



L'Endocrinologia e la Patologia Clinica: dialogo continuo dalla diagnosi alla terapia

Sabato 22 febbraio 2020

Aula Magna Nuovo Arcispedale S. Anna
Cona, Ferrara

Il Segretario
Dott. M. Vason

Il Presidente
Dott. R. Zoppellari

Sono stati richiesti i crediti formativi ECM
per Medici, Biologi, Farmacisti, Professioni Sanitarie
Sono disponibili attestati di partecipazione per gli studenti in Medicina

Responsabili Scientifici: Dott.ssa E. Montanari ;Prof.ssa M. R. Ambrosio

Segreteria Organizzativa :
MCR Cso Isonzo 53 - 44121 Ferrara Tel 0532.242418 e.mail smc@mcrferrara.org

1^a Sessione Appropriatezza e uso di risorse Il punto di vista dell'endocrinologo

Maria Rosaria Ambrosio

Dipartimento di Scienze Mediche
Sezione di Endocrinologia e Medicina Interna
Università degli Studi di Ferrara

email: mbrmrs@unife.it

EFE 2020



Università
degli Studi
di Ferrara

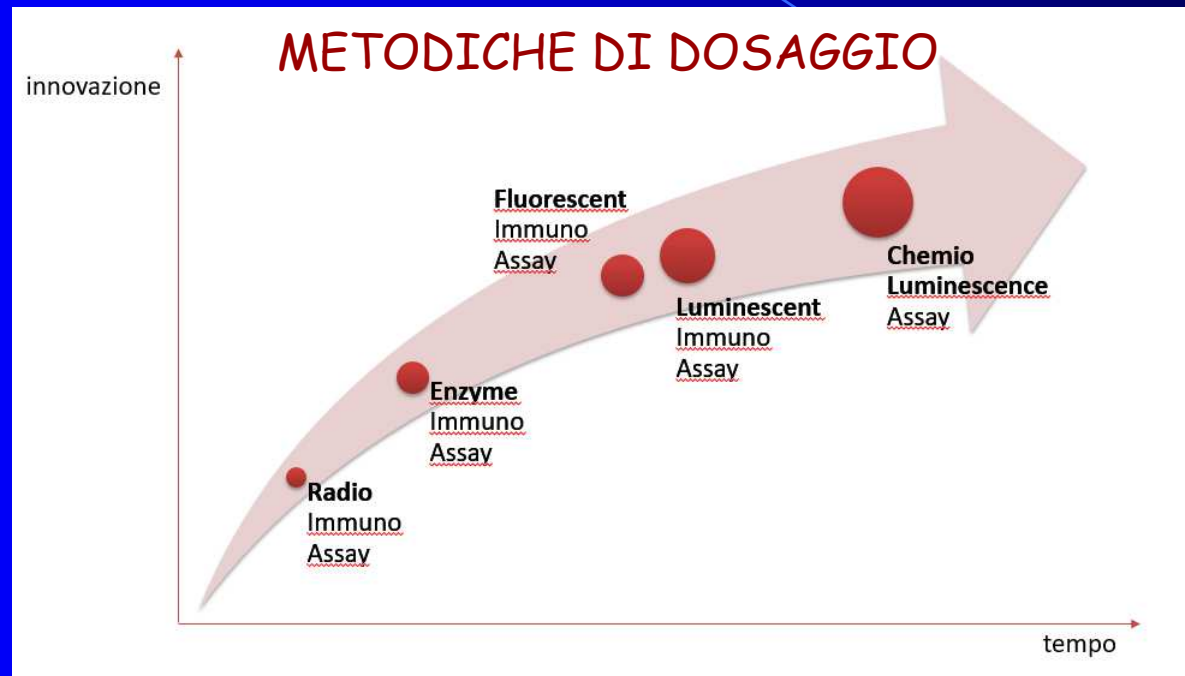
L'Endocrinologia e la Patologia Clinica: dialogo continuo dalla diagnosi alla terapia

Lo sviluppo delle conoscenze dei meccanismi fondamentali dell'Endocrinologia
scoperta dei neuroormoni e dei recettori ormonali, evoluzione del concetto di ormoni liberi
è proceduto insieme ai cambiamenti nelle tecniche di laboratorio per la misurazione degli ormoni

50 years of Nobel Prizes related to endocrinology/hormone assays

1958	Frederick Sanger	Structure of insulin
1966	Charles B. Huggins	Hormonal treatment of prostate cancer
1971	Earl W. Sutherland Jr.	Description of the way hormones work at the molecular level
1977	Rosalyn S. Yalow	Discovery of immunoassays
1977	Roger L. Guillemin Andrew V. Schally	Discovery of hypothalamic releasing hormones
1984	Georges J.F. Köhler	Production of monoclonal antibodies
1992	Edmond H. Fisher Edwin G. Krebs	Discovery of protein kinases mediating the effects of hormones in cells
1994	Alfred G. Gilman Martin Rodbell	G proteins and signal transduction
1998	Robert F. Furchgott	Discovery of nitric oxide as a signaling molecule

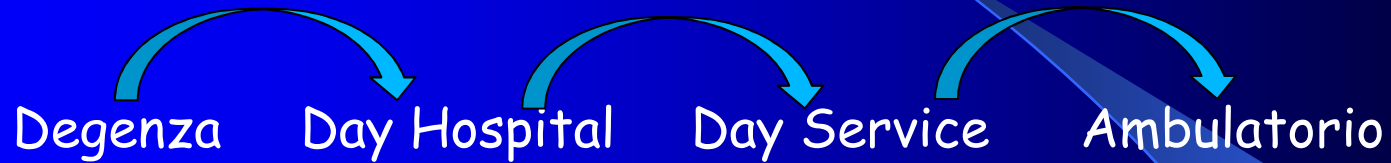
L'Endocrinologia e la Patologia Clinica: dialogo continuo dalla diagnosi alla terapia



Semplificazione Sensibilità Automazione

L'Endocrinologia e la Patologia Clinica: dialogo continuo dalla diagnosi alla terapia

Setting assistenziali



Laboratorio di Endocrinologia

Laboratorio Centralizzato



*L'Endocrinologia e la Patologia Clinica: dialogo continuo
dalla diagnosi alla terapia*

*L'endocrinologia clinica non
può prescindere dalla misura
qualitativa e quantitativa
degli ormoni*



