



# Diagnostic pitfalls of adrenal incidentaloma

Ewa Cyrańska-Chyrek<sup>1</sup>, Małgorzata Grzymisławska<sup>2</sup>, Marek Ruchała<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Endocrinology, Metabolism, and Internal Medicine, University of Medical Sciences, Poznan, Poland

<sup>2</sup>Department of Anatomy, University of Medical Sciences, Poznan, Poland

## Abstract

Adrenal incidentaloma (AI) includes all lesions with diameter  $\geq 1$  cm found incidentally during imaging examinations not associated with suspected adrenal pathology. Every adrenal incidentaloma requires a detailed hormonal and imaging assessment. Initial diagnosis includes radiological phenotypical evaluation (particularly in CT, or in case of contraindications — in MRI) and biochemical assessment of tumour hormonal activity (which includes cortisol circadian rhythm, salivary cortisol concentration, 24-hour urinary free-cortisol and metanephrines test, short cortisol and dexamethasone suppression test, ACTH level assessment, aldosterone and ARO concentration, adrenal androgen concentration). Each diagnostic step is associated with limitations and method imperfections. The influence of administered medications, age and concomitant diseases must be taken into account when interpreting test results. It is important to remember abovementioned factors may cause false positive or false negative test results. The following paper is to summarize the etiology of the most common diagnostic mishaps which frequently lead to misdiagnoses, an increase in patient's anxiety and, as a consequence, in the introduction of improper therapy or its discontinuation. The awareness of biochemical and imaging test limitations, and the knowledge of false positive and false negative result sources, allows for the optimisation of the diagnostic process. Simultaneously, the analyzed factors may contribute to a decrease in unnecessary and frequently repeated tests. Additionally, it may imply avoiding the costs of unjustified deep diagnostics.

Endokrynol Pol 2017; 68 (3): 360–368

**Key words:** adrenal adenoma; incidentaloma; hormonal diagnostics; false positive results

## Introduction

Adrenal incidentaloma (AI) includes all lesions with diameter  $\geq 1$  cm found incidentally during imaging examinations not associated with suspected adrenal pathology. Due to greater availability of imaging techniques (USG, CT, MRI) and various diagnostic recommendations, a systematic increase in AI detection has been observed worldwide. Adrenal lesion detection during CT examination in oncological patients is estimated at 1.3% [1, 2] and 4% [3]. Furthermore, aging and screening regarding early detection of lung cancer, including chest CT, conducted in Poland, constitute additional factors enhancing this trend.

Every adrenal incidentaloma requires a detailed hormonal and imaging assessment. This results in high hospitalisation and additional examinations fees, as well as patient anxiety. AI diagnosis includes radiological phenotypical evaluation (particularly in CT, or in case of contraindications — in MRI) and biochemical assessment of tumour hormonal activity, which includes cortisol circadian rhythm, salivary cortisol concentration, 24-hour urinary free-cortisol and metanephrines test, short cortisol

dexamethasone suppression test, ACTH level assessment, aldosterone and ARO concentration, and adrenal androgen level.

Each diagnostic step is associated with limitations and method imperfections, which may result in false positive and false negative results. The following paper aims to summarise the aetiology of the most common diagnostic mishaps, which frequently lead to misdiagnoses, an increase patient's anxiety and, as a consequence, the introduction of improper therapy or its discontinuation.

## Adrenal incidentaloma radiological assessment

After CT, **abdominal ultrasonography (USG)** is the most effective method in finding asymptomatic adrenal adenomas. Healthy adrenal glands are not visible in the examination due to their small size. In fact, in adults they do not exceed 2–5 cm, with branches reaching 6–10 mm [4]. It is estimated that ultrasound assessment is effective for tumours of about 3 cm. The sensitivity of the abdominal ultrasound is 76% (lower than CT and MRI), although it has high specificity of 92% [5].



Ewa Cyrańska-Chyrek M.D., Department of Endocrinology, Metabolism, and Internal Medicine, University of Medical Sciences, Przybyszewskiego Str. 49, 60-355 Poznań, phone: 609 725 558, 61 869 13 30, e-mail: ewacyranska@gmail.com

Additionally, sensitivity decreases in the left adrenal gland, in obese patients and in lesions < 2 cm.

What is more, structures imitating adrenal adenomas may appear, also known as pheochromocytomas. Therefore, only CT can verify the USG images with erroneously suspected adrenal lesions. The following disorders may turn out to be the imitating structures: superior renal pole tumour, renal cysts, lymph nodes (bilaterally), on the right-focal liver lesions, hepatic flexure, inferior vena cava dilatation, whereas on the left — accessory spleen, lobular spleen, tail of pancreas, splenic artery aneurysm, and stomach diverticulum.

**Computed tomography (CT)** is the first-line examination in AI diagnosis. The following morphological criteria are analysed: the size, shape, radiation attenuation coefficient (in Hounsfield units [HU]), tumour homogeneity or heterogeneity, and the presence of regressive changes and calcifications. Additionally, tumours smaller than 3 cm are usually benign, whereas those larger than 6 cm are more frequently malignant [6].

The majority of adrenal incidentalomas have a benign imaging phenotype, i.e. their diameter is not larger than 3–4 cm, they have smooth margins, and are characterised by low density, where density  $\leq 10$  HU indicates adenoma or a cyst, while density  $\leq (-) 50$  HU points to myelolipoma (sensitivity 71%, specificity 98% [7]). The malignancy features are polycyclic, blurred margins, non-homogenous structure (including cavitation and calcifications), as well as rapid progression of size (> 6–10 mm per year).

However, lesions with smooth margins (round and oval) may also be malignant, e.g. malignant pheochromocytoma, or small metastases from cancers outside the adrenals. Although calcifications are most common in adrenal cortex cancers, they may also appear in the tubercular lesions and in neuroblastomas [8]. On the other hand, benign pheochromocytomas may constitute a non-homogenous focus, comprising cavitation and calcifications. Hence, pheochromocytoma phenotypic diversity is reflected in the name “imaging chameleon” [9]. Moreover, non-homogenous structure and large size may also constitute features of adrenal adenoma following haemorrhage or a very large myelolipoma lesion.

About 30% of all adrenal adenomas are lipid-poor (with density between 10–30 HU). Frequently, in these cases, single-phase adrenal CT is insufficient for a definitive diagnosis concerning tumour character (adenoma or non-adenoma) and requires two-phase examination with lesion density assessment before (0') and after administration of iodine contrast medium (in the first minute [1'] — enhancement assessment and 10' or 15' washout assessment). In fact, owing to this method it is possible to characterise the tumour

on the basis of an additional parameter, i.e. absolute and relative of water soluble contrast washout (WSC). Furthermore, visualising the potential infiltration of the nearby structures, as well as the presence of metastatic lesions is also possible.

Sangwaiya MJ et al. [10] analysed the imaging results of 323 adrenal adenomas. They concluded that the water soluble contrast washout analysis (with the cut-off point at 40%) reached a sensitivity of 76.9%, specificity of 93.75%, and accuracy of 77.7% in the differentiation between adenomas and other adrenal tumours. Apart from specificity, these values are significantly lower than those presented in the previously published papers (98%, 92%, 98%, respectively) [11, 12].

**Magnetic resonance imaging (MRI)** is the second-line examination, performed when contrast CT is inconclusive in the diagnosis of the adenoma type or in cases of suspected pheochromocytoma. A large amount of lipids suggests a benign lesion. The advantage of this examination is the possibility of detecting even the smallest lipid amounts, consequently allowing differentiation between adenomas and other lesions in 90% of cases.

A retrospect study by Haider MA et al. showed that adrenal adenomas of density > 10 HU (thus, lipid-poor), which had not been classified in the single-phase CT, were correctly diagnosed in the chemical shift MRI in 67% of cases [13].

Another advantage of this method is identifying pheochromocytomas, as they show increased signal intensity in relation to the liver and the spleen (as they are hyperintense) in T2-dependent images. Due to this feature, MRI is crucial in the differentiation between pheochromocytomas and carcinomas. In the literature descriptions of pleomorphic adenomas are available with cortex and adrenal medulla tissue, therefore comprising lipids and simultaneously overproducing catecholamines [14].

Adrenal collision tumours constitute a separate issue because they represent the coexistence of foci of different origin in the adrenal adenoma area [15]. Most commonly, two benign lesions coexist, i.e. adenoma and myelolipoma [16], where metastatic tumours in the adenoma (mainly from lung and breast cancer, or melanoma) are less frequent [17, 18]. However, pheochromocytoma foci have also been found in lipid-rich adenomas.

## Biochemical diagnosis of adrenal incidentalomas

According to the literature, hormonally inactive adenomas constitute 75–80% of AI cases. Among the hormonally active lesions, the most frequently

diagnosed tumours are adrenal cortex carcinomas. They secrete glucocorticoids autonomously and present ACTH-independent or subclinical ACTH-independent Cushing's syndrome (where incidentalomas constitute about 5%). Another 5% of AI cases are pheochromocytomas that overproduce catecholamines. About 1% of adrenal incidentalomas autonomously produces aldosterone (aldosteronoma), which causes hyperaldosteronism, a.k.a. Conn's syndrome. Adrenal cortex carcinomas make up less than 5% of incidentaloma cases, and metastases to the adrenals constitute about 2.5% of AI cases.

According to the indications, in all AI patients, regardless the clinical picture and concomitant diseases, hypercortisolaemia and pheochromocytoma tests are necessary. Diagnosis should also include hyperaldosteronism testing in patients with diagnosed hypertension, which should be obligatory in resistant hypertension cases as well as in patients with history of hypokalaemia episodes [21, 22]. Hormonal diagnosis is not required in lesions with imaging phenotype of cysts or myelolipomas [23].

## ACTH-independent Cushing's syndrome testing

### *Cortisol circadian rhythm assessment*

Cortisol secretion is pulsatile, in a circadian rhythm, as a response to ACTH stimulation. The highest level is reached in the morning, there is a 50% decrease at noon, and the lowest level is estimated late in the evening. Increased cortisol late-night concentration is assumed to be an early symptom of hypercortisolaemia.

Total cortisol serum concentration level may be falsely increased or falsely decreased in certain clinical states, concomitant diseases, and administration of some drugs (Table I).

Due to the possible non-specific late-night cortisol increase, which is stress-induced, cortisol level testing is recommended during or after the second day of hospitalisation. In order to reduce patients' anxiety exacerbating hypercortisolaemia, optimisation of phlebotomy conditions has become more important; thus, the blood drawing time should be shorter and the patient should not be abruptly awoken.

What is more, in cases of concomitant diseases, where catabolic processes and loss of proteins are predominant, falsely decreased results of total cortisol concentration may be obtained.

### *Urinary free-cortisol concentration*

Daily urinary cortisol output reflects plasma free-cortisol concentration. Lower than threefold upper limit of normal may occur in pseudo-Cushing syndrome cases,

**Table I. Factors influencing cortisolaemia**

Falsely increased	Falsely decreased
Psychological and physical strain (serious illness, trauma, surgical procedure)	Hyperthyroidism
Depression and other mental diseases	Liver cirrhosis
Anorexia nervosa; starvation	Nephrotic syndrome
Chronic kidney disease	Critical condition, sepsis
Poorly-controlled diabetes	
3rd degree obesity	
Alcoholism	
Anxiety associated with the first hospitalisation day	
High corticosteroid-binding globulin — CBG (oestrogen influenced, e.g. pregnancy, oestrogen-based medications, hypothyroidism, acute hepatitis, mitotane and tamoxifen therapy)	
Spironolactone — cross reaction	

**Table II. The causes of falsely increased and decreased daily cortisol urinary output**

Falsely increased	Falsely decreased
Synthetic glucocorticoid (cross reaction — discontinuation 3 days prior to examination)	Impairment of glomerular filtration (GFR < 30 mL/min)
Depression	
Alcoholism	
Serious illness, sepsis	
Polydipsia (> 5 l/24 hrs) [26]	
In therapy with carbamazepine, fenofibrate, digoxin	
Administration of beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 (11 $\beta$ -HSD type 2, transforming cortisol into cortisone), such as liquorice, grapefruit juice, carbenoxolone) [29]	

which may be induced by prolonged anxiety, depression, alcoholism, or pregnancy. Vitally, only a positive urinary free-cortisol output result obtained three times is evidence against the diagnosis of endogenous hypercortisolaemia. In fact, in other cases the possibility of subclinical Cushing's syndrome with periodic increased cortisol output (*cyclic Cushing's syndrome*) [24].

