

La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio Italian Journal of Laboratory Medicine

La diagnostica di laboratorio delle malattie del surrene 1. Raccomandazioni pratiche per feocromocitoma e paraganglioma Laboratory diagnostics of adrenal diseases Practice guidelines for pheochromocytoma and paraganglioma SHORT TITLE: Diagnostica delle malattie del surrene Nota a piè pagina Inizia da questo numero una serie di contributi relativi alla diagnostica di laboratorio delle malattie del surrene ad opera del Gruppo di Studio di Endocrinologia e Malattie del Metabolismo (GdS-EMM) della SIMeL. I documenti derivano dagli atti del 1° Corso Residenziale: La Diagnosi delle Malattie del Surrene, organizzato dal GdS-EMM in collaborazione con l'Associazione Medici Endocrinologi (AME), svoltosi dal 15 al 17 aprile 2013 a Comano Terme (TN) e del 6° Congresso Interregionale SIMeL SUD: Linee Guida in Medicina di Laboratorio, svoltosi il 5 giugno 2014 a Salerno.

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	RIME-D-14-00015
Full Title:	La diagnostica di laboratorio delle malattie del surrene 1. Raccomandazioni pratiche per feocromocitoma e paraganglioma Laboratory diagnostics of adrenal diseases Practice guidelines for pheochromocytoma and paraganglioma SHORT TITLE: Diagnostica delle malattie del surrene Nota a piè pagina Inizia da questo numero una serie di contributi relativi alla diagnostica di laboratorio delle malattie del surrene ad opera del Gruppo di Studio di Endocrinologia e Malattie del Metabolismo (GdS-EMM) della SIMeL. I documenti derivano dagli atti del 1° Corso Residenziale: La Diagnosi delle Malattie del Surrene, organizzato dal GdS-EMM in collaborazione con l'Associazione Medici Endocrinologi (AME), svoltosi dal 15 al 17 aprile 2013 a Comano Terme (TN) e del 6° Congresso Interregionale SIMeL SUD: Linee Guida in Medicina di Laboratorio, svoltosi il 5 giugno 2014 a Salerno.
Article Type:	Review (Rassegna)
Section/Category:	Clinical Section
Keywords:	Pheochromocytoma, Adrenaline, Noradrenaline, Metanephrine, Normetanephrine, Chromogranin A Feocromocitoma, Adrenalina, Noradrenalina, Metadrenalina, Normetadrenalina, Cromogranina A
Corresponding Author:	Federica D'Aurizio, M.D. Pordenone, Pordenone ITALY
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Federica D'Aurizio, M.D.
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Federica D'Aurizio, M.D. Renato Tozzoli Romolo M Dorizzi Vincenzo Brescia Beatrice Caruso Claudio Cocco