Malattie Endocrine

VALUTAZIONE CLINICA
Anamnesi
Esame Obiettivo

DIAGNOSTICA DI LABORATORIO

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

INDAGINI DI IMAGING

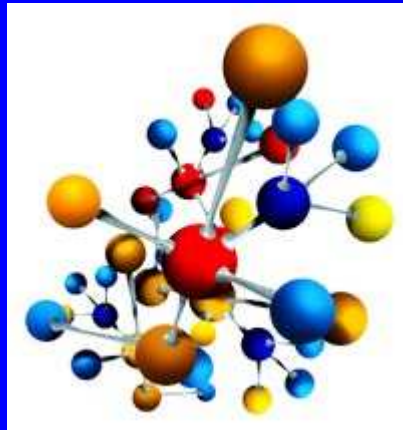
DIAGNOSI

PROGNOSI

TRATTAMENTO

FOLLOW-UP

INDAGINI di LABORATORIO



CORRETTA INDICAZIONE

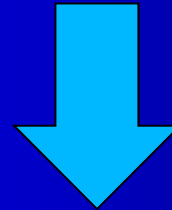
SCRUPOLOSA ESECUZIONE



INTERPRETAZIONE dei RISULTATI



APPROPRIATEZZA



*Test di laboratorio il cui risultato fornisce una
risposta ad un quesito clinico e mette in grado di
prendere una decisione o intraprendere un'azione*

Indicazione NON appropriata



Difficoltà di interpretazione

Induzione di ulteriori esami

Aumento spesa

Inappropriato consumo di risorse

Probabilità pre-test

- *segni e i sintomi clinici suggeriscano la malattia al giudizio clinico*
- *elementi anamnestici che indicano la diagnosi*
- *incidenza della malattia in una determinata popolazione*



QUESTO TEST mi aiuterà nella diagnosi?

QUESTO TEST mi aiuterà nel trattamento?

ANALISI DI LABORATORIO

- *Ormoni liberi o totali*
 - *Metaboliti*
 - *Proteine leganti*
 - *Anticorpi Circolanti*
- *SANGUE*
 - *URINE*
 - *SALIVA*
 - *CAPELLI*
 - *Liquidi Biologici*
 - *DNA*