Daily cortisol urinary output assessment is characterised by high specificity (96%) but low sensitivity (40–50%) [25]. Cortisol concentration in urine may be falsely increased or falsely decreased in the cases presented in Table II.

### Late-night saliva cortisol concentration

Currently, measuring late-night cortisol concentration in saliva constitutes a widely accepted screening method in the diagnosis of hypercortisolaemia where its increased levels ( $> 4.0$  nmol/L [145 ng/dL] at 11 p.m.–12 p.m.) are considered to be an early symptom. The obtained result correlates with free cortisol concentrations, regardless of binding protein concentration changes [27]. This is the most vital element in the differentiation between true endogenous hypercortisolaemia and elevated cortisol level as a result of the increase in CBG concentration, e.g. in the course of oestrogen therapy or during pregnancy. The examination consists of chewing a saliva-absorbing tampon for 1–2 minutes. It is recommended to perform the examination on two consecutive days (at about 11 p.m. — midnight). The samples are placed in special Salivettes, where cortisol concentrations remain constant in room temperature for as much as a week [28, 29]. A tampon placed in a refrigerator may be stored for several weeks.

A meta-analysis conducted by Carrol T et al. showed outstanding sensitivity (92–100%) and specificity (93–100%) of the examination. The diagnostic process may take place at home, in an environment devoid of additional stress, without generating additional hospitalisation costs, and with repeatable tests results [31]. It is recommended in children, in suspected cyclic hypercortisolaemia, and in cases of falsely increased results due to CBG elevation (at the beginning of pregnancy, and oestrogen therapy). However, there are cases where falsely increased cortisol levels in saliva may still appear (Table III).

Measuring salivary cortisol constitutes also a highly useful test in patients following neurosurgery in the course of ACTH-dependent Cushing's syndrome because it allows for an effective assessment of surgery, as well as for early detection of the relapse.

### ACTH concentration

The secretion of adrenocorticotrophic hormone (ACTH) is pulsatile, with short half-life ( $t_{1/2}$  is 3–8 minutes). Due to large circadian fluctuation it is not employed as a screening test in the diagnosis of adrenal diseases. In fact, it is fundamental to obtain a proper blood sample for analysis, i.e. venous blood should be drawn into an EDTA tube, cooled, and delivered to the laboratory. Another possibility is to separate plasma and deliver frozen plasma to the laboratory. Glass test tubes should not be used because ACTH is adsorbed in the glassware. During phlebotomy, the patient should not be stressed, and the blood should be preferably drawn using a previously inserted cannula. Improper sample storage leads to fast ACTH breakdown and to falsely decreased

**Table III. Causes of falsely increased salivary cortisol concentration**

Stress
After brushing teeth and in periodontal diseases (due to the presence of blood in saliva)
Smokers
In shift work
In cases of beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 inhibition in the course of carbenoxolone therapy, chewing liquorice, drinking large amounts of grapefruit juice

**Table IV. Causes of falsely increased and decreased ACTH results**

False positive	False negative
Post-insulin hypoglycaemia	Inhaled glucocorticoids administered and/or postoperatively
In ectopic ACTH production in paraneoplastic syndrome (small cell lung cancer)	
In post-traumatic and post-surgical states	
In the course of Addison's disease	
Following synthetic ACTH or Metopirone injection	
In Nelson's syndrome following bilateral adrenalectomy	
ACTH plasma concentration may be physiologically elevated in pregnant women	

results. Some causes of falsely increased and decreased ACTH results are presented in Table IV.

ACTH secretion is not always entirely blocked despite the autonomous cortisol secretion by the hormonally active adenoma. Therefore, on the sole basis of ACTH concentration it is impossible to differentiate between ACTH-independent and ACTH-dependent Cushing's syndrome (particularly in the 10–40 pg/mL range).

### Low-Dose Dexamethasone Suppression Test

The test consists of the observation of cortisol secretion suppression after oral administration of 1 mg dexamethasone at 11–12 p.m. The cortisol serum concentration is measured on the following day in the morning after overnight fasting (at 8–9 a.m.). According to the AACE and AAES 2009 recommendations, cortisol concentration  $> 138$  nmol/L (5 ug/dL) in asymptomatic adrenal incidentaloma patients is an indication for further diagnosis. Cortisol concentrations  $< 50$  nmol/L ( $< 1.8$  ug/dL) exclude hypercortisolaemia. Until recently, lowering cortisolaemia to 138 nmol/L was thought to be within the norm. However, lowering the cut-off point

to 50 nmol/L significantly increased the test sensitivity: 58% vs. 75–100% respectively [32]. It is estimated that with the current criteria, the test has high sensitivity but relatively low specificity (88%) [33]. Holleman F et al. suggested 95 nmol/L [3.4 ug/dL] as a threshold value in cortisolaemia in 1 mg DXM test, and with this value they obtained a sensitivity of 100% and higher specificity 99.4% [34]. Nevertheless, Morelli V et al. suggested 83 nmol/L (3.0 µg/dL) as a criterion level [35].

It is crucial to notice that a single abnormal result with DXM in adrenal adenoma patients should not constitute the basis for the diagnosis of hypercortisolaemia, or result in surgical intervention.

False positive results may be the consequence of increased cortisol binding protein (CBG) concentrations, e.g. in hyperestrogenism or in pseudo-Cushing's syndrome (as characterised above). Analogically, in patients with lower CBG concentration (as above) and/or suffering from hypoalbuminaemia, there is a risk of obtaining false negative test results.

In patients treated with hepatic microsomal enzymes induction drugs (mainly CYP3A4), accelerated dexamethasone metabolism occurs, which may result in a false positive result [36] (Table V).

In the administration of medications suppressing CYP3A4, false negative results may be obtained. The most commonly used CYP3A4 inhibitors are listed in Table VI.

Another factor contributing to false positive results may be impaired dexamethasone absorption, e.g. during treatment with antacids, which in turn leads to glucocorticoid absorption impairment from the digestive tract. Meikle AW et al. suggested simultaneous measurement of cortisol and DXM serum concentrations, which would assist in assessing the DXM absorption and thus optimise the test [37].

### Proper pheochromocytoma diagnosis

Pheochromocytoma cells comprise Catechol-O-methyltransferase (COMT), which is a catecholamine to methoxy catecholamine transformation catalyst. Moreover, methoxy catecholamine synthesis in tumorous cells is constant and therefore their concentration test constitutes a better tumour presence marker than catecholamine concentration tests, which are secreted episodically.

The awareness of outside factors influencing catecholamine and its metabolite concentration levels both in blood and in urine is crucial in the proper interpretation of biochemical trials. Stressful situations and some diseases, such as myocardial infarction, heart failure, hypoxia, or stroke, may enhance sympathetic system activity and hence result in false positive results. Overproduction of methoxy catecholamines takes place

**Table V.** *The causes of false positive 1 mg dexamethasone test results*

False positive 1 mg dexamethasone test results
Increased CBG concentration, e.g. in hyperestrogenism or pseudo-Cushing's syndrome
Impaired dexamethasone absorption
Carbamazepine, oxcarbazepine, phenobarbital, phenytoin, primidone, modafinil, methaqualone
Prednisone
Cisplatin, cyclophosphamide, ifosfamide,
Pioglitazone
Aminoglutethimide
Efavirenz
Rifampicin
St John's wort essence, ethyl alcohol

**Table VI.** *The causes of false negative 1 mg dexamethasone test results*

False negative — CYP3A4 inhibitors
Patients with decreased CBG (as above) and/or hypoalbuminaemia
Drugs administered in endocrinological treatment — bromocriptine, methylprednisolone
Antiarrhythmic medications — diltiazem, verapamil, nifedipine, amiodarone
Antidepressants and antipsychotics — citalopram, fluoxetine, norfluoxetine, paroxetine, sertraline, nefazodone, valproic acid
Dermatological medications — azole antifungal drugs (itraconazole, ketoconazole, fluconazole)
Oncological drugs — anastrozole, tamoxifen, cyclosporine
Antibiotics — ciprofloxacin, norfloxacin, erythromycin, clarithromycin
Antiviral drugs — ritonavir, nelfinavir
Other — zafirlukast, cimetidine, methadone, pomelo, sour orange, naringenin — grapefruit juice
Aprepitant (Emend, selective neurokinin NK1 substance P receptor antagonist with antiemetic action, used in the course of adult antineoplastic chemotherapy with cisplatin)

also in clinical states, e.g. increased exertion, pain, shock or alcohol abuse. Additionally, a number of drugs increase methoxy catecholamine urinary concentration (Table VII).

False negative test results may also be caused by reserpine, ingesting tyrosine hydroxylase inhibitors prior to testing which is L-tyrosine to dihydroxyphenylalanine catalyst, DOPA (bananas, nuts, citrus fruit, tea, coffee, other caffeine-containing products, and vanilla), as well as iodine contrast mediums. What is more, biochemical tests may be performed only on the fifth day after administration of iodine contrast medium. In fact, not adhering to this rule may lead to false negative results.

**Table VII. Factors increasing methoxy catecholamine urinary concentration**

<b>Paracetamol (acetaminophen); salicylates</b>
Antidepressants and antipsychotics (MAO inhibitors, chlorpromazine, imipramine), tricyclic antidepressants, benzodiazepines, phenoxybenzamine, levodopa, methyl dopa, lithium, buspirone
$\beta$ -blockers (labetalol, sotalol); clonidine, propafenone, reserpine, vasodilators — nitro-glycerine, quinidine
Antibiotics (tetracycline, erythromycin, tetracyclines, sulphonamides)
Dexamethasone (!)
Diuretics
Insulin
Adrenaline
Sulfasalazine
Antihistamines, theophylline, nasal drops (Xylometazoline)
Ethyl alcohol
Cocaine, amphetamine derivatives, anti-obesity drugs, nicotine

Despite the fact that catecholamine plasma concentration has high sensitivity (96-100%) and specificity (89%), it is not easily accessible in Poland. Free methoxy catecholamine concentration within normal levels indicates a diagnosis outside pheochromocytoma, although tumours secreting only dopamine should also be borne in mind. According to the guidelines of the Polish Society of Hypertension, daily methoxy catecholamine urinary output should be repeated three times, because in some cases a single test is not diagnostically conclusive due to episodic catecholamine release [38].

Adrenaline and noradrenaline plasma concentration has a considerably lower sensitivity (69%) and specificity (86%). Moreover, four hours before phlebotomy, the patient must not smoke because it may result in a false positive result.

Daily vanillylmandelic acid urinary output test may present false positive results owing to the non-specificity of the most frequently employed methods. The following aspects influence the result: diet including tyrosine hydroxylase inhibitors (two days prior to sampling the patient should refrain from eating bananas, vanilla, soft-cheese, confectionery, pastry, chocolate, coffee, or citrus fruit), some drugs, and extensive exertion, as well as strong emotional stress before the test, which is analogous to the abovementioned factors. Furthermore, increased output of this metabolite is found in only 60–70% of pheochromocytoma patients, which may add to the false negative results.

### **Chromogranin A**

Identification of chromogranin A (CgA) outside gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours (GEP-NET) may influence the diagnosis of pheochromocytoma

and other disorders (neuroblastoma, small cell lung cancer, familial medullary thyroid carcinoma, prostate cancer) [39]. CgA concentration does not depend on sex or age, but its concentration increases after a meal. Therefore, the blood sample should be collected during fasting, at least eight hours after the last meal.