	Erennio Ciotoli
	Elisa Esposito
	Anna Ferrari
	Antonio Fortunato
	Luca Giovanella
	Germana Giannone
	Giulio Ozzola
	Elisabetta Stenner
	Emanuela Toffalori
	Marina Vitillo
Order of Authors Secondary Information:	
Abstract:	<p>Summary Pheochromocytoma is a catecholamine-producing neuroendocrine tumor derived from the neural crest. It is a rare tumor with an incidence in the general population of 2-8 cases per million population per year. Pheochromocitomas most commonly arise in the adrenal medulla but they can also occur extra-adrenally; these tumors are referred to as paragangliomas. The clinical presentation involves a constellation of signs and symptoms associated with catecholamine excess: hypertension (paroxysmal or sustained), sweating, pallor, headaches, palpitations, anxiety, dyspeptic complaints, paresthesias, visual disturbances, chest and abdominal pain.</p> <p>The use of plasma free metanephrines or urinary fractionated metanephrines, determined by liquid chromatography with electrochemical detection or liquid chromatography with mass spectrometry, has been recommended as a first-line diagnostic test in the recent practice guidelines proposed by the Endocrine Society; in fact they have a high sensitivity, allowing to exclude a pheochromocytoma in the presence of a negative result, while the same conclusion can not be reached by determination of catecholamines or their urinary metabolite, vanilmandelic acid. Moreover, Endocrine Society guidelines suggest drawing blood with the patient in the supine position for 30 minutes and the use of reference intervals established in the same condition.</p> <p>For borderline concentrations of metanephrines, the measurement of plasma chromogranin A is recommended and in the few cases, when the determination of plasmatic metanephrines, urinary fractionated metanephrines and plasma chromogranin A are not sufficient for pheochromocytoma diagnosis, clonidine suppression test is suggested.</p> <p>Urinary vanilmandelic acid and plasma and urinary catecholamines determination should be discontinued.</p> <p>Riassunto Il feocromocitoma è un tumore neuroendocrino di derivazione dalla cresta neurale, in grado di sintetizzare e secernere catecolamine e loro metaboliti. Si tratta di una neoplasia rara con un'incidenza nella popolazione generale di 2-8 casi/milione/anno. I feocromocitomi si localizzano nella midollare del surrene in circa il 90% dei casi, ma si possono trovare anche in altri tessuti derivati dalle cellule della cresta neurale, dove prendono il nome di paragangliomi.</p> <p>La presentazione clinica del feocromocitoma è molto variabile e comprende una costellazione di sintomi e segni riconducibili alla produzione delle catecolamine e dei loro metaboliti: ipertensione (parossistica o persistente), sudorazione, pallore, cefalea, cardiopalmo, ansia, dispepsia, parestesie, disturbi visivi, dolore toracico e addominale. Per la diagnosi di feocromocitoma la determinazione delle metanefrine plasmatiche libere o urinarie frazionate, determinate con tecniche cromatografiche, è stata raccomandata come esame di prima linea nelle recenti linee guida pratiche dell'Endocrine Society. Il dosaggio di questi metaboliti presenta infatti un'alta sensibilità per cui un risultato negativo permette di escludere un feocromocitoma a differenza del dosaggio delle catecolamine e del loro principale metabolita urinario, l'acido vanilmandelico. Le recenti linee guida dell'Endocrine Society suggeriscono inoltre di eseguire il prelievo di sangue per il dosaggio delle metanefrine plasmatiche dopo 30 minuti di riposo, in posizione supina, usando intervalli di riferimento ottenuti nelle</p>

medesime condizioni.

Per concentrazioni di metanefrine intermedie, si suggerisce la determinazione della cromogranina A e, per i rari casi in cui la determinazione delle metanefrine plasmatiche libere, delle metanefrine urinarie frazionate e della cromogranina A non siano diagnostici, il test di soppressione alla clonidina.

Si raccomanda di non eseguire la determinazione dell'acido vanilmandelico urinario e delle catecolamine plasmatiche e urinarie.

La diagnostica di laboratorio delle malattie del surrene

1. Raccomandazioni pratiche per feocromocitoma e paraganglioma

Laboratory diagnostics of adrenal diseases

Practice guidelines for pheochromocytoma and paraganglioma

Federica D'Aurizio^a, Renato Tozzoli^a, Romolo M Dorizzi^b, Vincenzo Brescia^c, Beatrice Caruso^d, Claudio Cocco^d, Erennio Ciotoli^c, Elisa Esposito^f, Anna Ferrari^d, Antonio Fortunato^g, Luca Giovanella^h, Germana Giannoneⁱ, Giulio Ozzola^j, Elisabetta Stenner^k, Emanuela Toffalori^l, Marina Vitillo^m, Gruppo di Studio Endocrinologia e Malattie del Metabolismo (GdS-EMM)

^a Laboratorio di Patologia Clinica, Azienda Ospedaliera S. Maria degli Angeli, Pordenone

^a Laboratorio di Patologia Clinica, Azienda Ospedaliera S. Maria degli Angeli, Pordenone

^b UOC Core-Lab, AUSL della Romagna, Pievesestina di Cesena (FC)

^c UOC Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera Pia Fondazione di Culto e Religione Card. G. Panico, Tricase (LE)

^d Laboratorio Analisi, Sede di Borgo Trento, Azienda Ospedaliera Universitaria integrata di Verona

^e Studio Polispecialistico Potito, Campobasso

^f Laboratorio di Patologia Clinica, A.R.N.A.S. Civico e Benfratelli, Palermo

^g Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia, Ospedale San Bortolo, Vicenza

^h Medicina Nucleare e Centro PET/CT, Istituto Oncologico della Svizzera Italiana, Bellinzona, Svizzera

ⁱ Laboratorio Analisi, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino-Gesù, Roma