*In condizioni basali
dinamiche
dopo Stimolo
dopo Inibizione*

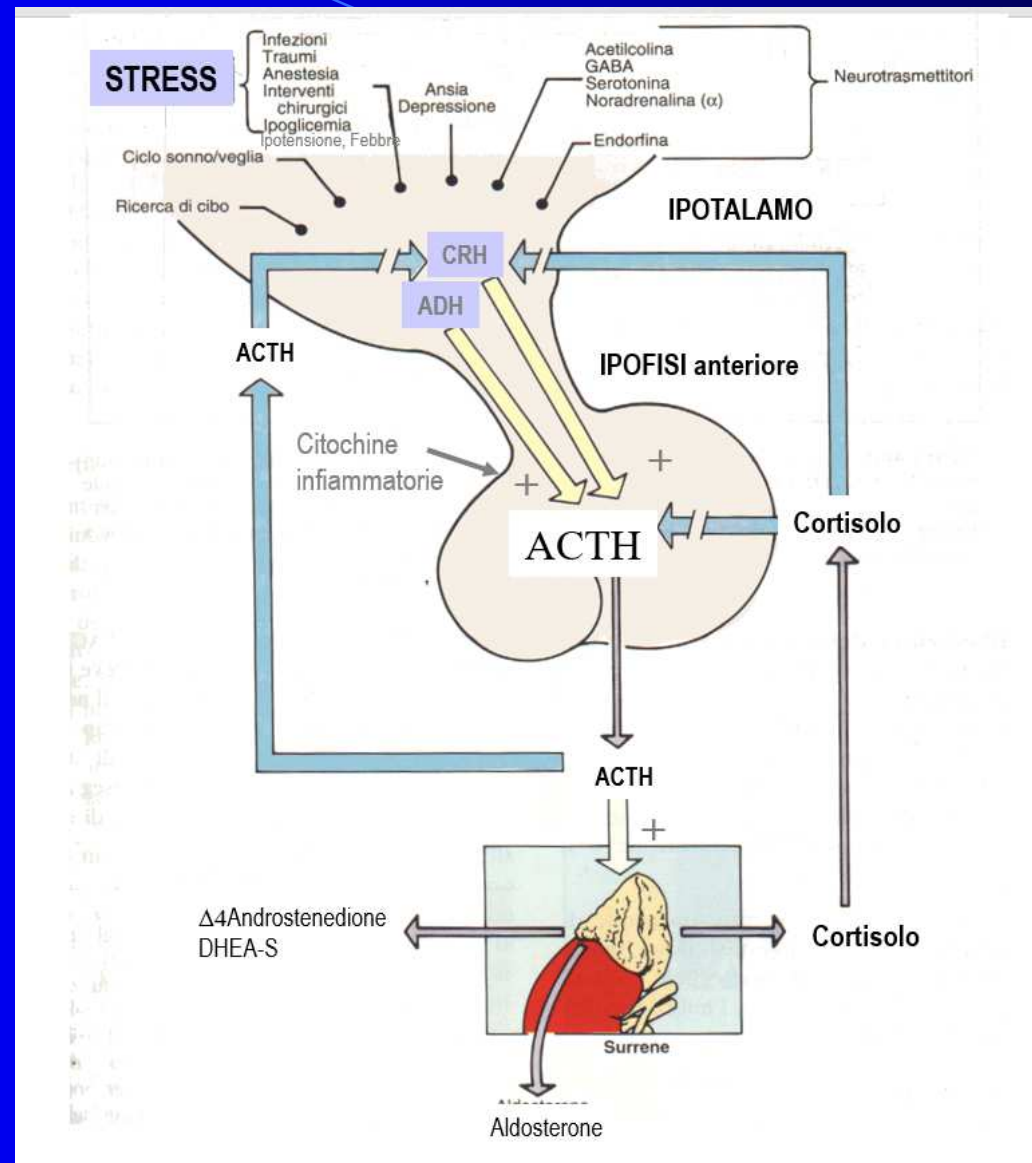
*Spot
Raccolte 24ore*

FATTORI CHE INFLUENZANO IL RISULTATO DI UN DOSAGGIO ORMONALE

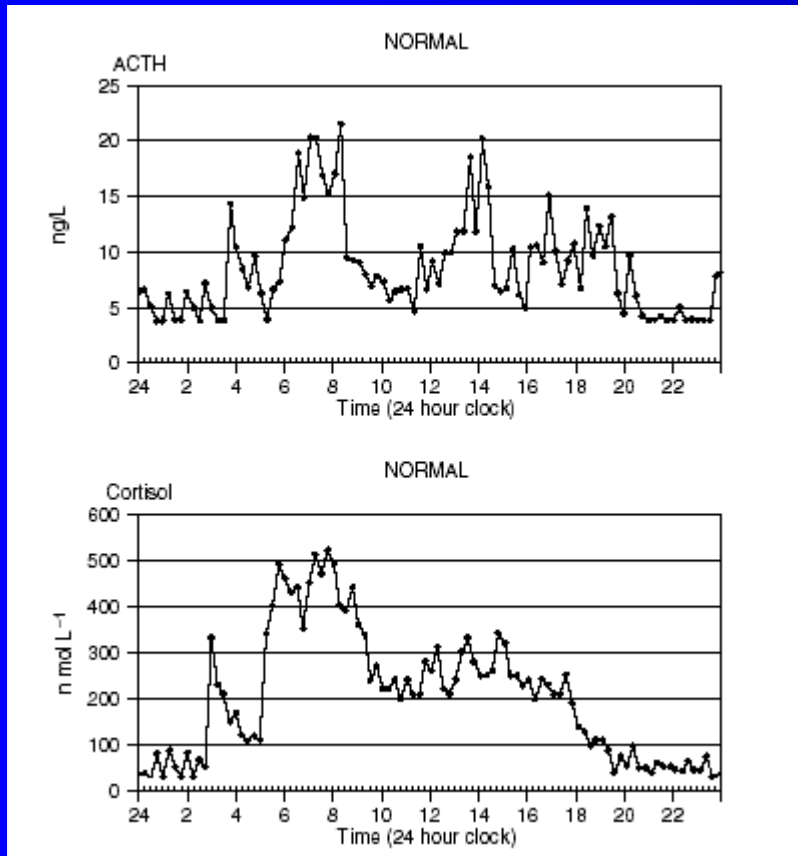


- *ETA'*
- *SESSO*
- *ORA DEL PRELIEVO*
- *RITMO CIRCADIANO*
- *PULSATILITA'*
- *MECCANISMI DI REGOLAZIONE*
- *MECCANISMI DI FEEDBACK*
- *GRAVIDANZA*
- *ESERCIZIO FISICO*
- *STATO EMOTIVO*
- *FUNZIONE EPATICA E RENALE*
- *PRESENZA DI ALTRE MALATTIE*
- *TERAPIE IN ATTO*

L'Endocrinologia e la Patologia Clinica: dialogo continuo dalla diagnosi alla terapia



Ritmo circadiano e pulsatilità di ACTH e cortisolo



ACTH: secreto in maniera pulsatile e con ritmo circadiano, con i livelli più alti al risveglio (mattino) ed il nadir alla sera

Il ritmo è mediato da una maggior ampiezza dei pulsati di ACTH tra le 5 e le 9 del mattino, minor ampiezza tra le 18 e le 24.

Dipende dai cicli notte-giorno e sonno-veglia.

E' alterato nelle persone che lavorano di notte e dai viaggi con diversi fusi orari

Il ritmo del cortisolo segue quello di ACTH

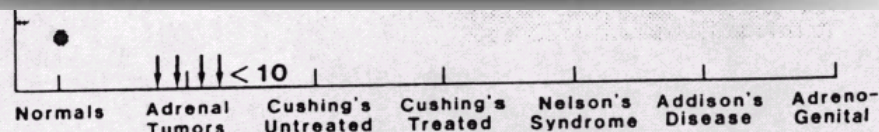
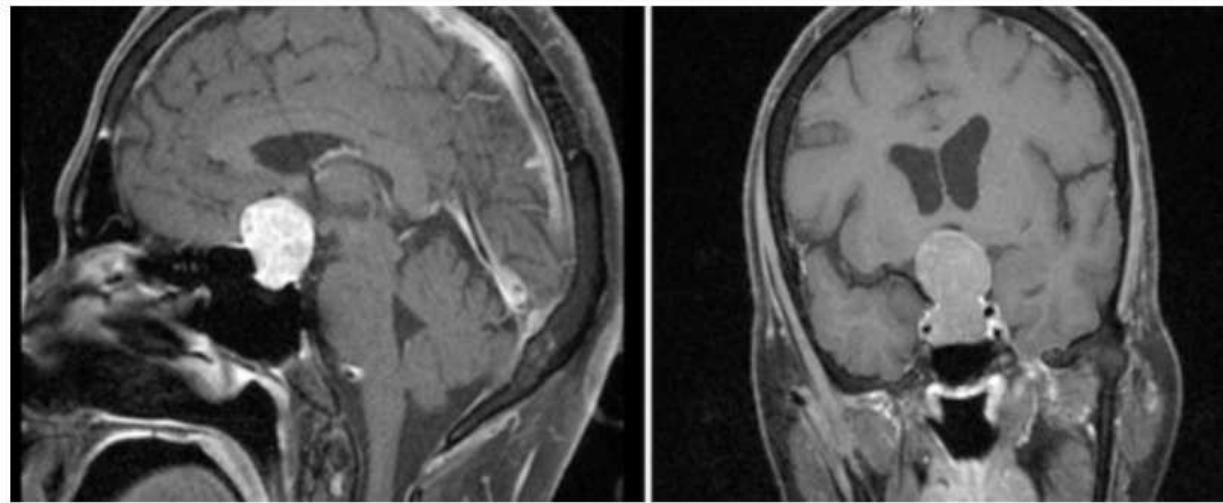
- picco tra le 7 e le 9 del mattino*
- nadir verso la mezzanotte*

ACTH e cortisolo sono stimolati anche dal pasto

L'Endocrinologia e la Patologia Clinica: dialogo continuo dalla diagnosi alla terapia

Determinazione dell'ACTH plasmatico Prelievo di sangue ore 8 (7-9 del mattino)

