contribution of marrow release and demargination of intravascular granulocytes. *Circulation*. 1998 Nov 24;98(21):2307-13. doi: 10.1161/01.cir.98.21.2307. PMID: 9826319.
85. Cox G. Glucocorticoid treatment inhibits apoptosis in human neutrophils. Separation of survival and activation outcomes. *J Immunol*. 1995 May 1;154(9):4719-25. PMID: 7722324.
86. Dale DC, Fauci AS, Wolff SM. Alternate-day prednisone. Leukocyte kinetics and susceptibility to infections. *N Engl J Med*. 1974 Nov 28;291(22):1154-8. doi: 10.1056/NEJM197411282912203. PMID: 4609038.

87. Mishler JM, Emerson PM. Development of Neutrophilia by serially increasing doses of dexamethasone. *Br J Haematol.* 1977 Jun;36(2):249-57. doi: 10.1111/j.1365-2141.1977.tb00646.x. PMID: 871436.
88. Detomas M, Altieri B, Chifu I, Remde H, Zhou X, Landwehr LS, Sbiera S, Kroiss M, Fassnacht M, Deutschbein T. Subtype-specific pattern of white blood cell differential in endogenous hypercortisolism. *Eur J Endocrinol.* 2022 Jul 29;187(3):439-449. doi: 10.1530/EJE-22-0211. PMID: 35900357.
89. Favero V, Prete A, Mangone A, Elhassan YS, Pucino V, Asia M, Hardy R, Chiodini I, Ronchi CL. Inflammation-based scores in benign adrenocortical tumours are linked to the degree of cortisol excess: a retrospective single-centre study. *Eur J Endocrinol.* 2023 Nov 8;189(5):517-526. doi: 10.1093/ejendo/lvad151. PMID: 37962923.
90. Kroon J, Pereira AM, Meijer OC. Glucocorticoid Sexual Dimorphism in Metabolism: Dissecting the Role of Sex Hormones. *Trends Endocrinol Metab.* 2020 May;31(5):357-367. doi: 10.1016/j.tem.2020.01.010. Epub 2020 Feb 6. PMID: 32037025.
91. Bauer A, Tronche F, Wessely O, Kellendonk C, Reichardt HM, Steinlein P, Schütz G, Beug H. The glucocorticoid receptor is required for stress erythropoiesis. *Genes Dev.* 1999 Nov 15;13(22):2996-3002. doi: 10.1101/gad.13.22.2996. PMID: 10580006; PMCID: PMC317156.
92. Hattangadi SM, Wong P, Zhang L, Flygare J, Lodish HF. From stem cell to red cell: regulation of erythropoiesis at multiple levels by multiple proteins, RNAs, and chromatin modifications. *Blood.* 2011 Dec 8;118(24):6258-68. doi: 10.1182/blood-2011-07-356006. Epub 2011 Oct 12. PMID: 21998215; PMCID: PMC3236116.
93. Varricchio L, Geer EB, Martelli F, Mazzarini M, Funnell A, Bieker JJ, Papayannopoulou T, Migliaccio AR. Patients with hypercortisolemic Cushing disease possess a distinct class of hematopoietic progenitor cells leading to erythrocytosis. *Haematologica.* 2023 Apr 1;108(4):1053-1067. doi: 10.3324/haematol.2021.280542. PMID: 35861015; PMCID: PMC10071118.
94. Higgins JM. Red blood cell population dynamics. *Clin Lab Med.* 2015 Mar;35(1):43-57. doi: 10.1016/j.cll.2014.10.002. Epub 2014 Dec 18. PMID: 25676371; PMCID: PMC4717490.