^j UO Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche, USL 8, Arezzo

^k Dipartimento Patologia Clinica, Azienda Ospedaliero Universitaria, Ospedali Riuniti di Trieste

^l Laboratorio Patologia Clinica, Ospedale S. Chiara, Trento

^m UOC di Patologia Clinica, Azienda Complesso Ospedaliero San Filippo Neri, Roma

Autore per la corrispondenza

Federica D'Aurizio

Laboratorio di Patologia Clinica, Dipartimento di Medicina di Laboratorio

Azienda Ospedaliera S. Maria degli Angeli,

Via Montereale, 24 33170 Pordenone, Italia

Tel.+39 0434-399213 Fax +39 0434-399906

E-mail: federica.daurizio@aopn.sanita.fvg.it

Riassunto Il feocromocitoma è un tumore neuroendocrino di derivazione dalla cresta neurale, in grado di sintetizzare e secernere catecolamine e loro metaboliti. Si tratta di una neoplasia rara con un'incidenza nella popolazione generale di 2-8 casi/milione/anno. I feocromocitomi si localizzano nella midollare del surrene in circa il 90% dei casi, ma si possono trovare anche in altri tessuti derivati dalle cellule della cresta neurale, dove prendono il nome di paragangliomi.

La presentazione clinica del feocromocitoma è molto variabile e comprende una costellazione di sintomi e segni riconducibili alla produzione delle catecolamine e dei loro metaboliti: ipertensione (parossistica o persistente), sudorazione, pallore, cefalea, cardiopalmo, ansia, dispepsia, parestesie, disturbi visivi, dolore toracico e addominale.

Per la diagnosi di feocromocitoma la determinazione delle metanefrine plasmatiche libere o urinarie frazionate, determinate con tecniche cromatografiche, è stata raccomandata come esame di prima linea nelle recenti linee guida pratiche dell'*Endocrine Society*. Il dosaggio di questi metaboliti presenta infatti un'alta sensibilità per cui un risultato negativo permette di escludere un feocromocitoma a differenza del dosaggio delle catecolamine e del loro principale metabolita urinario, l'acido vanilmandelico. Le recenti linee guida dell'*Endocrine Society* suggeriscono inoltre di eseguire il prelievo di sangue per il dosaggio delle metanefrine plasmatiche dopo 30 minuti di riposo, in posizione supina, usando intervalli di riferimento ottenuti nelle medesime condizioni. Per concentrazioni di metanefrine intermedie, si suggerisce la determinazione della cromogranina A e, per i rari casi in cui la determinazione delle metanefrine plasmatiche libere, delle metanefrine urinarie frazionate e della cromogranina A non siano diagnostici, il test di soppressione alla clonidina.

Si raccomanda di non eseguire la determinazione dell'acido vanilmandelico urinario e delle catecolamine plasmatiche e urinarie.

Parole chiave Feocromocitoma, Adrenalina, Noradrenalina, Metadrenalina, Normetadrenalina, Cromogranina A

Summary Pheochromocytoma is a catecholamine-producing neuroendocrine tumor derived from the neural crest. It is a rare tumor with an incidence in the general population of 2-8 cases per million population per year. Pheochromocytomas most commonly arise in the adrenal medulla but they can also occur extra-adrenally; these tumors are referred to as paragangliomas. The clinical presentation involves a constellation of signs and symptoms associated with catecholamine excess: hypertension (paroxysmal or sustained), sweating, pallor, headaches, palpitations, anxiety, dyspeptic complaints, paresthesias, visual disturbances, chest and abdominal pain.

The use of plasma free metanephrines or urinary fractionated metanephrines, determined by liquid chromatography with electrochemical detection or liquid chromatography with mass spectrometry, has been recommended as a first-line diagnostic test in the recent practice guidelines proposed by the Endocrine Society; in fact they have a high sensitivity, allowing to exclude a pheochromocytoma in the presence of a negative result, while the same conclusion can not be reached by determination of catecholamines or their urinary metabolite, vanilmandelic acid. Moreover, Endocrine Society guidelines suggest drawing blood with the patient in the supine position for 30 minutes and the use of reference intervals established in the same condition. For borderline concentrations of metanephrines, the measurement of plasma chromogranin A is recommended and in the few cases, when the determination of plasmatic metanephrines, urinary fractionated metanephrines and plasma chromogranin A are not sufficient for pheochromocytoma diagnosis, clonidine suppression test is suggested. Urinary vanilmandelic acid and plasma and urinary catecholamines determination should be discontinued.