SINDROME DI NELSON

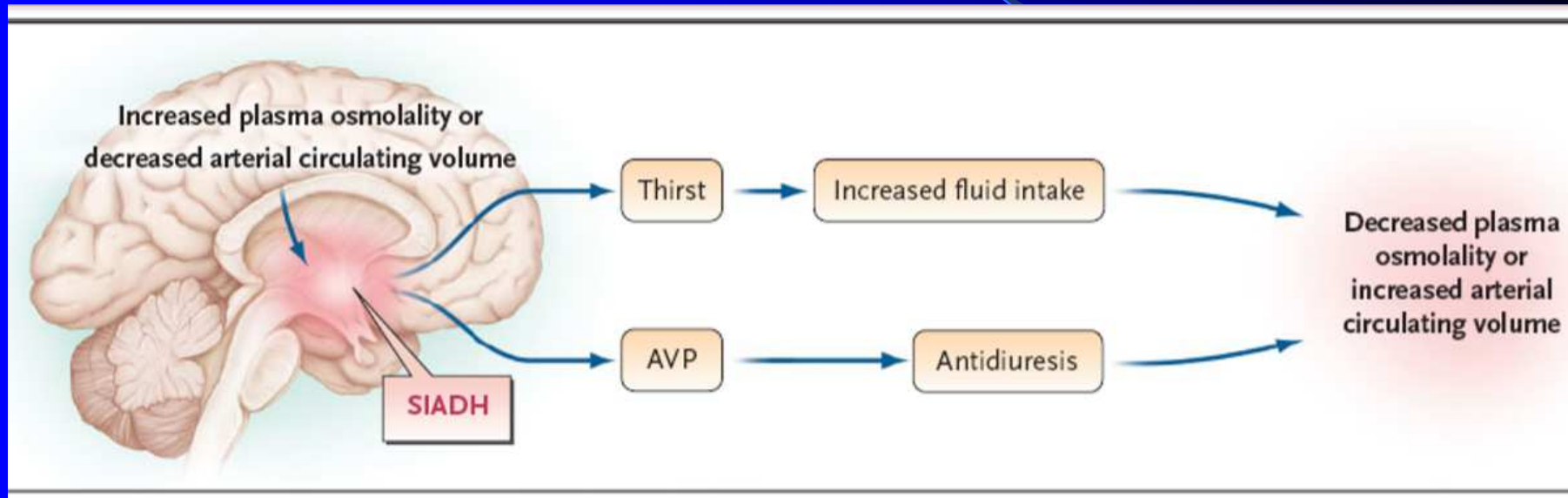


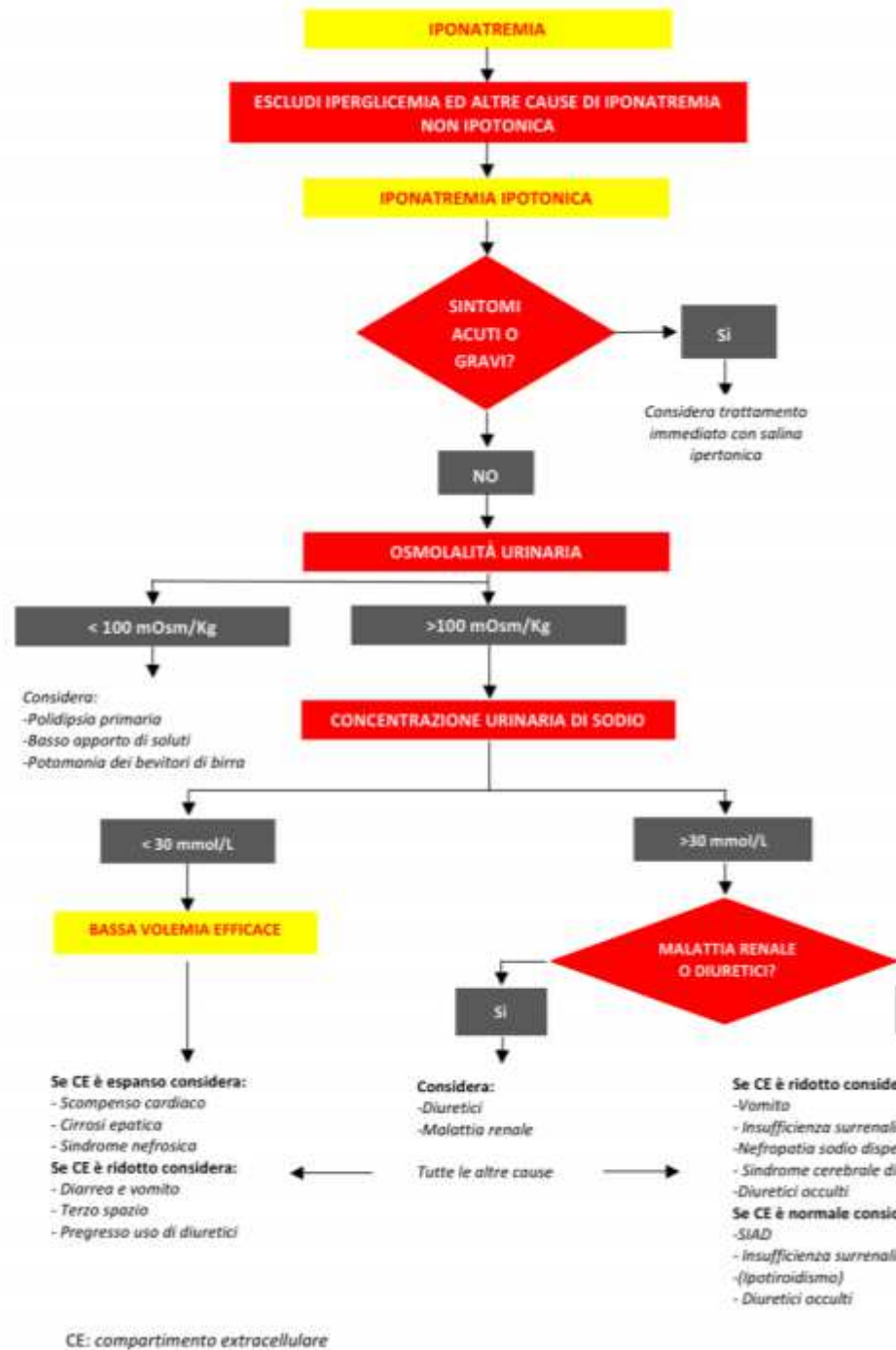
Indicazione: Livelli ACTH nelle patologie del corticosurrene

- diagnosi di sede per gli iposurrenalismi*
- diagnosi differenziale degli ipercortisolismi*

EFE 2020

ORMONE ANTIDIURETICO





Clinical practice guideline on diagnosis

2.3 Which parameters to use for differentiating causes of hypotonic hyponatraemia? (Fig. 1)

We recommend interpreting urine osmolality of a spot urine sample as a first step. (1D)

If urine osmolality ≤ 100 mOsm/kg, we recommend accepting relative excess water intake as a cause of the hypotonic hyponatraemia. (1D)

If urine osmolality > 100 mOsm/kg, we recommend interpreting the urine sodium concentration on a spot urine sample taken simultaneously with a blood sample. (1D)

If urine sodium concentration ≤ 30 mmol/L, we suggest accepting low effective arterial volume as a cause of the hypotonic hyponatraemia. (2D)

If urine sodium concentration > 30 mmol/L, we suggest assessing extracellular fluid status and use of diuretics to further differentiate likely causes of the hyponatraemia. (2D)

We suggest against measuring vasopressin for confirming the diagnosis of SIADH. (2D)

Spasovski G Eur Jour of Endocrinol. 2014

ADH ↑



Cosa dovrebbe sapere un
endocrinologo clinico
circa i dosaggi ormonali?