It is vital to confirm that the patient is not using drugs that might influence the production and release of CgA from enterochromaffin cells vastly distributed in the alimentary canal. The aforementioned drugs include proton pump inhibitors (e.g. omeprazole), when CgA concentration may increase to the levels observed in the GEP-NET with liver metastases. This effect may depend on the duration and individual patient response, hence, if possible, these medications should be discontinued at least 7–14 days before CgA testing. Additionally, elevated CgA level may occur in the course of treatment with H<sub>2</sub> receptors inhibitors (ranitidine, cimetidine), as well as during glucocorticoid administration, which may result in twofold CgA concentration elevation. In fact, disorders associated with elevated CgA levels may accompany a number of internal diseases [40] (Table VIII).

Due to numerous limitations and low diagnostic value, CgA level assessment is not recommended in the diagnosis of suspected pheochromocytoma.

Even clinically silent, undiagnosed pheochromocytomas may cause a hypertensive crisis, for instance during surgery. Taking into account the fact that in 25% of cases pheochromocytoma may be genetic (especially in young patients, with bilateral lesions or localised outside the adrenals), it is crucial to consider genetic tests in these patients, including: multiple endocrine neoplasia type 2 (MEN), von Hippel-Lindau Disease (VHL), as well as pheochromocytoma-paraganglioma syndrome (PPS).

### **Reliable diagnosis in hyperaldosteronism (aldosterone, plasma renin activity [PRA], aldosterone-to-renin ratio assessment)**

In incidentaloma patients with hypertension and/or hypokalaemia and normokalaemia, diagnosis of hyperaldosteronism (Conn's syndrome, PA [primary aldosteronism]) should be attempted [41]. Aldosterone-to-renin ratio (ARR) constitutes a screening test that reflects the aldosterone concentration level to renin activity ratio. In fact, ARR >20–30 with increased aldosterone concentration suggests hyperaldosteronism. Moreover, aldosterone concentration should be measured in normonatraemic conditions (high-sodium diet for three days, with confirmed 200 mmol/d sodium urinary output and normokalaemia).

Plasma renin activity constitutes an indirect indicator of renin secretion, i.e. it established the amount of

**Table VIII. Elevated CgA levels in the course of the disease**

Diseases associated with elevated CgA level	
Endocrinology	Hypo/hyperthyroidism, pituitary tumours, familial medullary thyroid carcinoma, GEP-NET, hypercortisolaemia, increased sympathetic nervous activity
Cardiology	Acute Coronary Symptoms (ACS), heart failure, polyarteritis nodosa, hypertension
Pulmonology	Chronic obstructive pulmonary disease, chronic bronchitis
Nephrology	Renal failure — with creatinine level $\geq 4$ mg/dL CgA concentration may resemble the values during NET
Gastroenterology	Chronic atrophic gastritis type A, Crohn's disease, inflammatory bowel disease, liver, pancreatic, and colon cancer
Rheumatology	Rheumatoid arthritis
Oncology	Breast, ovarian, prostate cancer, small cell lung cancer, neuroblastoma

produced angiotensin I (ANG I) from 1 ml of blood within one hour of incubation in controlled conditions. In healthy subjects the PRA value depends on body position and salt intake. Nevertheless, there are a number of physiological and pharmacological stimuli that modify aldosterone and PRA level, thus influencing indirectly ARR (Table IX).

It is worth remembering that in women receiving oral contraceptives or hormone replacement therapy, PRA is preferred over DRC (direct renin concentration) because these medications may decrease DRC (ARO to a lesser degree) and may falsely elevate ARR level. What is more, in the luteal phase in women, due to progesterone anti-mineralocorticoid activity, aldosterone and PRA are elevated, which, as a consequence, may lead to falsely decreased ARR results. In fact, it constitutes one of the causes of unnecessary diagnostic measures. Therefore, separate norms in terms of aldosterone, PRA, and ARR are recommended not only for men and women, but also for separate menstrual cycle phases [42].

The influence of administered medications must be taken into account when interpreting ARR [43, 44]. Prior to planned diagnostics it is necessary to modify the hypotensive therapy. It entails the discontinuation of drugs that may substantially influence the results. In order to avoid false negative results, 4–6 weeks before the examination the following medication should be discontinued: aldosterone antagonists (spironolactone, eplerenone), potassium-sparing diuretics (amiloride, triamterene), and liquorice-based substances. Additionally, 2–4 weeks before examination the following drug groups should be abandoned: ACE-I, sartans, renin

**Table IX. Physiological and pharmacological stimuli influencing ARR**

Stimuli	ARR	
Physiological	Upright position	↑
	Time of day (morning ACTH influence)	↑
	Low-sodium diet	↓
	Menstrual cycle (luteal phase)	↑
	Deterioration of renal function, after 65 years of age	↑
Pharmacological	Hypokalaemia	↓
	Beta-blockers, $\alpha$ 2-agonists	↑
	Nonsteroidal anti-inflammatory drugs	↑
	Diuretics	↓
	Dihydropyridine (DHP) calcium channel blockers	↓
	ACE-I, AT2 receptor antagonists	↓
	Progestogens	↓

inhibitors (aliskiren), dihydropyridine *calcium channel blockers*,  $\beta$ -blockers,  $\alpha$ 2-adrenomimetics (false negative results). If possible, they should be replaced with long acting *calcium channel blockers* (*verapamil retard*, *prazosin* — *Polpressin*, *terazosin* — *Hytrin*,  $\alpha$ 1-adrenolytics, clonidine, Iporel; hydralazine), which hardly influence ARR values.

In order to avoid a false negative ATT result, progestogen therapy should also be discontinued for at least four weeks, and NAIDs should also be withdrawn. Decreased PRA and aldosterone values are confirmed in the following clinical situations: after 65 y. a., in patients with impaired renal function, diabetic nephropathy, Addison's disease, tuberculosis, and congenital adrenal hyperplasia).

#### **Adrenal androgen concentration (DHEA-S, DHEA, testosterone)**

Adrenal cortex cancers constitute about 5% of AI cases where hormonal activity is confirmed in 2/3 of patients [45]. They most frequently cause rapid ACTH-independent Cushing's syndrome, hyperandrogenism (in women) or feminisation syndrome (in men). In these cases, sexual hormone testing is crucial, such as androstenedione, testosterone, or dehydroepiandrosterone sulphate (DHEA-S), and in men with feminine features also estradiol level should be tested.

The main adrenal androgens are DHEA and DHEA-S because 95% of them are produced in the adrenal glands. Testosterone is secreted by the adrenals in small amounts. In endocrinological diagnostics, DHEA-S is employed due to the lack of circadian fluctuations and long half-time (> 20 hours).

**Table X. The causes of increased and decreased DHEA-S concentration**

Increased DHEA-S level	Decreased DHEA-S level
Virilising adrenal tumour	ACTH-independent Cushing's disease
ACTH-dependent Cushing's disease	Anorexia nervosa
Congenital adrenal hyperplasia	Long-term steroid therapy
Glucocorticoid resistance syndrome	Hypothyroidism
Polycystic ovarian syndrome	Congenital adrenal hyperplasia due to 17 hydroxylase or cholesterol desmolase deficiency
Patients taking DHEA supplements	

Adrenal androgen testing may be recommended in women with hyperandrogenism, i.e. amenorrhoea, infertility, hirsutism, alopecia, acne. In these cases, total testosterone and 17(OH) progesterone should be tested. In fact, high androgen levels (TC > 200 ng/dl, DHEA-S > 800 ug/dL, 17-OH-progesterone) may accompany adrenocortical carcinoma and require the diagnosis of polycystic ovarian syndrome and congenital adrenal hyperplasia.

Vitaly, in some cases of adrenocortical carcinoma, which is hormonally inactive, DEAH-S concentration may be within normal limits. Moreover, elevated or decreased DHEA-S is diagnosed in various clinical situations (Table X).

In order to differentiate between androgenism causes in adrenal tumour, dexamethasone androgen suppression test may be conducted, where cortisol, testosterone, and DHEA-S levels will be analysed. The test is performed two days after DXM introduction in 0.5 mg oral dose every six hours at 8 a.m., 2 p.m., 8 p.m., and 2 a.m. ACTH is a hormone stimulating androgen secretion in the zona reticularis of the adrenals. DHEA-S level is assessed on the third day two hours after the administration of the last dose. The absence of the decrease in DHEA-S and testosterone secretion indicates autonomous androgens secretion. On the other hand, a DHEA-S decrease > 60% and testosterone > 40% suggests adrenal secretion of androgen excess [45], whereas the decrease in DHEA-S concentration > 60% and testosterone < 40% points to ovarian origin of androgen excess.

## Summary

A unified diagnostic scheme regarding incidentalomas has not been established to date. Taking into account the immense increase in the diagnosis of incidentalomas and the necessity of conducting numerous expensive

diagnostic tests in the majority of healthy patients, establishing transparent and effective diagnostic paths has become urgent.

The awareness of biochemical and imaging test limitations, and the knowledge of false positive and false negative result sources, allows for the optimisation of the diagnostic process. Simultaneously, the abovementioned factors may contribute to a decrease in unnecessary and frequently repeated tests. Additionally, it may imply avoiding the costs of unjustified deep diagnostics.

On the other hand, understanding factors influencing false negative test results will not lead to a loss of the doctor's alertness in further medical care, and will motivate them to pose a correct diagnosis.

## References

- Kievit J, Haak HR. Diagnosis and treatment of adrenal incidentaloma. A cost-effectiveness analysis. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2000; 29(1): 69–90, viii, indexed in Pubmed: [10732265](#).
- Bastounis EA, Karayiannakis AJ, Anapliotou ML, et al. Incidentalomas of the adrenal gland: diagnostic and therapeutic implications. *Am Surg.* 1997; 63(4): 356–360, indexed in Pubmed: [9124759](#).
- Barzon L, Scaroni C, Sonino N, et al. Risk factors and long-term follow-up of adrenal incidentalomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999; 84(2): 520–526, doi: [10.1210/jcem.84.2.5444](#), indexed in Pubmed: [10022410](#).
- Slapa R, Kasperlik-Zaluska A, Migda B, et al. Elastografia fali poprzecznej guzów nadnerczy jest możliwa do wykonania i może pomóc w różnicowaniu zmian litych z torbielowatymi — doniesienie wstępne. *Endokrynologia Polska.* 2014; 65(2): 119–124, doi: [10.5603/ep.2014.0017](#).
- Trojan J, Schwarz W, Sarrazin C, et al. Role of ultrasonography in the detection of small adrenal masses. *Ultraschall Med.* 2002; 23(2): 96–100, doi: [10.1055/s-2002-25190](#), indexed in Pubmed: [11961722](#).
- Stajgis M, Stajgis M, Guzikowska-Ruszkowska I, et al. Stajgis M, Stajgis M, Guzikowska-Ruszkowska I, Horst-Sikorska W, Paprzycki W, CT diagnostic imaging of adrenal adenomas, *Polish Journal of Radiology.* 2005; 70(2): 62–68.
- Boland GWL, Dwamena BA, Jagtiani Sangwaiya M, et al. Characterization of adrenal masses by using FDG PET: a systematic review and meta-analysis of diagnostic test performance. *Radiology.* 2011; 259(1): 117–126, doi: [10.1148/radiol.11100569](#), indexed in Pubmed: [211330566](#).
- Ilias I, Sahdev A, Reznick RH, et al. The optimal imaging of adrenal tumours: a comparison of different methods. *Endocr Relat Cancer.* 2007; 14(3): 587–599, doi: [10.1677/ERC-07-0045](#), indexed in Pubmed: [17914090](#).
- Blake MA, Kalra MK, Maher MM, et al. Pheochromocytoma: an imaging chameleon. *Radiographics.* 2004; 24 Suppl 1: S87–S99, doi: [10.1148/rg.24si045506](#), indexed in Pubmed: [15486252](#).
- Sangwaiya MJ, Boland GWL, Cronin CG, et al. Incidental adrenal lesions: accuracy of characterization with contrast-enhanced washout multidetector CT–10-minute delayed imaging protocol revisited in a large patient cohort. *Radiology.* 2010; 256(2): 504–510, doi: [10.1148/radiol.10091386](#), indexed in Pubmed: [20656838](#).
- Korobkin M. CT characterization of adrenal masses: the time has come. *Radiology.* 2000; 217(3): 629–632, doi: [10.1148/radiology.217.3.r00d52629](#), indexed in Pubmed: [11110922](#).
- Caoili EM, Korobkin M, Francis IR, et al. Adrenal masses: characterization with combined unenhanced and delayed enhanced CT. *Radiology.* 2002; 222(3): 629–633, doi: [10.1148/radiol.2223010766](#), indexed in Pubmed: [11867777](#).
- Haider MA, Ghai S, Jhaveri K, et al. Chemical shift MR imaging of hyperattenuating (>10 HU) adrenal masses: does it still have a role? *Radiology.* 2004; 231(3): 711–716, doi: [10.1148/radiol.2313030676](#), indexed in Pubmed: [15118113](#).
- Kimura T, Usui T, Inamoto S, et al. Image in endocrinology. Pheochromocytoma with subclinical Cushing's syndrome caused by corticomedullary mixed tumor of the adrenal gland. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94(3): 746–747, doi: [10.1210/jc.2008-2013](#), indexed in Pubmed: [19261896](#).
- Katabathina VS, Flaherty E, Kaza R, et al. Adrenal collision tumors and their mimics: multimodality imaging findings. *Cancer Imaging.* 2013; 13(4): 602–610, doi: [10.1102/1470-7330.2013.0053](#), indexed in Pubmed: [24434021](#).
- Schwartz LH, Macari M, Huvos AG, et al. Collision tumors of the adrenal gland: demonstration and characterization at MR imaging. *Radiology.* 1996; 201(3): 757–760, doi: [10.1148/radiology.201.3.8939227](#), indexed in Pubmed: [8939227](#).