Keywords *Pheochromocytoma, Adrenaline, Noradrenaline, Metanephrine, Normetanephrine, Chromogranin A*

Inquadramento clinico

Il feocromocitoma è un tumore neuroendocrino di derivazione dalla cresta neurale in grado di sintetizzare e secernere catecolamine: adrenalina (A), noradrenalina (NA) e, meno frequentemente, dopamina (D) [1]. Si tratta di una neoplasia rara con un'incidenza nella popolazione generale di 2-8 casi/milione/anno [2]. Il feocromocitoma, che può essere sporadico o familiare, è localizzato in circa il 90% dei casi nella midollare del surrene, ma si può trovare anche in altri tessuti derivati dalle cellule della cresta neurale (gangli simpatici dell'addome e del torace), dove prende il nome di paraganglioma, termine utilizzato anche per descrivere le neoplasie non secernenti di derivazione parasimpatica della testa e del collo [3-5]. I tumori della midollare del surrene compaiono in ugual misura in entrambi i sessi e, sebbene possano presentarsi a qualunque età, sono più frequenti tra il terzo e il quinto decennio di vita [6]. Sono bilaterali nel 10-15% dei casi negli adulti e nel 20-25% dei casi nei bambini e solitamente benigni (90-95%). I feocromocitomi extrasurrenali sono più spesso maligni (20%) [3].

La produzione di catecolamine da parte del feocromocitoma mostra variazioni considerevoli in base all'espressione enzimatica midollare [4]. Gran parte dei feocromocitomi produce NA, alcuni NA e A, pochi solo A e una minima parte D; quest'ultima più frequentemente associata a fenotipo maligno [1,3].

La caratteristica clinica più rilevante è l'ipertensione, che può essere parossistica (45%) o persistente (50%) e solo raramente è assente [1]. Circa 2-6/1000 dei pazienti con ipertensione ha un feocromocitoma. L'ipertensione è dovuta alla secrezione di uno o più degli ormoni catecolaminici o dei loro precursori. Altri sintomi e segni comuni sono cefalea intensa, cardiopalmo, sudorazione, pallore e cute fredda, dispnea, nausea, vomito, ipotensione ortostatica, tachipnea, tachicardia, angina, disturbi visivi, parestesie, stipsi e senso di morte imminente [6]. Gli attacchi parossistici possono essere scatenati dalla palpazione del tumore, dai cambiamenti di posizione, dalla compressione o dal massaggio addominale, dall'induzione di un'anestesia, dai traumi emotivi, dai β -bloccanti e dalla minzione se il tumore è localizzato a livello vescicale (Tab. 1).

Il quadro clinico di presentazione è molto variabile e mai specifico, per cui la diagnosi delle neoplasie di origine simpatica si basa sul rilievo di un'aumentata o alterata secrezione di catecolamine o dei loro metaboliti nel sangue o nelle urine, non solo nei pazienti sintomatici, ma anche in coloro che hanno una predisposizione genetica familiare e nel caso di incidentalomi surrenali [6,8]. I paragangliomi della testa e del collo (parasimpatici) non producono catecolamine e pertanto sono diagnosticati solo con esami radiologici [4-5].

Diagnosi di laboratorio

Gli esami biochimici utilizzati nel tempo per la diagnosi di feocromocitoma sono:

- catecolamine plasmatiche: adrenalina (P-A), noradrenalina (P-NA) e dopamina (P-D);
- catecolamine urinarie: adrenalina (U-A), noradrenalina (U-NA), dopamina (U-D);
- metanefrine plasmatiche frazionate totali o libere: metadrenalina (P-MN) e normetadrenalina (P-NMN);
- metanefrine urinarie frazionate totali: metadrenalina (U-MN) e normetadrenalina (U-NMN);
- acido vanilmandelico urinario (U-VMA);
- 3- metossitiramina plasmatica (P-3-MT);
- 3- metossitiramina urinaria (U-3-MT)
- acido omovanilico urinario (U-HVA);
- cromogranina A (CgA) plasmatica/sierica;
- test di soppressione alla clonidina (*clonidine suppression test-CLST*)

Le catecolamine plasmatiche e urinarie sono ancora diffusamente richieste dai clinici e misurate da molti laboratori per la diagnosi di feocromocitoma. La loro breve emivita, tuttavia, rende difficile discriminare tra una sovrapproduzione patologica e un picco di secrezione durante il prelievo di sangue. Inoltre, la secrezione da parte del tumore avviene in modo intermittente e indipendente dalle dimensioni della neoplasia [9].