METODO di DOSAGGIO "PERFETTO"

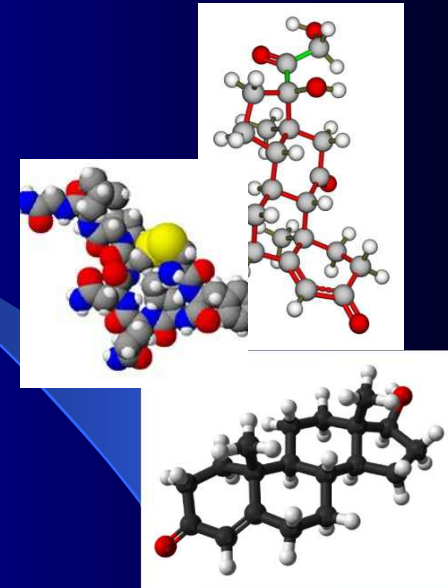
*metodo che fornisce sempre lo stesso risultato per quell 'analita,
in quel campione biologico, indipendentemente dal numero delle
volte che quel test viene ripetuto e dal laboratorio che effettua il
dosaggio*



*Questa condizione analitica è
ovviamente teorica*

ORMONI

- Composti chimici di varia natura
(steroidi, piccoli peptidi, proteine)*
- Presenti nei fluidi biologici con matrici
biologiche complesse e eterogenee*
- Concentrazioni estremamente basse*
- Presenza di proteine leganti*
- Varie isoforme*



Heterogeneity of growth hormone molecules

Approximate mean distribution of pituitary GH isoforms in human blood 15-30 min after a secretory pulse

Monomeric GH	
22K GH	
Free	22%
Bound to high affinity GHBP	21%
Bound to low affinity GHBP (α_2 -macroglobulin)	2%
Total 22K GH	45%
20K GH	
Free	2%
Bound to high affinity GHBP	0.5%
Bound to low affinity GHBP (α_2 -macroglobulin)	2%
Total 20K GH	5%
Acidic GH (desamido-, acylated and glycosylated GH)	
Total acidic forms (bound fractions unknown)	5%
Dimeric GH	
22K GH Dimers	
Non-covalent dimers	14%
Disulfide dimers	6%
Total 22K GH dimers (bound fractions unknown)	20%
20K GH Dimers	
Non-covalent dimers	3%
Disulfide dimers	2%
Total 20K GH (bound fractions unknown)	5%
Acidic GH Dimers (desamido-, acylated and glycosylated GH)	
Non-covalent dimers	1.5%
Disulfide dimers	0.5%
Total acidic GH dimers (bound fractions unknown)	2%
Oligomeric GH (trimer-pentamer)	
22K GH Oligomers	
Non-covalent oligomers	7%
Disulfide oligomers	3%
Total 22 K GH oligomers (bound fractions unknown)	10%
20K GH Oligomers	
Non-covalent oligomers	1%
Disulfide oligomers	0.5%
Total 20K GH oligomers (bound fractions unknown)	2%
Acidic GH Oligomers (desamido-, acylated and glycosylated GH)	
Non-covalent oligomers	1%
Disulfide oligomers	0.5%
Total acidic GH oligomers (bound fractions unknown)	2%
Fragments (12, 16 and 30 KDa immunoreactive species)	variable

Heterogeneity of GH assays

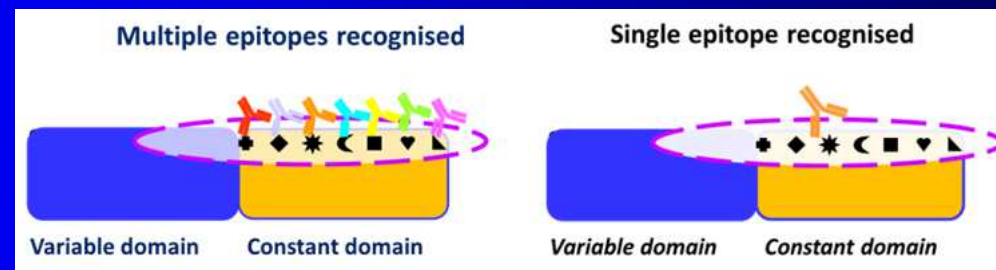
Methods

Radioimmunoassay

Immunoradiometric assay

Enzyme-linked immunosorbent assay

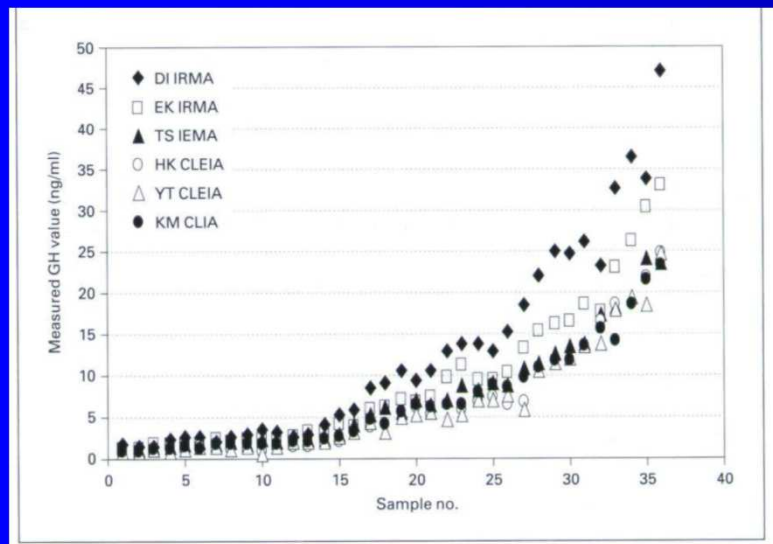
- choice of antibody*
- polyclonal vs. monoclonal*
- specificity of antibody recognition of different GH isoforms*
some assays use 22-kDa-specific antibodies, while others detect all isoforms



*Assays involving polyclonal antisera usually give higher results than
those based on monoclonal assays*

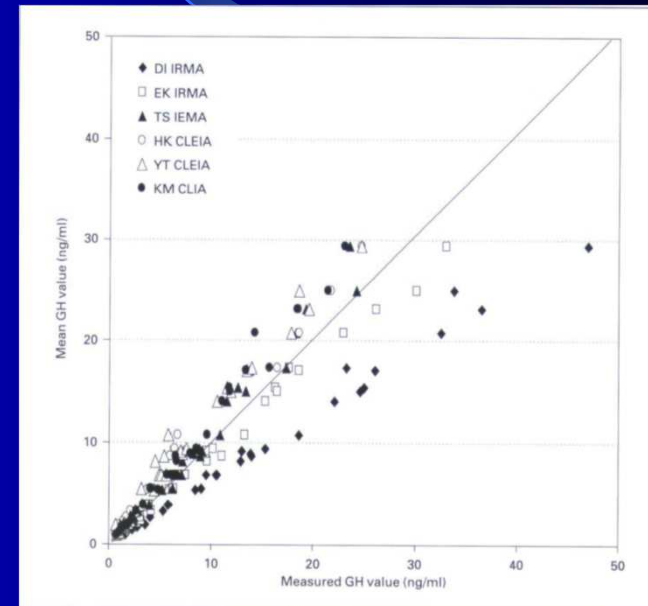
Heterogeneity of GH assays

GH values measured according to kit standards



*The GH values measured by the six hGH kits varied widely by approximately two fold
 DI IRMA and EK IRMA >> values
 TS IEMA and HK CLEIA << values*