17. Thorin-Savou r  A, Tissier-Rible F, Guignat L, et al. Collision/composite tumors of the adrenal gland: a pitfall of scintigraphy imaging and hormone assays in the detection of adrenal metastasis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90(8): 4924–4929, doi: [10.1210/jc.2004-2572](https://doi.org/10.1210/jc.2004-2572), indexed in Pubmed: [15914530](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15914530/).
18. Katabathina VS, Flaherty E, Kaza R, et al. Adrenal collision tumors and their mimics: multimodality imaging findings. *Cancer Imaging.* 2013; 13(4): 602–610, doi: [10.1102/1470-7330.2013.0053](https://doi.org/10.1102/1470-7330.2013.0053), indexed in Pubmed: [24434021](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24434021/).
19. Sato H, Igarashi H, Kishimoto Y, et al. Combined tumor consisting of non-functioning adrenocortical adenoma and pheochromocytoma in the same gland. *International Journal of Urology.* 2002; 9(7): 398–401, doi: [10.1046/j.1442-2042.2002.00482.x](https://doi.org/10.1046/j.1442-2042.2002.00482.x).
20. Cotesta D, Petramala L, Serra V, et al. Pheochromocytoma associated with adrenocortical tumor in the same gland. Two case reports and literature review. *Minerva Endocrinol.* 2006; 31(2): 183–189, indexed in Pubmed: [16682942](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16682942/).
21. Arnaldi G, Boscaro M. Adrenal incidentaloma. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2012; 26(4): 405–419, doi: [10.1016/j.beem.2011.12.006](https://doi.org/10.1016/j.beem.2011.12.006), indexed in Pubmed: [22863384](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22863384/).
22. Nieman LK. Approach to the patient with an adrenal incidentaloma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010; 95(9): 4106–4113, doi: [10.1210/jc.2010-0457](https://doi.org/10.1210/jc.2010-0457), indexed in Pubmed: [20823463](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20823463/).
23. Terzolo M, Reimondo G, Angeli A. Definition of an optimal strategy to evaluate and follow-up adrenal incidentalomas: time for further research. *Eur J Endocrinol.* 2009; 161(4): 529–532, doi: [10.1530/EJE-09-0473](https://doi.org/10.1530/EJE-09-0473), indexed in Pubmed: [19692548](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19692548/).
24. Meinardi JR, Wolffenbuttel BHR, Dullaart RPF. Cyclic Cushing’s syndrome: a clinical challenge. *Eur J Endocrinol.* 2007; 157(3): 245–254, doi: [10.1530/EJE-07-0262](https://doi.org/10.1530/EJE-07-0262), indexed in Pubmed: [17766705](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17766705/).
25. Newell-Price J, Trainer P, Besser M, et al. The diagnosis and differential diagnosis of Cushing’s syndrome and pseudo-Cushing’s states. *Endocr Rev.* 1998; 19(5): 647–672, doi: [10.1210/edrv.19.5.0346](https://doi.org/10.1210/edrv.19.5.0346), indexed in Pubmed: [9793762](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9793762/).
26. Mericq MV, Cutler GB. High fluid intake increases urine free cortisol excretion in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998; 83(2): 682–684, doi: [10.1210/jcem.83.2.4555](https://doi.org/10.1210/jcem.83.2.4555), indexed in Pubmed: [9467592](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9467592/).
27. Raff H, Raff JL, Findling JW. Late-night salivary cortisol as a screening test for Cushing’s syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998; 83(8): 2681–2686, doi: [10.1210/jcem.83.8.4936](https://doi.org/10.1210/jcem.83.8.4936), indexed in Pubmed: [9709931](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9709931/).
28. Poll EM, Kreitschmann-Andermahr I, Langejuergen Y, et al. Saliva collection method affects predictability of serum cortisol. *Clin Chim Acta.* 2007; 382(1-2): 15–19, doi: [10.1016/j.cca.2007.03.009](https://doi.org/10.1016/j.cca.2007.03.009), indexed in Pubmed: [17449021](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17449021/).
29. Carrasco CA, García M, Goycoolea M, et al. Reproducibility and performance of one or two samples of salivary cortisol in the diagnosis of Cushing’s syndrome using an automated immunoassay system. *Endocrine.* 2012; 41(3): 487–493, doi: [10.1007/s12020-012-9597-z](https://doi.org/10.1007/s12020-012-9597-z), indexed in Pubmed: [22270871](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22270871/).
30. Carroll Ty, Raff H, Findling JW. Late-night salivary cortisol for the diagnosis of Cushing syndrome: a meta-analysis. *Endocr Pract.* 2009; 15(4): 335–342, doi: [10.4158/EP09023OR](https://doi.org/10.4158/EP09023OR), indexed in Pubmed: [19502211](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19502211/).
31. Viardot A, Huber P, Puder JJ, et al. Reproducibility of nighttime salivary cortisol and its use in the diagnosis of hypercortisolism compared with urinary free cortisol and overnight dexamethasone suppression test. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90(10): 5730–5736, doi: [10.1210/jc.2004-2264](https://doi.org/10.1210/jc.2004-2264), indexed in Pubmed: [16014408](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16014408/).
32. Wood PJ, Barth JH, Freedman DB, et al. Evidence for the low dose dexamethasone suppression test to screen for Cushing’s syndrome—recommendations for a protocol for biochemistry laboratories. *Ann Clin Biochem.* 1997; 34 (Pt 3): 222–229, doi: [10.1177/000456329703400302](https://doi.org/10.1177/000456329703400302), indexed in Pubmed: [9158818](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9158818/).
33. Findling JW, Raff H. Newer diagnostic techniques and problems in Cushing’s disease. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1999; 28(1): 191–210, indexed in Pubmed: [10207691](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10207691/).
34. Holleman F, Ender E, Prummel MF, et al. Evaluation of endocrine tests. B: screening for hypercortisolism. *Neth J Med.* 2005; 63(9): 348–353, indexed in Pubmed: [16244382](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16244382/).
35. Morelli V, Reimondo G, Giordano R, et al. Long-term follow-up in adrenal incidentalomas: an Italian multicenter study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 99(3): 827–834, doi: [10.1210/jc.2013-3527](https://doi.org/10.1210/jc.2013-3527), indexed in Pubmed: [24423350](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24423350/).
36. Bednarczuk T, Bolanowski M, Sworczak K, et al. Przypadkowo wykryty guz nadnercza (incydentaloma) u dorosłych — zasady postępowania rekomendowane przez Polskie Towarzystwo Endokrynologiczne. *Endokrynologia Polska.* 2016; 67(2): 234–258, doi: [10.5603/ep.a.2016.0039](https://doi.org/10.5603/ep.a.2016.0039).
37. Meikle AW. Dexamethasone suppression tests: usefulness of simultaneous measurement of plasma cortisol and dexamethasone. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1982; 16(4): 401–408, indexed in Pubmed: [7094363](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7094363/).
38. Grupa Robocza Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego. Wytyczne dotyczące diagnostyki i leczenia chorych z guzem chromochłonnym. Nadciśnienie Tętnicze. 2006; 10: 1–19.
39. Baudin E, Bidart JM, Bachelot A, Ducreux M, Elias D, Ruffi  P, Schlumberger M., Impact of chromogranin A measurement in the work-up of neuroendocrine tumors, *Ann Oncol.* 2001;12 Suppl 2:S79-82.
40. Glinicki P, Jeske W, Chromogranina A. Glinicki P, Jeske W, Chromogranina A (CgA) — charakterystyka dostępnycy metod badawczych i uwarunkowań mogących miec wpływ na uzyskane wyniki, *Endokrynol Pol.* 2009; 60(5): 415–419.
41. Terzolo M, Stigliano A, Chiodini I, et al. Italian Association of Clinical Endocrinologists. AME position statement on adrenal incidentaloma. *Eur J Endocrinol.* 2011; 164(6): 851–870, doi: [10.1530/EJE-10-1147](https://doi.org/10.1530/EJE-10-1147), indexed in Pubmed: [21471169](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21471169/).
42. Ahmed AH, Gordon RD, Taylor PJ, et al. Are women more at risk of false-positive primary aldosteronism screening and unnecessary suppression testing than men? *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96(2): E340–E346, doi: [10.1210/jc.2010-1355](https://doi.org/10.1210/jc.2010-1355), indexed in Pubmed: [20962019](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20962019/).
43. Funder J, Carey R, Fardella C, et al. Case detection, diagnosis, and treatment of patients with primary aldosteronism: an Endocrine Society clinical practice guideline. *Eur J Endocrinol.* 2009 [Epub ahead of print], doi: [10.1530/EJE-09-0870](https://doi.org/10.1530/EJE-09-0870), indexed in Pubmed: [19793760](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19793760/).
44. Young WF. Primary aldosteronism: renaissance of a syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2007; 66(5): 607–618, doi: [10.1111/j.1365-2265.2007.02775.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2007.02775.x), indexed in Pubmed: [17492946](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17492946/).
45. Dworakowska D., Drabarek A., Wenzel I., Babińska A., Świątkowska-Stodulska R., Sworczak K., Rak kory nadnercza (ACC) — przegląd piśmiennictwa i doświadczenia własne. *Endokrynol Pol* 2014; 65 (6): 492–512, DOI: 10.5603/EP2014.0069
46. Martin K, Chang R, Ehrmann D, et al. Evaluation and Treatment of Hirsutism in Premenopausal Women: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2008; 93(4): 1105–1120, doi: [10.1210/jc.2007-2437](https://doi.org/10.1210/jc.2007-2437).



## Pułapki w diagnostyce incydentaloma nadnerczy

Ewa Cyrańska-Chyrek<sup>1</sup>, Małgorzata Grzymisławska<sup>2</sup>, Marek Ruchała<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Endocrinology, Metabolism, and Internal Medicine, University of Medical Sciences, Poznan, Poland

<sup>2</sup>Department of Anatomy, University of Medical Sciences, Poznan, Poland

Artykuł jest tłumaczeniem pracy: Cyrańska-Chyrek E., Grzymisławska M., Ruchała M., Diagnostic pitfalls of adrenal incidentaloma. *Endokrynol Pol* 2017; 68 (3): 360–368.