Le metanefrine rappresentano metaboliti orto-metilati delle catecolamine; nella midollare del surrene e nel feocromocitoma, A e NA sono convertite rispettivamente in MN e NMN, rilasciate in circolo costantemente e indipendentemente dalla secrezione delle catecolamine stesse (Fig. 1) [10].

Le metanefrine sono successivamente metabolizzate per coniugazione (solfati o glucuronati), primariamente negli organi epato-mesenterici.

Le metanefrine totali, somma di metanefrine coniugate e metanefrine libere, presentano prolungata persistenza in circolo, ridotta fluttuazione giornaliera e concentrazione plasmatica 10-20 volte superiore rispetto a quella delle metanefrine libere, rendendone la determinazione relativamente semplice [11]. L'utilizzo delle metanefrine plasmatiche totali per porre diagnosi di feocromocitoma presenta tuttavia dei limiti importanti nei pazienti affetti da insufficienza renale a causa del rallentamento della *clearance* delle metanefrine coniugate, con conseguente aumento dei falsi positivi.

Per metanefrine frazionate si intende la separazione di MN e NMN. La midollare del surrene contribuisce alla MN circolante per il 90% e alla NMN per il 35% circa (Fig. 1) [10].

Nel feocromocitoma si verifica un significativo incremento del metabolismo delle catecolamine con conseguente aumento in circolo delle metanefrine plasmatiche; ne deriva la maggiore sensibilità e

specificità della misurazione delle metanefrine rispetto a quella delle catecolamine. La concentrazione plasmatica e urinaria delle metanefrine nel feocromocitoma è correlata alle dimensioni e all'attività secretoria del tumore [9]. Alcuni tumori producono un solo tipo di catecolamina; misurandole insieme, quando la secrezione è scarsa, si potrebbe avere un risultato falso negativo; è pertanto consigliato misurare separatamente le metanefrine. Inoltre, l'eventuale rilievo di una secrezione aumentata di MN o A indirizza l'indagine di localizzazione verso il surrene, sede esclusiva di sintesi dell'A.

Sebbene i feocromocitomi secernenti D siano rari, in fase di *screening* e, soprattutto nei casi extrasurrenali, è comunque consigliabile valutare anche questa catecolamina e il suo principale metabolita, la 3-MT (Fig. 1) [9-10].

Alcuni farmaci possono influenzare i processi fisiologici che determinano i livelli plasmatici e urinari delle catecolamine e dei loro metaboliti, portando a risultati falsamente positivi, indipendentemente dalle procedure analitiche utilizzate (Tab. 2) [12]. Oltre ad interferenze di tipo fisiologico, alcuni farmaci possono determinare interferenze di tipo analitico. In cromatografia liquida (LC) con rilevazione amperometrica, il buspirone può per esempio causare interferenze di tipo positivo nella misurazione della U-MN [13], mentre il paracetamolo può interferire nella misurazione delle catecolamine urinarie e delle metanefrine urinarie e plasmatiche (Tab. 2) [14]. Anche stati di *stress* psicologico, esercizio fisico intenso, pasto iperproteico, sovradosaggio di vitamina C, apnee notturne, insufficienza cardiaca, infarto cardiaco acuto, interventi chirurgici, ipoglicemia indotta da insulina e gravidanza stimolano il sistema nervoso simpatico a produrre catecolamine [10].

Il prelievo di sangue deve essere eseguito dopo il digiuno notturno e dopo aver evitato attività fisica intensa, fumo, bevande contenenti caffeina, alcolici e cibi ricchi di catecolamine (come banana, cioccolato, cacao, agrumi, vaniglia, ananas, noci) nelle 8-12 ore precedenti [12]. Il campione di sangue deve essere prelevato dopo 30 minuti di riposo, in posizione supina, per minimizzare l'effetto del sistema nervoso simpatico [17].