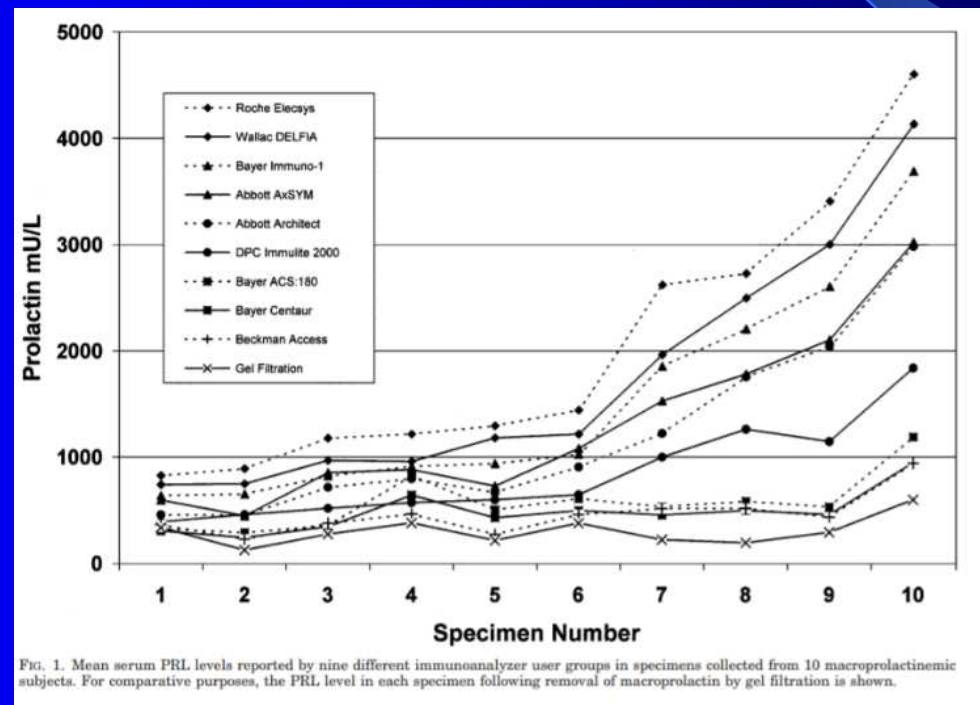
Relationship between measured GH values and mean GH values



Interassay variation → 35%

Iperprolattinemia: diagnosi

Gross Variability in the Detection of Prolactin in Sera Containing Big Big Prolactin (Macroprolactin) by Commercial Immunoassays



Across the nine assay systems, differences in the PRL estimates ranged from 2.3- to 7.8-fold

Iperprolattinemia: diagnosi

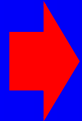
Serum prolactin overestimation and risk of

Background: Falsely elevated prolactin measurements risk overdiagnosis, and unnecessary imaging and treatment.

Design: We conducted a clinical audit of 18 patients who presented with hyperprolactinaemia, followed by a laboratory audit of 40 split samples across a range of serum prolactin (5-5051 mIU/L). In each case (total n = 58), serum prolactin was measured on both Roche and Siemens platforms.

Results: Serum prolactin as measured by Roche was higher than the corresponding Siemens value in every case, despite similar reference ranges. The mean discrepancy in serum prolactin by Roche vs. Siemens was +81% in the clinical audit and +50% in the laboratory audit. This led to unnecessary interventions in 7/18 patients (39%) in the clinical audit.

Conclusions: Serum prolactin is overestimated on the Roche relative to the Siemens platform. Laboratories should review Roche reference intervals for serum prolactin, and clinicians should consider repeating serum prolactin on another platform if the serum prolactin is incongruent with the clinical scenario.



**Guidelines for Growth Hormone and Insulin-Like
Growth Factor-I Treatment in Children and
Adolescents: Growth Hormone Deficiency,
Idiopathic Short Stature, and Primary Insulin-Like
Growth Factor-I Deficiency**

2.2.2. Given the large discrepancies between GH assays, we recommend that institutions require laboratories to provide harmonized GH assays using the somatropin standard, IRP IS 98/574, 22k rhGH isoform, as recommended by the 2006 and 2011 consensus statements, and the published commutability standards. (Strong recommendation, ●●●●)

*Serum GH concentrations are currently measured using a variety of methods against a variety of standards
Normal values were established using polyclonal radioimmunoassays and purified pituitary standards. Currently used immunometric assays with monoclonal antibodies and recombinant standards have higher specificity, but the use of different standards and antibodies with specificities for different GH isoforms has resulted in large discrepancies between assays
Therefore, **standardization** or, at least, **harmonization** is required to meaningfully evaluate and compare results*

Evaluation and Treatment of Adult Growth Hormone Deficiency: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline

2.1 Recommendation

We recommend that the ITT and the GHRH-arginine test have sufficient sensitivity and specificity to establish the diagnosis of GHD

2.1 Remarks

*Biochemical criteria for the diagnosis of AGHD are complicated by the lack of normative data that are age-, sex-, and BMI-adjusted; by assay variability; and by the stimulus used. With **polyclonal RIA**, the cutoff values for stimulated GH levels for diagnosing AGHD were established at levels between 3 and 5 g/liter*

*Whether lower cutoffs should be used with the newer, more sensitive, two-site assays has not been definitively determined. Still, according to the multicenter study cited above, which used a sensitive, **immunochemiluminescent** two site assay, the values of 5.1 g/liter for the ITT and 4.1 g/liter for GHRH-arginine test had sufficient specificity and sensitivity for the diagnosis of AGHD*



ITALIAN CHAPTER

ITALIAN ASSOCIATION OF CLINICAL ENDOCRINOLOGISTS (AME) and ITALIAN
AAACE CHAPTER POSITION STATEMENT FOR CLINICAL PRACTICE:
ACROMEGALY - PART 1: DIAGNOSTIC AND CLINICAL ISSUES

Renato Cozzi¹, Maria Rosaria Ambrosio², Roberto Attanasio³, Alessandro Bozzao⁴,
Laura De Marinis⁵, Ernesto De Menis⁶, Edoardo Guastamacchia⁷, Andrea Lania⁸,
Giovanni Lasio⁹, Francesco Logoluso¹⁰, Pietro Maffei¹¹, Maurizio Poggi¹²,
Vincenzo Toscano¹², Michele Zini¹³

3. DIAGNOSTIC ISSUES

3a. HORMONAL TESTS

3a.I. How to diagnose acromegaly

Since GH secretion is pulsatile, random GH levels should not be used to diagnose acromegaly (21,22). In order to facilitate comparability and interpretation, the use of GH assays is now recommended, which are calibrated with the recombinant 22 kDa hGH International Reference Preparation 98/574 (19,21).