Należy cytować wersję pierwotną.

Pismennictwo dostępne w wersji pierwotnej na stronach 367–368

### Streszczenie

Przypadkowo wykryty guz nadnercza (AI, adrenal incidentaloma) to każda zmiana o średnicy  $\geq 1$  cm, wykryta w trakcie diagnostyki obrazowej niezwiązanej z podejrzeniem patologii nadnerczy. Każdy przypadkowiak nadnercza wymaga szczegółowej oceny hormonalnej i obrazowej. Pierwszorazowa diagnostyka obejmuje radiologiczną ocenę fenotypową zmiany (szczególnie w badaniu tomografii komputerowej lub — w razie istniejących przeciwwskazań — w badaniu MR) oraz biochemiczną ocenę aktywności hormonalnej nowotworu (obejmującą oznaczenie okołodobowego rytmu kortyzolu, stężenie kortyzolu w ślinie, 24-godzinny test wydalania kortyzolu i metoksykatecholamin z moczem, krótki test supresji wydzielania kortyzolu z zastosowaniem 1 mg deksametazonu, ocenę poziomu ACTH, stężenia aldosteronu i ARO oraz stężenia androgenów nadnerczowych). Każdy krok diagnostyczny jest związany z ograniczeniami i niedoskonałościami metod. Wiek pacjenta, choroby towarzyszące oraz pobierane leki muszą zostać uwzględnione przy interpretacji wyników badań. Ważne jest, aby pamiętać, że wspomniane powyżej czynniki mogą powodować fałszywie dodatnie lub fałszywie negatywne wyniki testu. Celem niniejszej pracy jest podsumowanie etiologii najczęstszych zdarzeń diagnostycznych, które mogą prowadzić do błędnej diagnozy, zwiększenia niepokoju pacjenta, a w konsekwencji skutkować wprowadzeniem nieprawidłowej terapii lub jej zaniechaniem. Świadomość ograniczeń testów biochemicznych i obrazowych oraz znajomość przyczyn fałszywie pozytywnych i fałszywie negatywnych wyników pozwala na optymalizację procesu diagnostycznego. Jednocześnie analizowane czynniki mogą przyczynić się do zmniejszenia niepotrzebnych i często powtarzanych testów, co pozwoli uniknąć kosztów nieuzasadnionej głębokiej diagnostyki.

**Słowa kluczowe:** guz nadnercza; incydentaloma; diagnostyka hormonalna; wyniki fałszywie dodatnie

### Wprowadzenie

Przypadkowo wykryty guz nadnercza (AI, *adrenal incidentaloma*) to każda zmiana o średnicy  $\geq 1$  cm, wykryta w trakcie diagnostyki obrazowej niezwiązanej z podejrzeniem patologii nadnerczy. Z powodu rosnącej dostępności technik obrazowych (USG, CT, MRI) oraz różnorodności wskazań diagnostycznych obserwowany jest systematyczny wzrost wykrywalności AI na całym świecie na przestrzeni ostatnich lat. Wykrywalność zmian w nadnerczach podczas badań tomografii komputerowej (CT) szacuje się od 1,3% [1, 2] do 4% , przypadków (u pacjentów onkologicznych) [3]. Starzenie się społeczeństwa oraz realizowane w Polsce programy przesiewowe w kierunku wczesnego wykrywania raka płuc, obejmujące badanie CT klatki piersiowej, są dodatkowymi czynnikami powodującymi nasilenie tego zjawiska.

Każda przypadkowo uwidocznioma zmiana w nadnerczach wymaga szczegółowej oceny hormonalnej i obrazowej. Konieczność ta powoduje wysokie koszty

hospitalizacji i badań dodatkowych, a także stanowi istotny stres dla pacjenta. Diagnostyka AI obejmuje radiologiczną ocenę fenotypu (najlepiej w badaniu CT, w razie przeciwwskazań — w badaniu MRI) oraz ocenę biochemiczną ewentualnej czynności hormonalnej guza, na którą składają się następujące parametry: rytm dobowy kortyzolu, stężenie kortyzolu w ślinie, ocena dobowego wydalania wolnego kortyzolu i metoksykatecholamin z moczem, krótki test hamowania wydzielania kortyzolu z 1 mg deksametazonu, ocena stężenia ACTH, stężenie aldosteronu i ARO, stężenie androgenów nadnerczowych.

Każdy etap diagnostyki wiąże się z pewnymi ograniczeniami i niedoskonałością metod, co może skutkować fałszywie dodatnimi lub fałszywie ujemnymi wynikami testów. Niniejsza publikacja ma za zadanie wypunktowanie etiologii najczęściej obserwowanych pomyłek diagnostycznych, które nierzadko mogą skutkować niewłaściwie postawionym rozpoznaniem, pogłębieniem niepokoju pacjenta, a w konsekwencji wdrożeniem niewłaściwej terapii lub jej mylnym zaniechaniem.



## Radiologiczna ocena incydentaloma nadnerczy

**Badanie ultrasonograficzne jamy brzusznej (USG)** wykrywa najwięcej, po badaniu CT, bezobjawowych guzów nadnerczy. Gruczoły nadnerczowe o prawidłowej budowie nie są widoczne w trakcie tego badania z uwagi na małe wymiary gruczołów nadnerczowych — u dorosłego człowieka osiągają długość 2–5 cm, grubość odnóg sięga 6–10 mm [4]. Przyjmuje się, że ultrasonograficzna ocena jest miarodajna dla guzów o średnicy od około 3 cm. Czułość badania USG jamy brzusznej wynosi 76% (jest niższa niż w CT i MRI), ale charakteryzuje się wysoką swoistością — 92% [5]. Czułość dodatkowo spada dla lewego nadnercza, u osób otyłych oraz dla zmian o średnicy < 2 cm.

Dodatkowym problemem jest możliwość lokalizacji struktur imitujących guz nadnercza — tak zwanych guzów rzekomych nadnerczy. Dopiero badanie tomograficzne weryfikuje obrazy USG, w których mylnie podejrzewano obecność patologicznych zmian w nadnerczach. Anatomiczną strukturą imitującą mogą okazać się guzy górnych biegunów nerek, torbiele nerek, węzły chłonne (obustronnie), po stronie prawej — zmiany ogniskowe wątroby, zagięcie wątrobowe okrężnicy, poszerzenie żyły głównej dolnej; po stronie lewej — śledziona dodatkowa, śledziona płatowata, ogon trzustki, tętniak tętnicy śledzionowej, uchyłek żołądka.

**Tomografia komputerowa (CT)** jest badaniem pierwszego rzutu w diagnostyce AI. Analizie podlegają następujące kryteria morfologiczne ogniska: wielkość, kształt, współczynnik osłabienia promieniowania rentgenowskiego (mierzony w jednostkach Hounsfielda [j.H.]), homogenność lub heterogenność guza, obecność zmian wstecznych i zwapnień. Guzy o średnicy do 3 cm są najczęściej zmianami o charakterze łagodnym, zaś te przekraczające 6 cm — znacznie częściej okazują się zmianami złośliwymi [6].

Większość przypadkowo wykrywanych guzów nadnerczy wykazuje tak zwany łagodny fenotyp obrazowy: ich średnica nie przekracza 3–4 cm, mają gładkie zarysy, charakteryzują się niską densyjnością (densyjność  $\leq 10$  j.H. wskazuje na gruczolaka lub torbiel, zaś  $\leq (-) 50$  j.H. na tłuszczaka szpiku — *myelolipoma* (czułość 71%, swoistość 98% [7]). Cechami złośliwości zmiany są policykliczne, zatarte granice, niehomogenna struktura (zawierające ogniska rozpadu i zwapnienia) oraz szybka progresja wielkości (> 6–10 mm/rok).

Istnieją jednak zmiany o gładkich zarysach (okrągłe, owalne) mogą mieć charakter złośliwy — na przykład złośliwy guz chromochłonny, małe przerzuty z nowotworów pozanadnerczowych. Pomimo że

zwapnienia są najczęściej spotykane w rakach kory nadnercza, mogą również występować w zmianach gruczolczych i *neuroblastoma* [8]. Z drugiej strony łagodny guz chromochłonny może być ogniskiem niehomogennym, zawierającym ogniska rozpadu i zwapnienia — szeroka różnorodność fenotypu obrazowego guza chromochłonnego znalazła odbicie w określaniu go jako „radiologicznego kameleona” [9]. Podobnie niepokojąca niehomogenna struktura i duże rozmiary mogą również cechować gruczolaka nadnercza po przebytych krwawieniach lub bardzo dużą zmianę o typie *myelolipoma*.

Około 30% wszystkich gruczolaków nadnerczy stanowią guzy ubogolipidowe (o densyjności pomiędzy 10–30 j.H.). W tych przypadkach jednofazowe badanie CT nadnerczy często nie wystarcza do jednoznacznej odpowiedzi co do charakteru guza (gruczolak–nie-gruczolak?) i wymaga przeprowadzenia badania dwufazowego z oceną densyjności zmiany przed (0') i po podaniu jodowego środka kontrastowego (w 1 minucie (1') — ocena wzmocnienia oraz w 10' lub w 15' — ocena wypłukiwania). Niewątpliwą zaletą tego badania jest możliwość scharakteryzowania guza na podstawie dodatkowego parametru — bezwzględnego i względnego współczynnika wypłukiwania kontrastu (tzw. WSC [*water soluble contrast*]), a także uwidocznienie ewentualnego naciekania struktur sąsiadujących oraz obecności zmian przerzutowych. Dane te w znacznym stopniu pozwalają na zaklasyfikowanie zmiany jako łagodnej lub złośliwej.

Sangwaiya MJ i wsp. [10] poddali analizie wyniki badań obrazowych 323 guzów nadnerczy. Stwierdzili, że analiza względnego procentowego wypłukiwania (przy wartości odcięcia 40%) pozwoliła osiągnąć czułość 76,9%, swoistość 93,75% oraz trafność 77,7% w różnicowaniu gruczolaków z innymi guzami nadnerczy. Są to wartości istotnie niższe (oprócz swoistości), niż w pracach prezentowanych wcześniej (odpowiednio 98%, 92%, 98%) [11, 12].

**Rezonans magnetyczny (MR)** pozostaje badaniem drugiego rzutu, wykonywanym w przypadkach, kiedy badanie CT z kontrastem nie pozwoliło na jednoznaczne określenie typu guza lub w razie podejrzenia *phaeochromocytoma*. Znaczna zawartość lipidów przemawia za łagodnym charakterem zmiany. Niewątpliwą zaletą badania MRI jest możliwość wykrycia nawet niewielkich ilości lipidów, co w konsekwencji umożliwia w 90% przypadków odróżnienie gruczolaków od innych zmian.

Retrospektywna analiza przeprowadzona przez Haidera MA i wsp. wykazała, że gruczolaki kory nadnerczy o gęstości > 10 j.H. (a zatem ubogolipidowe), których nie udało się jednoznacznie sklasyfikować w jednofazowym badaniu CT, zostały w 67% trafnie

scharakteryzowane w badaniu MRI metodą przesunięcia chemicznego [13].

Dodatkową zaletą metody jest możliwość wyodrębnienia guzów chromochłonnych. Wykazują one podwyższoną intensywność sygnału w stosunku do wątroby i śledziony (są hiperintensywne) w obrazach T2-zależnych. Dzięki tej właściwości MRI odgrywa istotną rolę w różnicowaniu między guzami chromochłonnymi a nowotworowymi. W piśmiennictwie spotyka się jednak również opisy guzów mieszanych — o utkaniu z kory i rdzenia nadnercza, a więc zawierające lipidy i jednocześnie produkujące w nadmiarze katecholaminy [14].