95. Paulson RF, Hariharan S, Little JA. Stress erythropoiesis: definitions and models for its study. *Exp Hematol*. 2020 Sep;89:43-54.e2. doi: 10.1016/j.exphem.2020.07.011. Epub 2020 Aug 2. PMID: 32750404; PMCID: PMC7508762.
96. BAEZ-VILLASENOR J, RATH CE, FINCH CA. The blood picture in Addison's disease. *Blood*. 1948 Jul;3(7):769-73. PMID: 18869767.
97. GURSOY A, DOGRUK UNAL A, AYTURK S, KARAKUS S, NUR IZOL A, BASCIL TUTUNCU N, GUVENER DEMIRAG N. Polycythemia as the first manifestation of Cushing's disease. *J Endocrinol Invest*. 2006 Sep;29(8):742-4. doi: 10.1007/BF03344186. PMID: 17033265.
98. DUSEK T, KASTELAN D, SOLAK M, BASIC KINDA S, AGANOVIC I, KORSIC M. Polycythemia as the first manifestation of Cushing's disease. *J Endocrinol Invest*. 2008 Oct;31(10):940. doi: 10.1007/BF03346446. PMID: 19092303.
99. DETOMAS M, DEUTSCHBEIN T, TAMBURELLO M, CHIFU I, KIMPEL O, SBIERA S, KROISS M, FASSNACHT M, ALTIERI B. Erythropoiesis in Cushing syndrome: sex-related and subtype-specific differences. Results from a monocentric study. *J Endocrinol Invest*. 2024 Jan;47(1):101-113. doi: 10.1007/s40618-023-02128-x. Epub 2023 Jun 14. PMID: 37314685; PMCID: PMC10776705.
100. Barbui T, Carobbio A, Rumi E, Finazzi G, Gisslinger H, Rodeghiero F, Randi ML, Rambaldi A, Gisslinger B, Pieri L, Bertozzi I, Casetti I, Pardanani A, Passamonti F, Vannucchi AM, Tefferi A. In contemporary patients with polycythemia vera, rates of thrombosis and risk factors delineate a new clinical epidemiology. *Blood*. 2014 Nov 6;124(19):3021-3. doi: 10.1182/blood-2014-07-591610. PMID: 25377561.
101. Papadakis GE, de Kalbermatten B, Dormoy A, Salenave S, Trabado S, Vieira-Pinto O, Richa C, Kamenicky P, Chanson P, Maione L, Pitteloud N, Young J. Impact of Cushing's syndrome on the gonadotrope axis and testicular functions in men. *Hum Reprod*. 2023 Dec 4;38(12):2350-2361. doi: 10.1093/humrep/dead187. PMID: 37742130.
102. Rockall AG, Sohaib SA, Evans D, Kaltsas G, Isidori AM, Monson JP, Besser GM, Grossman AB, Reznick RH. Hepatic steatosis in Cushing's syndrome: a radiological assessment using computed tomography. *Eur J Endocrinol*. 2003 Dec;149(6):543-8. doi: 10.1530/eje.0.1490543. PMID: 14640995.

103. Maruyama S, Hirayama C, Yamamoto S, Koda M, Udagawa A, Kadowaki Y, Inoue M, Sagayama A, Umeki K. Red blood cell status in alcoholic and non-alcoholic liver disease. *J Lab Clin Med.* 2001 Nov;138(5):332-7. doi: 10.1067/mlc.2001.119106. PMID: 11709657.
  
104. Tudurachi B-S, Anghel L, Tudurachi A, Sascău RA, Stătescu C. Assessment of Inflammatory Hematological Ratios (NLR, PLR, MLR, LMR and Monocyte/HDL–Cholesterol Ratio) in Acute Myocardial Infarction and Particularities in Young Patients. *International Journal of Molecular Sciences.* 2023; 24(18):14378. <https://doi.org/10.3390/ijms241814378>

## **RINGRAZIAMENTI**

---

Ringrazio Giulia, la specializzanda di endocrinologia, senza il cui prezioso e generoso aiuto non sarei stato in grado di portare avanti con successo il mio progetto di tesi; un grazie anche a tutti i ragazzi del reparto di Endocrinologia e a Stefano, sempre disponibili a condividere spazi, suggerimenti e per fornire sostegno morale.

Ringrazio poi i miei genitori, che in questi sei anni da fuorisede hanno rappresentato ogni giorno un punto di riferimento fondamentale, e che mi hanno sostenuto sempre e comunque, specialmente quando più la vita universitaria e la distanza mi hanno messo alla prova, emotivamente e fisicamente.

Ringrazio i miei amici del Collegio Mazza, che hanno reso unica questa mia esperienza padovana e che hanno rappresentato per me una vera e propria seconda famiglia: per voi e per tutte le avventure passate insieme, riavvolgerei il tempo solo per rivivere le emozioni, le sensazioni e le esperienze incredibili che abbiamo condiviso; la vita in collegio e la quotidianità con tutti voi sono le cose che più in assoluto mi mancheranno al termine di questo percorso e spero di non perdervi mai.

Ringrazio Francesca, con la quale abbiamo affrontato insieme una distanza durata anni senza mai demordere, sostenendoci a vicenda; sei stata un punto di riferimento importante e ci sei sempre stata nei momenti più difficili, quando non riuscivo a vedere una via d'uscita. Ti ringrazio per aver deciso di scegliermi ogni giorno e restare al mio fianco, e spero che questo traguardo di oggi sia l'inizio di una lunga serie di avventure da vivere insieme.

Infine, grazie a tutti coloro che sono qui oggi e a tutte le persone che mi hanno accompagnato in questi sei anni.