Il sangue eparinato per la determinazione delle catecolamine plasmatiche deve essere mantenuto a 4 °C, centrifugato entro un'ora e il plasma ottenuto conservato a -20 °C per un mese o a -70 °C per un anno. Anche il sangue in EDTA per la determinazione delle metanefrine plasmatiche dovrebbe essere posto a 4 °C dopo il prelievo e centrifugato entro 6 ore; il plasma ottenuto può essere conservato a 4 °C per 3 giorni o a -20 °C per un mese prima di eseguire l'analisi [18-19]. Per quanto riguarda la determinazione delle catecolamine e dei loro metaboliti nelle urine delle 24 ore, devono essere fornite precise istruzioni ai pazienti allo scopo di ridurre la variabilità pre-analitica legata ad errori nella raccolta (Tab. 3). Le catecolamine urinarie sono labili e vanno conservate in

acido e al riparo dalla luce, mentre le metanefrine urinarie sono stabili a temperatura ambiente per 3 giorni e per un tempo maggiore a 4 °C senza l'aggiunta di conservanti acidi (Tab. 3).

Per la determinazione delle catecolamine e delle metanefrine sono stati proposti diversi metodi: fluorimetrici, spettrofotometrici, radioimmunologici (RIA) [20-22], immunoenzimatici (EIA) [23-29] e cromatografici (in fase gassosa e liquida); senza dubbio la tecnica più utilizzata è la cromatografia liquida con rilevazione elettrochimica (amperometrica o coulombmetrica) (LC-ECD), che rappresenta il miglior compromesso tra accuratezza dei risultati e praticabilità (Tab. 4) [30-36]; in centri specializzati, si utilizza anche la cromatografia liquida associata alla spettrometria di massa (LC-MS/MS) [37-40].

Per la diagnosi di feocromocitoma le recenti linee guida dell'*Endocrine Society* attribuiscono alle metanefrine plasmatiche libere o alle metanefrine urinarie frazionate il ruolo di test di prima linea e suggeriscono l'utilizzo delle tecniche cromatografiche (LC-ECD e LC-MS/MS) per la loro determinazione [41]. Le metanefrine plasmatiche o urinarie presentano, infatti, un'alta sensibilità, per cui un risultato negativo permette di escludere un feocromocitoma, mentre la stessa conclusione non può essere raggiunta con il dosaggio delle catecolamine e di loro altri metaboliti (per es. U-VMA) [42].

Le metanefrine urinarie frazionate (NM/24h, NMN/24h), pur avendo un buon rapporto sensibilità/specificità (Tab. 4), sono misurate dopo un processo di de-coniugazione, riflettono soprattutto i metaboliti sulfo-coniugati, risentono della dieta e delle amine prodotte localmente nell'intestino e presentano una sensibilità diagnostica inferiore rispetto ai metaboliti liberi [42]. Ad oggi, quindi, la determinazione delle metanefrine plasmatiche libere è considerata la più efficace per escludere o confermare la presenza di feocromocitoma con una sensibilità del 95–100% e una specificità dell'85–100% e dovrebbe essere l'esame di prima scelta per la diagnosi di questo tipo di neoplasia [12,43] (Tab. 5).

Nonostante l'alta sensibilità e specificità, la rarità del tumore comporta, tuttavia, un numero di risultati falsamente positivi maggiore rispetto ai veri positivi, conducendo a numerosi ed inutili tentativi di localizzazione del tumore.

Le strategie suggerite per ridurre i falsi positivi prevedono di:

- ripetere la determinazione delle metanefrine plasmatiche libere da un prelievo di sangue venoso ottenuto dopo 30 minuti di riposo in posizione supina e dopo sospensione dei farmaci potenzialmente interferenti;
- usare valori soglia (*upper reference limit-URL*) più alti per le metanefrine plasmatiche libere;
- definire degli intervalli di riferimento delle metanefrine plasmatiche specifici per età [44]

- integrare il test delle metanefrine plasmatiche libere con la determinazione delle metanefrine urinarie frazionate e/o della CgA;
- integrare il test delle metanefrine plasmatiche libere con il test di soppressione alla clonidina.