Osobne zagadnienie stanowi tak zwany guz w guzie, czyli guzy kolizyjne nadnerczy (*adrenal collision tumors*). Stanowią one współistnienie ognisk o różnym pochodzeniu w obrębie guza nadnercza [15]. Najczęściej stwierdza się koegzystencję dwóch zmian łagodnych — gruczolaka i *myelolipoma* [16], rzadziej guzy przerzutowe w obrębie gruczolaka (głównie z raka płuc, raka piersi, czerniaka) [17, 18]. Znane są również ogniska *phaeochromocytoma* w gruczolaku bogatolipidowym [19, 20].

### Biochemiczna diagnostyka incydentaloma nadnerczy

Według danych z piśmiennictwa 75–80% AI stanowią nieczynne hormonalnie gruczolaki. Wśród zmian czynnych hormonalnie najczęściej wykrywane są guzy kory nadnerczy autonomicznie wydzielające glikokortykosteroidy, dające obraz ACTH-niezależnego lub subklinicznego ACTH-niezależnego zespołu Cushinga (ok. 5% *incydentaloma*). Kolejne 5% AI to guzy rdzenia nadnerczy, produkujące w nadmiarze aminy katecholowe (guzy chromochłonne, *phaeochromocytoma*). Około 1% przypadkowo wykrytych guzów nadnerczy wydziela autonomicznie aldosteron (*aldosteronoma*), będąc przyczyną pierwotnego hiperaldosteronizmu (czyli zespołu Conna). Przypadki raka kory nadnerczy to mniej niż 5% *incydentaloma* nadnercza, a przerzuty do nadnerczy stanowią około 2,5% AI.

Według obowiązujących zaleceń u wszystkich pacjentów z *incydentaloma* nadnerczy, niezależnie od obrazu klinicznego oraz chorób współistniejących, należy przeprowadzić badania w kierunku hiperkortyzolemii i guza chromochłonnego. Diagnostyka powinna zostać pogłębiona w kierunku hiperaldosteronizmu pierwotnego u chorych z rozpoznaniem nadciśnieniem tętniczym (obowiązkowo w lekoopornym NT) i/lub epizodami hipokaliemii w wywiadzie [21, 22]. Diagnostyki hormonalnej nie wymagają zwykle zmiany o radiologicznym fenotypie odpowiadającym torbieli lub *myelolipoma* [23].

Tabela I. Czynniki wpływające na stan kortyzolemii

Falszywie zawyżony	Falszywie zaniżony
Stan obciążenia psychicznego i fizycznego (ciężka choroba, uraz, zabieg operacyjny)	Nadczynność tarczycy
Depresja i innych choroby psychiczne	Marskość wątroby
Anorexia nervosa; głodzenie	Zespół nerczycowy
Przewlekła choroba nerek	Stany krytyczne, sepsa
Źle kontrolowana cukrzyca	
Otyłość III stopnia	
Alkoholizm	
Stres i doby hospitalizacji	
CBG (wpływ estrogenów — ciąża, leki zawierające estrogeny; w niedoczynności tarczycy, w ostrym zapaleniu wątroby, terapia mitotanem i tamoksyfenem)	
Spironolakton — reakcja krzyżowa	

### Badania w kierunku ACTH — niezależnego zespołu Cushinga

#### Ocena dobowego rytmu kortyzolu

Kortyzol jest hormonem wydzielanym pulsacyjnie, w rytmie dobowym w odpowiedzi na stymulację adrenokortykotropiną (ACTH). Najwyższe stężenia osiąga rano, w godzinach popołudniowych następuje spadek o około 50% stężenia porannego, a najniższe stężenie stwierdza się w godzinach późnowieczornych. Podwyższone stężenie kortyzolu późnowieczornego uważa się za wczesny przejaw hiperkortyzolemii.

Wartość całkowitego stężenia kortyzolu w surowicy może zostać **falszywie zawyżone** lub **falszywie zaniżone** w przypadku niektórych stanów klinicznych, współistniejących chorób i/lub przyjmowania niektórych leków (tab. I).

Z uwagi na możliwość uzyskania **nieswoiście zawyżonego** późnowieczornego stężenia kortyzolu spowodowanego stresem pacjenta, coraz częściej zaleca się oznaczanie kortyzolu o północy dopiero w trakcie lub po zakończeniu drugiej doby hospitalizacji. Zwraca się także uwagę na optymalizację warunków pobrania krwi u pacjentów, aby zminimalizować stres potęgujący hiperkortyzolemię — czas pobrania musi być jak najkrótszy, pacjent nie powinien być gwałtownie wybudzony ze snu.

Należy pamiętać, że w przypadkach wielu chorób współistniejących, przebiegających z przewagą procesów katabolicznych i utratą białek, możemy z kolei uzyskać **falszywie zaniżone** wyniki oznaczeń całkowitego stężenia kortyzolu.

### Stężenie wolnego kortyzolu w moczu

Dobowe wydalanie kortyzolu z moczem odzwierciedla stężenie wolnego kortyzolu w osoczu. Mniejsze niż 3-krotne przekroczenie GGN może nastąpić w przypadkach rzekomego zespołu Cushinga (tzw. zespół pseudo-Cushinga) wywołanego przez przewlekły lęk, depresję, alkoholizm, a także ciążę. Istotny jest fakt, że tylko 3-krotnie uzyskany prawidłowy wynik wydalania kortyzolu z moczem przemawia przeciw rozpoznaniu endogennej hiperkortyzolemii — w innych przypadkach należy zawsze brać pod uwagę możliwość subklinicznego zespołu Cushinga z okresowo zwiększonym wydalaniem kortyzolu (tzw. *cyclic Cushing's syndrome* [24]).

Ocena dobowego wydalania kortyzolu z moczem charakteryzuje się wysoką swoistością (96%), ale niską czułością (40–50%) [25]. Stężenie kortyzolu w moczu może zostać **falszywie zawyżone** lub **falszywie zaniżone** w następujących sytuacjach klinicznych, które zamieszczono w tabeli II.

### Późnowieczorne stężenie kortyzolu w ślinie

Jest to obecnie szeroko uznane badanie przesiewowe w diagnostyce hiperkortyzolemii — zwiększone późnowieczorne stężenie kortyzolu w ślinie (> 4,0 nmol/l [145 ng/dl] o godz. 23.00–24.00) jest jej wczesnym wskaźnikiem. Otrzymany wynik koreluje ze stężeniem wolnego kortyzolu, niezależnie od zmian stężeń białek wiążących [27]. Jest to najbardziej istotne w różnicowaniu rzeczywistej endogennej hiperkortyzolemii od stanów podwyższonego stężenia kortyzolu w wyniku wzrostu stężenia CBG (np. w trakcie terapii estrogenami, w ciąży). Badanie polega na żuciu tamponu absorbującego ślinę przez 1–2 min. Zaleca się wykonanie dwóch badań w dwa kolejne dni (ok. 23–24.00). Próbkę umieszcza się w specjalnych próbkach (tzw. saliwetkach), a stężenie kortyzolu w uzyskanej próbce pozostaje niezmiennie w warunkach temperatury pokojowej nawet przez tydzień [28, 29]. Umieszczony w lodówce tampon może być tam przechowywany do kilku tygodni.

Metaanaliza przeprowadzona przez Carrol i wsp. wykazała niezwykle wysoką czułość (92–100%) i swoistość (93–100%) tego badania [30]. Diagnostyka może odbywać się w domu, w środowisku nieobciążonym dodatkowym stresem, nie generując dodatkowych kosztów hospitalizacji, a wyniki oznaczeń są powtarzalne [31]. Badanie jest rekomendowane szczególnie u dzieci, w podejrzeniu cyklicznej hiperkortyzolemii oraz w przypadkach fałszywie zawyżonych wyników przez wzrost CBG (w początkowym okresie ciąży, w trakcie terapii estrogenami). Istnieją jednak sytuacje, w których pomimo to można uzyskać fałszywie podwyższone stężenie kortyzolu w ślinie (tab. III).

Oznaczanie kortyzolu w ślinie jest również wysoko przydatnym badaniem u chorych po operacji neurochirurgicznej z powodu ACTH-zależnego zespołu Cushinga,

Tabela II. Przyczyny fałszywie zawyżonych i zaniżonych wyników dobowego wydalania kortyzolu z moczem

Falszywie zawyżone	Falszywie zaniżone
Terapia syntetycznymi GKS (reakcje krzyżowe — należy odstawić min. 3 dni przed badaniem)	Upośledzenie filtracji kłębuszkowej (GFR < 30 ml/min)
Stany depresji	
Alkoholizm	
Ciężka choroba, sepsa	
Polidypsja (> 5 l/dobę) [26]	
W przebiegu terapii kabamazepiną, fenofibratem, digoksyną	
Stosowanie inhibitorów aktywności enzymu dehydrogenazy 11β-hydroksysteroidowej typu 2 (11β-HSD typu 2, przekształcającej kortyzol w kortyzon) — lukrecji, soku grejprutowego, karbenoksolonu) [29]	

Tabela III. Przyczyny fałszywie zawyżonego stężenia kortyzolu w ślinie

Stany stresu
Po umyciu zębów oraz w przypadku chorób przyzębia (z powodu obecności krwi w ślinie)
Palacze papierosów
W przebiegu pracy zmianowej
W przypadkach zahamowania aktywności enzymu 11β-hydroksylazy typu 2 (11β-HSD typu 2) w trakcie terapii karbenoksololem, żucia lukrecji, spożywania dużych ilości soku grejprutowego

ponieważ pozwala na ocenę skuteczności zabiegu, a także umożliwia wczesne rozpoznanie nawrotu choroby.

### Stężenie ACTH

Adrenokortykotropina (ACTH) jest pulsacyjnie wydzielanym hormonem, o krótkim okresie półtrwania ( $t_{1/2}$  wynosi 3–8 min). Ze względu na znaczne wahania w ciągu doby nie jest stosowana jako badanie przesiewowe w diagnostyce chorób nadnerczy. Fundamentalne znaczenie ma prawidłowe uzyskanie próbki krwi do analizy — krew żylną należy pobrać do plastikowej próbki z EDTA (nie należy używać próbek szklanych — ACTH ulega adsorpcji w szkło), schłodzić i dostarczyć do laboratorium lub oddzielić osocze i zamrożone dostarczyć do laboratorium. W trakcie pobierania krwi nie powinno się narażać pacjenta na stres, a krew najlepiej pobierać przez założony uprzednio cewnik. Niewłaściwe przechowywanie próbki doprowadza do szybkiego rozpadu ACTH i uzyskania **falszywie niskiego** wyniku oznaczenia. Niektóre przyczyny fałszywie podwyższonych i zaniżonych wyników oznaczeń ACTH przedstawiono w tabeli IV.

Wydzielanie ACTH nie zawsze jest całkowicie zablockowane pomimo autonomicznej sekrecji kortyzolu przez czynny hormonalnie guz nadnercza, a zatem na podstawie samego stężenia ACTH często nie jest możliwe zróżnicowanie ACTH-niezależnej i ACTH-zależnej choroby Cushinga (zwłaszcza w przedziale 10–40 pg/ml).

#### Test hamowania małą dawką deksametazonu (test nocnego hamowania DXM, krótki test hamowania DXM)

Test polega na obserwacji stopnia supresji wydzielania kortyzolu po doustnym podaniu 1 mg deksametazonu o godzinie 23–24.00. Pomiaru stężenia kortyzolu w surowicy dokonuje się następnego dnia na czczo, rano (w godz. 8.00–9.00). Według zaleceń AACE i AAES z 2009 roku stężenie kortyzolu > 138 nmol/l (5 ug/dl) u pacjentów bezobjawowych z *incidentaloma* nadnercza jest wskazaniem do dalszej diagnostyki. Stężenie kortyzolu < 50 nmol/l (< 1,8 ug/dl) wyklucza hiperkortyzolemię. Do niedawna za prawidłową wartość uznawano obniżenie kortyzolemii do 138 nmol/l, jednak zmniejszenie wartości odcięcia do 50 nmol/l znacznie zwiększyło czułość testu: czułość odpowiednio 58% vs. 75–100% [32]. Ocenia się, że przy obecnych kryteriach test ma wysoką czułość, ale stosunkowo niską swoistość (88%) [33]. Holleman i wsp. zaproponowali 95 nmol/l (3,4 ug/dl) jako wartość progową kortyzolemii w teście z 1 mg DXM — przy jej zastosowaniu uzyskali czułość 100% i wyższą swoistość (94%) [34], natomiast Morelli i wsp. zaproponowali jako kryterium 83 nmol/l (3,0 µg/dl) [35].