*Clear-cut high GH and IGF-I levels are sufficient to diagnose acromegaly. In the case of non-conclusive IGF-I values, it is advisable to repeat the measurement in the same laboratory or in another laboratory that uses a different assay. Otherwise, the diagnosis should be confirmed by an oral glucose tolerance test (OGTT). OGTT is an easy, cost-effective diagnostic tool that can support the diagnosis of difficult cases and characterize the glucose metabolism status at the same time (17,22). **The combination of a lack of suppression of GH (below 1 ng/mL or even less, as low as 0.2 ng/mL, if ultrasensitive methods are employed) (23,24) and high IGF-I levels for age and sex are considered as diagnostic of acromegaly (17,22).***

Standardizzazione e armonizzazione

hanno l'obiettivo di assicurare la confrontabilità dei risultati ottenuti da laboratori e metodi diversi e l'ottenimento di valori di riferimento comuni



Standardizzazione

secondo la Norma ISO 17511, può essere ottenuta rendendo tracciabili i risultati rispetto ad uno standard comune, rappresentato dalle unità del sistema SI o rispetto a valori ottenuti con una precedente misura di riferimento

Armonizzazione

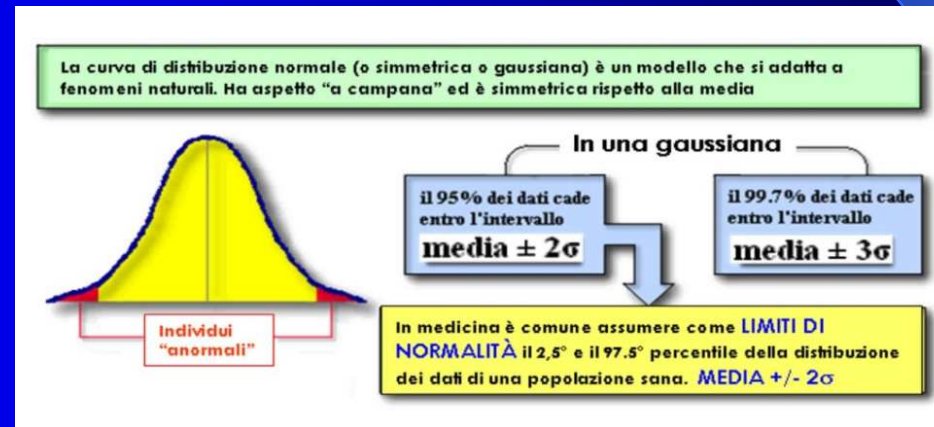
equivalenza dei risultati ottenuta attraverso un sistema di consenso o tracciabilità rispetto a un materiale di riferimento, ma non sono disponibili né una procedura analitica di riferimento né un materiale primario di riferimento di elevato ordine metrologico



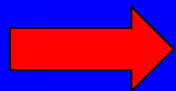
Valori di riferimento

L'intervallo di riferimento

- è un insieme di valori, delimitati da un limite inferiore ed un limite superiore, entro il quale è possibile racchiudere una serie di risultati di laboratorio eseguiti su un campione di persone sane



- può dipendere da fattori come età, sesso, stadio puberale tipo di campione stadio digiuno attività fisica etnia



ma anche dai metodi di dosaggio

L'Endocrinologia e la Patologia Clinica: dialogo continuo dalla diagnosi alla terapia

*Alcuni esami non hanno in intervallo di riferimento ma dei
valori limite:*

"limiti decisionali" possono essere utilizzati per decidere
se un paziente è sano o necessita di un trattamento

Ma queste informazioni sono date al clinico?

I referti di laboratorio

riportano le informazioni relative al metodo dosaggio?

quali range di normalità sono considerati?

quali limiti decisionali?

sono in serite le variabilità legate al sesso e all'età?

L'Endocrinologia e la Patologia Clinica: dialogo continuo dalla diagnosi alla terapia

Armonizzazione in laboratorio: verso una visione globale

Tabella 1

Armonizzazione in Medicina di Laboratorio come un processo a tre livelli. Adattata da rif .3.

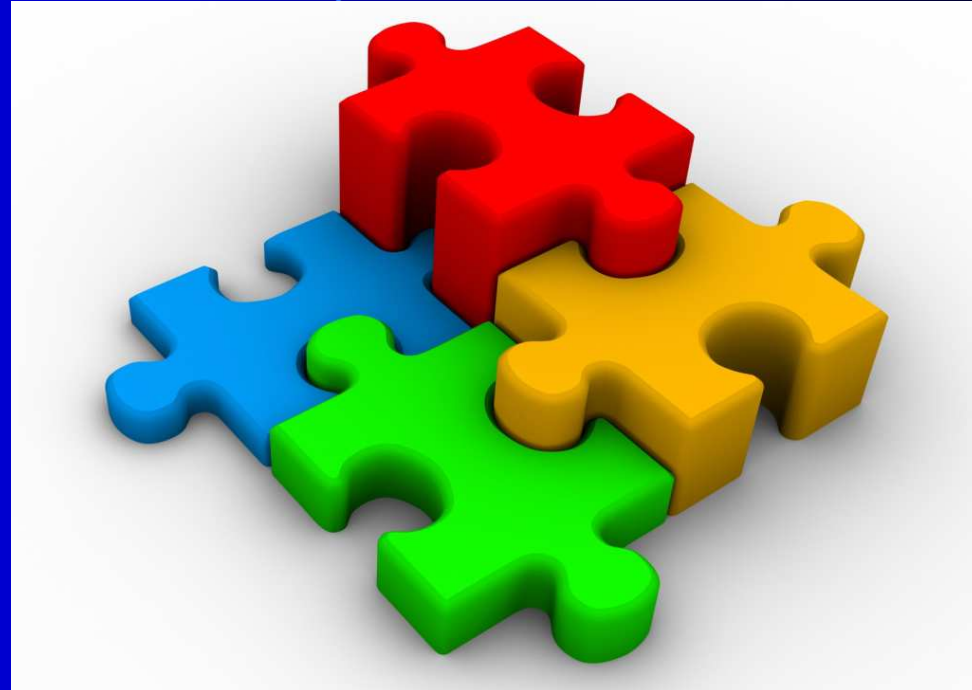
-
- Livello internazionale: standardizzazione attraverso l'implementazione di sistemi di riferimento delle misure; definizione di linee guida cliniche che includono appropriatezza della richiesta di esami e corretta interpretazione dei risultati degli stessi.
 - Livello nazionale: diffusione delle linee guida sviluppate a livello internazionale; preparazione e pubblicazione di raccomandazioni per l'armonizzazione di tutte le fasi del processo diagnostico di laboratorio, inclusa la comunicazione dei risultati e dei valori critici.
 - Livello locale: adozione delle raccomandazioni internazionali e nazionali; implementazione (meglio se coordinata) delle indicazioni per armonizzare unità di misura, intervalli di riferimento, livelli decisionali; implementazione di procedure standard condivise per le fasi pre- e post-analitica.
-