Należy pamiętać, że odosobniony nieprawidłowy wynik testu z użyciem DXM u pacjenta z guzem nadnercza nie może stanowić podstawy rozpoznania hiperkortyzolemii, ani tym bardziej powodować decyzji o skierowaniu go na leczenie operacyjne.

**Falszywie dodatnie** wyniki mogą być spowodowane zwiększonym stężeniem globuliny wiążącej kortykotropinę (CBG, *corticosteroid binding globulin*), na przykład w stanach hiperestrogenizmu lub obecności zespołu pseudo-Cushinga (stany charakteryzowane powyżej). Analogicznie u pacjentów z obniżonym stężeniem CBG (jak wyżej) i/lub hypoalbuminemią istnieje ryzyko uzyskania **falszywie ujemnego** wyniku testu.

U chorych przyjmujących leki, będące induktorami enzymów mikrosomalnych wątroby (głównie cytochromu CYP3A4), dochodzi do przyspieszonego metabolizmu deksametazonu, co może skutkować wynikiem **falszywie dodatnim** [36] (tab. V).

W przypadku sytuacji odwrotnej — przyjmowania przez pacjenta substancji hamujących aktywność cytochromu CYP3A4, można spodziewać się uzyskania wyników **falszywie ujemnych**. Najczęściej stosowane inhibitory CYP3A4 przedstawiono w tabeli VI.

Tabela IV. Przyczyny fałszywie podwyższonych i zaniżonych wyników oznaczeń ACTH

Falszywie dodatni	Falszywie ujemny
W hipoglikemii poinsulinowej	Glikokortykosteroidy wziewne i/lub stosowane p.o.
W ektopowej produkcji ACTH w zespole paraneoplazmatycznym (rak owsianokomórkowy płuc)	
W stanach pourazowych i pooperacyjnych	
W przebiegu pierwotnej niedoczynności kory nadnerczy	
Po iniekcji syntetycznego ACTH lub metyraponu (metopironu)	
W zespole Nelsona po obustronnej adrenalectomii	
Stężenie ACTH w osoczu krwi może być fizjologicznie podwyższone u ciężarnych	

Tabela V. Przyczyny fałszywie dodatnich wyników testu z 1 mg deksametazonu

Falszywie dodatni wynik testu z 1 mg deksametazonu
Podwyższone stężenie globuliny wiążącej kortykotropinę (CBG), np. w stanach hiperestrogenizmu lub obecności zespołu pseudo-Cushinga
Upośledzone wchłanianie deksametazonu
Karbamazepina, okskarbamazepina, fenobarbital, fenytoina, prymidon, modafinil, metakwalon
Prednizon
Cisplatyna, cyklofosfamid, ifosfamid
Pioglitazon
Aminoglutetamid
Efawirenz
Ryfampicyna
Wyciąg z dziurawca, alkohol etylowy

Kolejną przyczyną uzyskania wyników **falszywie dodatnich** może być upośledzone wchłanianie deksametazonu (np. w trakcie przyjmowania przez pacjenta leków zubożających), co powoduje zaburzenia wchłaniania glikokortykosteroidów z przewodu pokarmowego. Meikle i wsp. zaproponowali jednoczesny pomiar stężenia kortyzolu i DXM w surowicy, który mógłby służyć ocenie wchłaniania DXM i przez to dodatkowo pozwolić na zoptymalizowanie warunków testu [37].

#### Adekwatna diagnostyka w kierunku guza chromochłonnego

Komórki guza chromochłonnego zawierają enzym katechole-O-metylo transferazę (COMT), katalizu-

**Tabela VI. Przyczyny fałszywie ujemnych wyników testu z 1 mg deksametazonu**

Falszywie ujemne — inhibitory CYP3A4
Pacjenci z obniżonym stężeniem CBG (jak wyżej) i/lub hipalbuminemią
Leki stosowane w endokrynologii — bromokryptyna, metyloprednizolon
Leki antyarytmiczne — diltiazem, werapamil, nifedypina, amiodaron
Leki przeciwdepresyjne i przeciwpsychotyczne — citalopram, fluoksetyna, norfluoksetyna, paroksetyna, sertralina, nefazodon, kwas walproinowy
Leki dermatologiczne — azolowe leki przeciwgrzybicze (itakonazol, ketokonazol, flukonazol)
Leki onkologiczne — anastrozol, tamoksifen, cyklosporyna
Antybiotyki — ciprofloksacyna, norfloksacyna, erytromycyna, klarytromycyna
Leki przeciwwirusowe — ritonawir, nelfinawir
Inne — zafirlukast, cymetydyna, metadon, pomelo, kwaśne pomarańcze, naryngenina — sok grejfrutowy
Aprepitant (Emend, wybiórczy antagonist receptorów neurokininowych 1 substancji P o działaniu przeciwwymiotnym, stosowany w trakcie chemioterapii przeciwnowotworowej u osób dorosłych, z zastosowaniem cisplatyny)

jący przemianę katecholamin do metoksykatecholamin. Synteza metoksykatecholamin w komórkach guza przebiega w sposób ciągły, a zatem pomiar ich stężenia jest lepszym markerem obecności guza niż ocena stężeń katecholamin, które są wydzielane epizodycznie.

Znajomość postronnych czynników wpływających na wyniki oznaczeń stężenia katecholamin oraz ich metabolitów we krwi i w moczu jest niezbędnym warunkiem umożliwiającym właściwą interpretację prób biochemicznych. Sytuacje stresowe oraz niektóre stany chorobowe, jak zawał serca, niewydolność krążenia, hipoksja czy udar mózgu, powodują zwiększoną aktywność układu współczulnego i mogą spowodować wyniki **falszywie dodatnie**. Nadmierna produkcja metoksykatecholamin ma miejsce również w wielu stanach klinicznych, na przykład w znacznym wysiłku fizycznym, bólu, wstrząsie, stresie, podczas nadużywania alkoholu. Do czynników **podwyższających** stężenie metoksykatecholamin w moczu należy także wiele często stosowanych leków (tab. VII).

**Falszywie ujemny** wynik oznaczenia może natomiast zostać spowodowany przez stosowanie rezerpiny, spożycie przed badaniem inhibitorów hydroksylazy tyrozynowej, katalizującej przemianę L-tyrozyny do dihydroksyfenyloalaniny, DOPA (bananów, orzechów, owoców cytrusowych, kawy, herbaty, innych produktów zawierających kofeinę i wanilię) oraz jodowe środki kontrastowe. Badania biochemiczne można wykonać

**Tabela VII. Czynniki podwyższające stężenie metoksykatecholamin w moczu**

Paracetamol (acetaminofen); salicylany
Leki przeciwdepresyjne i przeciwpsychotyczne (inhibitory MAO, chlopromazyna, imipramina), TLPD, BDZ, fenoksybenzamina, lewodopa, metyldopa, lit, buspiron
β-adrenolityki (labetalol, sotalol); klonidyna, propafenon, rezerpina, leki rozszerzające naczynia — nitrogliceryna, chinidyna
Antybiotyki (tetracyklina, erytromycyna, tetracykliny, sulfonamidy)
Deksametazon (!)
Leki moczopędne
Insulina
Adrenalina
Sulfasalazyna
Leki przeciwhistaminowe, teofilina, krople do nosa (Xylometazolina)
Alkohol etylowy
Kokaina, pochodne amfetaminy, środki hamujące łąknienie, nikotyna

dopiero piątego dnia od zastosowania dożylnego jodowego kontrastu radiologicznego — nieprzestrzeganie tej zasady może być przyczyną wyników **falszywie ujemnych**.

Stężenie amin katecholowych w osoczu charakteryzuje się wysoką czułością (96–100%) i swoistością (89%), jest jednak trudno dostępne w Polsce. Prawidłowe stężenie wolnych metoksykatecholamin przemawia przeciw rozpoznaniu *phaeochromocytoma*, należy jednak pamiętać o guzach wydzielających tylko dopaminę. Według zaleceń Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego należy powtórzyć oznaczenie dobowego wydalania metoksykatecholamin z moczem 3-krotnie, ponieważ w niektórych przypadkach jednorazowe oznaczenie, ze względu na okresowe uwalnianie katecholamin z guza, nie ma bezwzględnej wartości diagnostycznej [38].

Oznaczanie stężenia adrenaliny i noradrenaliny w osoczu ma znacznie mniejszą czułość (69%) i swoistość (86%). Przez 4 godziny przed pobraniem krwi pacjent nie powinien palić papierosów, ponieważ może w ten sposób spowodować **falszywie dodatni** wynik oznaczenia.

Pomiar dobowego wydalania kwasu wanilino-migdałowego z moczem może dostarczyć wyników **falszywie dodatnich** z uwagi na nieswoistość większości stosowanych metod. Na wynik badania wpływają: dieta zawierająca inhibitory hydroksylazy tyrozynowej (2 dni przed zbiórką moczu i w trakcie zbiórki nie należy spożywać bananów, serków waniliowych, pieczywa cukierniczego, ciast, czekolady, kawy, owoców cytrusowych), niektóre leki oraz intensywny wysiłek fizyczny, a także silny stres w okresie poprzedzającym badanie (analogicznie do wyżej wymienionych czyn-

ników). Wiadomo również, że zwiększone wydalanie tego metabolitu stwierdza się tylko u 60–70% badanych chorych z *pheochromocytoma*, co może być przyczyną wyników **falszywie ujemnych**.

### Chromogranina A

Oznaczanie chromograniny A (CgA) poza guzami z grupy GEP-NET może mieć znaczenie w diagnostyce *pheochromocytoma* i innych schorzeń (*neuroblastoma*, raku drobnokomórkowym płuc, raku rdzeniastym tarczycy, raku prostaty) [39]. Kilkakrotne zamrażanie i rozmrażanie nie uszkadza cząsteczki CgA, co czyni ją wygodnym markerem.

Stężenie CgA nie zależy od płci i wieku, natomiast warto pamiętać, że po posiłku jej stężenie wzrasta — z tego powodu krew powinna być pobrana na czczo, co najmniej 8 godzin po ostatnim posiłku.

Należy upewnić się, że pacjent nie stosuje leków, które mogą w istotny sposób wpływać na produkcję lub uwalnianie CgA z licznie rozsianych w przewodzie pokarmowym komórek enterochromafinowych. Należą do nich między innymi inhibitory pompy protonowej (np. omeprazol), po których stężenie CgA może wzrastać nawet do wartości obserwowanych w GEP NET z przerzutami do wątroby. Powyższy efekt zależy od czasu stosowania tych leków i od indywidualnej reakcji pacjenta, dlatego, o ile to możliwe, zaleca się odstawienie tych leków co najmniej 7–14 dni przed pobraniem krwi na CgA. Podwyższone stężenie CgA występuje również w trakcie terapii inhibitorami receptorów H2 (np. ranitydiny, cymetydiny) oraz w trakcie stosowania glikokortykosteroidów (mogą spowodować nawet 2-krotny wzrost stężenia CgA). Stany przebiegające z podwyższonymi wartościami chromograniny A w osoczu towarzyszą wielu chorobom internistycznym [40] (tab. VIII)

Z uwagi na liczne ograniczenia oraz niską wiarygodność diagnostyczną nie zaleca się oceny chromograniny w przypadku podejrzenia *phaeochromocytoma*.

Nawet „nieme klinicznie”, nierozpoznane guzy chromochłonne mogą być przyczyną przełomu nadciśnieniowego, na przykład w trakcie operacji. Biorąc pod uwagę fakt, że w około 25% przypadków *phaeochromocytoma* może mieć uwarunkowanie genetyczne (zwłaszcza u młodych chorych, ze zmianami obustronnymi lub w lokalizacji pozanadnerczowej), należy u tych pacjentów rozważyć badania genetyczne pod kątem: zespołu mnogiej gruczołowatości wewnątrzwydzielniczej typu 2 (MEN 2, *multiple endocrine neoplasia*) choroby von Hippa i Lindaua (VHL, *von Hippa-Lindau disease*) oraz rodzinnego zespołu guza chromochłonnego i przyzwojaków (zespół PPS, *pheochromocytoma — paraganglioma syndrome*).

**Tabela VIII. Choroby przebiegające z podwyższonym stężeniem CgA**

Endokrynologia	Nadczynność/niedoczynność tarczycy, guzy przysadki, rak rdzeniasty tarczycy, GEP NET, hiperkortykozelemia, stany wzmożonego napięcia układu sympatycznego
Kardiologia	Ostre zespoły wieńcowe, niewydolność serca, guzkowe zapalenie tętnic, nadciśnienie tętnicze
Pulmonologia	POCHP, przewlekłe zapalenie oskrzeli
Nefrologia	Niewydolność nerek — przy stężeniu kreatyniny $\geq 4$ mg/dl stężenia CgA mogą dochodzić do wartości obserwowanych w NET
Gastroenterologia	Zanikowy nieżyt błony śluzowej żołądka typu A, choroba Crohna, nieswoiste zapalenia jelit, nowotwory wątroby, trzustki, okrężnicy
Reumatologia	Reumatoidalne zapalenie stawów
Onkologia	Rak piersi, rak jajnika, rak prostaty, rak drobnokomórkowy płuc, neuroblastoma

### Miarodajna diagnostyka w kierunku hiperaldosteronizmu pierwotnego (ocena aldosteronemii, aktywności reninowej osocza (ARO) i wskaźnika aldosteronowo-reninowego (ARR))

U chorych z przypadkowo wykrytym guzem nadnercza z nadciśnieniem tętniczym i/lub z hipokaliemią, ale także u tych z normokaliemią, należy przeprowadzić diagnostykę w kierunku pierwotnego hiperaldosteronizmu (zespołu Conna, PA, *primary aldosteronism*) [41]. Testem przesiewowym jest oznaczenie wskaźnika aldosteronowo-reninowego (ARR, *aldosterone-to-renin ratio*) wyrażającego stosunek stężenia aldosteronu do aktywności reninowej osocza (ARO). Wartość ARR wynosząca  $> 20$ – $30$ , przy zwiększonym stężeniu aldosteronu przemawia za hiperaldosteronizmem. Stężenie aldosteronu powinno być oznaczone w warunkach normonatremii (dieta bogatosodowa przez 3 dni, potwierdzona wydalaniem Na 200 mmol/d. z moczem) oraz normokaliemii.

Aktywność reninowa osocza jest pośrednim wskaźnikiem wydzielania reniny — określa ilość wytworzonej angiotensyny I (ANG I) z 1 ml krwi w ciągu 1 h inkubacji w kontrolowanych warunkach. U osób zdrowych wartość ARO zależy między innymi od pozycji ciała i podaży soli w diecie. Istnieje wiele bodźców fizjologicznych i farmakologicznych modyfikujących stężenie aldosteronu i ARO, co wpływa pośrednio na wartość ARR (tab. IX)

Warto pamiętać, że u kobiet stosujących doustne środki antykoncepcyjne lub hormonalną terapię zastępczą (HTZ) preferuje się ocenę ARO nad DRC (bezpośrednim pomiarem reniny), ponieważ preparaty te mogą zaniżyć pomiar RDC (w mniejszym stopniu również ARO), a także mogą **falszywie podwyższyć** wynik ARR. Ponadto u kobiet w fazie lutealnej z po-



**Tabela IX. Bodźce fizjologiczne i farmakologiczne wpływające na wartość ARR**

Rodzaje bodźców	ARR
Fizjologiczne	
Pionizacja	↑
Pora dnia (poranny wpływ ACTH)	↑
Dieta ubogosodowa	↓
Cykl miesięczny (faza lutealna)	↑
Pogorszenie funkcji nerek, po 65 r.ż.	↑
Hipokaliemia	↓
Farmakologiczne	
Beta-adrenolityki, $\alpha$ 2-agoniści	↑
Niesteroidowe leki przeciwzapalne	↑
Diuretyki	↓
Dihydropirydynowi antagoniści wapnia	↓
ACE-I, antagoniści receptora AT2	↓
Progestageny	↓

wodu anty-mineralokortykoidowego działania progesteronu następuje wzrost stężenia aldosteronu i ARO, co w konsekwencji powoduje możliwy **falszywie zaniżony** wynik ARR, który niejednokrotnie jest przyczyną niepotrzebnej diagnostyki. Postuluje się wprowadzenie odrębnych norm aldosteronu, ARO i ARR nie tylko dla kobiet i mężczyzn, ale również uzależnionych od fazy cyklu miesiączkowego [42].

Podczas interpretacji ARR należy brać pod uwagę wpływ przyjmowanych leków [43, 44]. Przed planowaną diagnostyką konieczna jest modyfikacja terapii hipotensyjnej. Wymaga ona odstawienia leków, które mogą w istotny sposób kształtować wynik przeprowadzonych badań. Aby uniknąć fałszywie ujemnych wyników, należy na 4–6 tygodni przed badaniem odstawić preparaty antagonistów aldosteronu (spironolakton, eplerenon), diuretyki oszczędzające potas (amiloryd, triamteren), preparaty lukrecji; na 2–4 tygodnie — leki z następujących grup: inhibitory konwertazy angiotensyny II (ACE-I), sartany, inhibitory reniny (aliskiren), antagoniści kanałów wapniowych (pochodne dihydropirydynowe),  $\beta$ -adrenolityki,  $\alpha$ 2-adrenomimetyki (wyniki fałszywie ujemne). O ile to możliwe należy zastąpić je najlepiej długodziałającymi antagonistami wapnia (werapamil o przedłużonym uwalnianiu, prazosyna — Polpressin, terazosyna — Hytrin,  $\alpha$ 1-adrenolitykami — klonidyna — Iporel; hydralazyna), które minimalnie wpływają na wartość ARR.

Aby uniknąć fałszywie negatywnego wyniku ARR, należy również przerwać terapię progestagenami na minimum 4 tygodnie oraz nie przyjmować NLPZ. Obniżoną wartość ARO i stężenia aldosteronu stwierdza się natomiast w następujących sytuacjach klinicznych:

u osób po 65 roku życia, z upośledzoną funkcją nerek, nefropatią cukrzycową, w pierwotnej niewydolności kory nadnerczy, w gruźlicy, we wrodzonym przerostie nadnerczy.

### **Stężenie androgenów nadnerczowych (DHEA-S, DHEA, testosteron)**

Około 5% AI stanowią raki kory, z których czynność hormonalną stwierdzamy w około 2/3 przypadków [45]. Najczęściej wywołują gwałtownie postępującą ACTH-niezależny zespół Cushinga, zespół hiperandrogenizacji (u kobiet) lub zespół feminizacji (u mężczyzn). W tych przypadkach istotne znaczenie ma oznaczenie stężenia hormonów płciowych — androstendionu, testosteronu, siarczanu dehydroepiandrosteronu (DHEA-S), a u mężczyzn z cechami feminizacji — również estradiolu.

Głównymi androgenami nadnerczowymi są DHEA i DHEA-S (w nadnerczach powstaje 95% tych hormonów). Testosteron jest wydzielany przez nadnercza w znikomych ilościach. W diagnostyce endokrynologicznej wykorzystujemy stężenie DHEA-S z powodu braku wahań dobowych oraz długiego okresu półtrwania (> 20 h).

Badanie androgenów nadnerczowych może być zlecone u kobiet z objawami hiperandrogenizacji — brakiem miesiączki, niepłodnością, hirsutyzmem, łysieniem, trądzikiem. Zaleca się wówczas także oznaczenie testosteronu całkowitego i 17(OH)-progesteronu. Wysokie wartości tych androgenów (TC > 200 ng/dl, DHEA-S > 800 ug/dl, 17-OH-progesteronu) mogą towarzyszyć rakom nadnercza i wymagają różnicowania z zespołem policystycznych jajników oraz wrodzonym przerostem nadnerczy.

Wartym podkreślenia pozostaje fakt, że w niektórych przypadkach raka kory nadnerczy, niewykazującego czynności hormonalnej, stężenie DHEA-S może być prawidłowe. Podwyższone lub obniżone wartości DHEA-S stwierdzamy zaś w różnych sytuacjach klinicznych (tab. X).

W celu zróżnicowania przyczyny zespołu androgenizacji u pacjentki z guzem nadnercza można przeprowadzić test hamowania androgenów za pomocą deksametazonu, analizując stężenie kortyzolu, testosteronu i DHEA-S. Oznaczenia dokonujemy po 2 dniach stosowania deksametazonu (DXM) w dawce 0,5 mg p.o. co 6 h — o godz. 8., 14., 20., 2.00. ACTH jest hormonem stymulującym wydzielanie androgenów z warstwy siatkowatej kory nadnerczy. Stężenie DHEA-S i testosteronu ocenia się w 3. dobie, po 2 h od podania ostatniej dawki. Brak zmniejszenia wydzielania DHEA-S i testosteronu przemawia za autonomicznym wydzielaniem androgenów. Zmniejszenie stężenia DHEA-S o > 60% i testosteronu o > 40% prze-

Tabela X. Przyczyny podwyższonego i obniżonego stężenia DHEA-S

Podwyższone wartości DHEA-S	Obniżone wartości DHEA-S
Guz wirylizujący nadnerczy	ACTH-niezależnym zespole Cushinga
ACTH-zależny zespół Cushinga	Anorexia nervosa
Wrodzony przerost nadnerczy	W trakcie długotrwałej steroidoterapii
Zespół oporności na glikokortykosteroidy	Niedoczynność nadnerczy
Zespół policystycznych jajników	We wrodzonym przeroście nadnerczy z niedoboru 17 $\alpha$ -hydroksylazy lub desmolazy cholesterolowej
Osoby przyjmujące suplementy DHEA	

mawia za nadnerczowym pochodzeniem nadmiaru androgenów [46], podczas gdy zmniejszenie stężenia DHEA-S o > 60% i testosteronu o < 40% przemawia za jajnikowym pochodzeniem nadmiaru androgenów.

## Podsumowanie

Dotychczas nie ustalono jednolitego schematu diagnostycznego przypadkowo wykrytych guzów nadnerczy. Biorąc pod uwagę lawinowy wzrost rozpoznań przypadkowo wykrytych guzów nadnerczy oraz konieczność przeprowadzania licznych i kosztochłonnych badań diagnostycznych u w większości przypadków zdrowych pacjentów, opracowanie przejrzystej i zarazem efektywnej ścieżki diagnostycznej staje się pilną koniecznością.

Znajomość ograniczeń przeprowadzanych badań biochemicznych i obrazowych, a zarazem przyczyn uzyskiwania wyników fałszywie dodatnich i fałszywie ujemnych, pozwala na optymalizację procesu diagnostycznego. Jednocześnie może znacząco zmniejszyć liczbę niepotrzebnie przeprowadzanych i często wielokrotnie powtarzanych oznaczeń oraz pozwoli uniknąć kosztów nieuzasadnionej pogłębionej diagnostyki.

Z drugiej jednak strony świadomość czynników wpływających na uzyskiwanie fałszywie ujemnych wyników badań nie spowoduje utraty czujności lekarza w dalszej opiece nad chorym i zmotywuje go do dążenia do postawienia słusznego rozpoznania.