L'Endocrinologia e la Patologia Clinica: dialogo continuo dalla diagnosi alla terapia

Processo di laboratorio e visione globale della sua armonizzazione



- *segni e i sintomi clinici*
- *elementi anamnestici*
- *sospetto clinico*
- *incidenza della malattia*



*Donna di 52 anni, oligomenorrea presente da circa 1 anno e cefalea.
In anamnesi nessuna patologia di rilievo. Non assume farmaci.
Attività lavorativa: macellaia
Ex fumatrice, no alcol.
Assenza di galattorrea spontanea e provocata; non ipertricosi.*

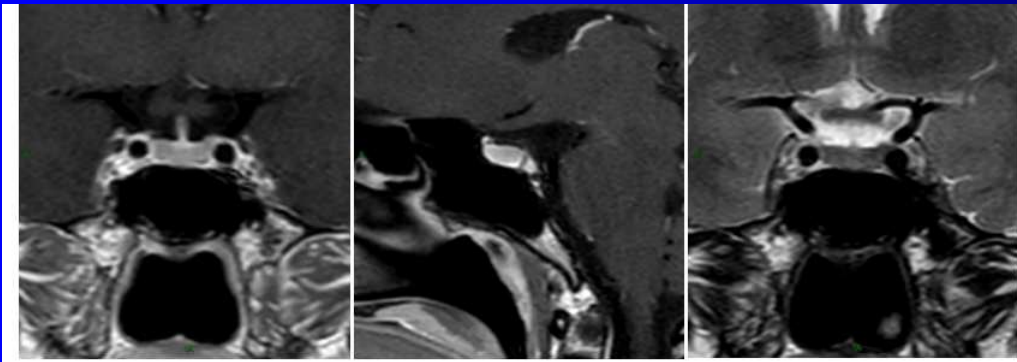


Esami ormonali (agosto 2017)

→ -livelli di PRL: **305** ng/ml (IR < 24),
→ -livelli medi di PRL: **341.5** ng/ml, ai prelievi seriati Macroprolattina negativa
-livelli di LH: 71,5 mU/ml, FSH:111,4 mU/ml, E2: 110,7 pg/ml (ultimo ciclo circa 40 giorni prima)

→ Visita ginecologica (settembre 2017)

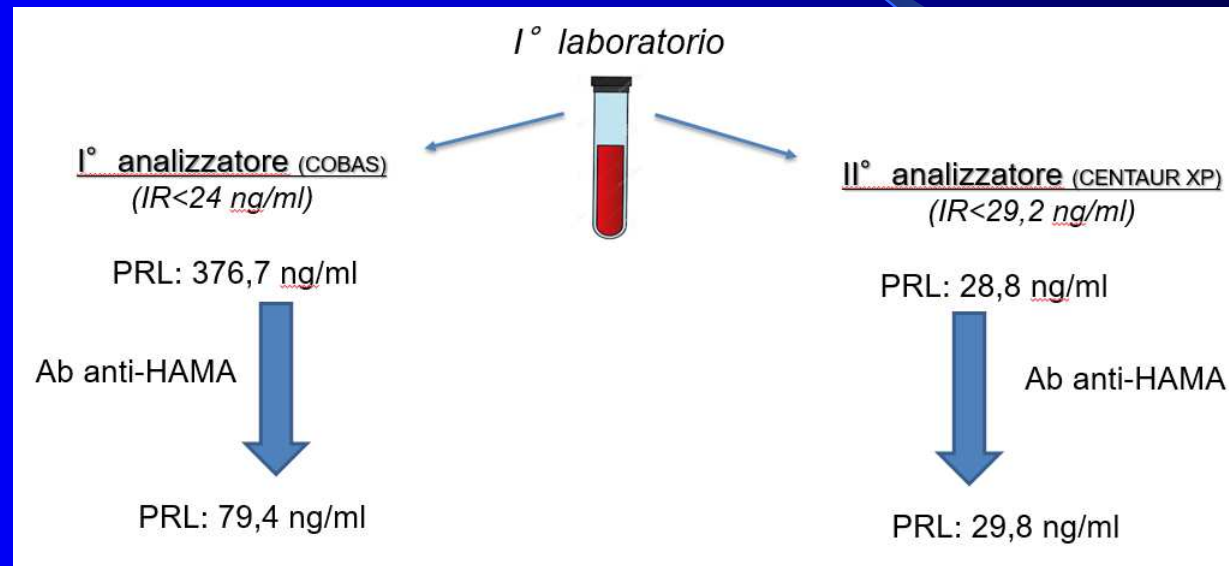
EO nella norma, ECO TV: utero di volume normale, con spessore endometriale submillimetrico; annessi di volume normale, privi di segni funzionali;



RM sellare senza e con mdc (febbraio 2018)
assenza di franche lesioni ipotalamo-ipofisarie



Iperprolattinemia: diagnosi



L'Endocrinologia e la Patologia Clinica: dialogo continuo dalla diagnosi alla terapia

La possibilità di interferenze negli immunodosaggi non può mai essere esclusa ed è importante che i clinici siano consapevoli della vulnerabilità delle tecnologie di immunodosaggio, così da essere più propensi a mettere in discussione i risultati di laboratorio, quando non coerenti con il quadro clinico-strumentale

Il dialogo e il confronto tra clinico e laboratorista è fondamentale per la salute dei pazienti



*Bondanelli Marta
Daniele Andrea
Franceschetti Paola
Lupo Sabrina
Rossi Martina
Rossi Roberta*

*Bruni Stefania
Crociara Anna*

Grazie per l'attenzione

*Aliberti Ludovica
Dinatolo Elisa
Gagliardi Irene
Mella Alessandro
Pontrelli Margherita
Martina Verrienti
Isabella Zavatta*

*Sezione di Endocrinologia e Medicina Interna
Dipartimento di Scienze Mediche
Università degli Studi di Ferrara
Maria Rosaria Ambrosio mbrmrs@unife.it*

Zatelli Maria Chiara