La CgA è una glicoproteina presente nei granuli densi delle cellule neuroendocrine, particolarmente nelle vescicole di deposito delle catecolamine della midollare del surrene. La CgA è rilasciata dalle cellule neuroendocrine insieme alle amine e ai peptidi e i suoi livelli correlano con la massa tumorale e con la sua attività di secrezione [45]. È immagazzinata e co-secreta con le catecolamine ed è aumentata nell'80% dei casi di feocromocitoma [46].

I metodi più usati per la determinazione della CgA sono quelli RIA e ELISA [47-48]; più di recente è stato proposto un metodo immunofluorometrico (IFMA) automatizzato che si basa sulla tecnologia *Time Resolved Amplified Cryptate Emission* (TRACE) [49]. La sensibilità della CgA nella diagnosi di feocromocitoma oscilla tra il 65% e il 100%. Nell'ambito degli incidentalomi surrenalici del diametro massimo superiore a 20 mm, è stato dimostrato che la CgA presenta un'accuratezza maggiore rispetto ai marcatori urinari, comprese le metanefrine urinarie, risultando equivalente alla determinazione delle metanefrine plasmatiche per identificare o escludere la presenza di un feocromocitoma [50-51].

Algeciras-Schimnich et al. hanno dimostrato che l'esame raggiunge la prestazione ottimale nella diagnosi di feocromocitoma (sensibilità dell'80% e specificità del 98%) quando le metanefrine plasmatiche libere hanno un valore maggiore di almeno 4 volte rispetto all'URL, mentre è consigliabile determinare le metanefrine urinarie frazionate e la CgA per valori di metanefrine plasmatiche libere inferiori a 4 volte l'URL [52]. In particolare, nello studio condotto da questi autori, la CgA e le metanefrine urinarie frazionate, utilizzate come esame di *follow-up* in associazione con le metanefrine plasmatiche libere, hanno dimostrato la stessa accuratezza diagnostica [52]. Tuttavia, anche questi esami presentano dei limiti: la raccolta delle urine è gravata da un elevato grado di inaccuratezza e l'utilizzo di conservanti urinari non adatti può portare a risultati non affidabili; inoltre, la CgA può essere secreta da tumori neuroendocrini non cromaffini e può essere elevata in corso di insufficienza cardiaca o renale e per terapia con inibitori della pompa protonica. Conseguentemente, alcuni casi veri positivi continuerebbero a essere misclassificati se si utilizzasse solo uno dei due test descritti per il *follow-up*. Questo limite può essere superato inserendo la determinazione della CgA e delle metanefrine urinarie frazionate in un algoritmo a *step* e collocando i risultati nel preciso contesto clinico [10].

La diagnostica del feocromocitoma si è sempre prestata a un approccio bayesiano; l'interpretazione di un esame diagnostico deve tener conto non solo di sensibilità e specificità, ma anche della probabilità pre-test e gran parte della letteratura discute in modo approfondito questo aspetto. Se consideriamo, per esempio, la sensibilità e la specificità del metodo di misura delle metanefrine plasmatiche, descritte da Sawka et al., rispettivamente del 97% e dell'85%, la probabilità che il paziente abbia un feocromocitoma in caso di risultato positivo è del 6% e in caso di risultato negativo è dello 0%, quando la probabilità pre-test è dell'1% e diventa rispettivamente del 73% e del 2% quando la probabilità pre-test è del 30% [53]. Le Tabelle 4 e 5 contengono non solo sensibilità a specificità ma anche *likelihood ratio* (rapporto di verosimiglianza) positivo e negativo, *diagnostic odds ratio* e *number needed to diagnose* di numerosi recenti articoli [54]. La Fig. 2 illustra come è possibile ricavare la probabilità post-test da quella pre-test impiegando il nomogramma di Fagan.

Il CLST è stato proposto per la diagnosi differenziale tra feocromocitoma e ipersecrezione di catecolamine secondaria a stati fisio-patologici con iperattività del sistema simpatico-adrenergico [10,41]. Il test è indicato quando i valori di concentrazione delle metanefrine urinarie e plasmatiche sono aumentati, ma non diagnostici per feocromocitoma e la CgA non è dirimente. Nei pazienti non affetti da tumore cromaffine, la clonidina provoca un'inibizione del rilascio di catecolamine da parte del sistema simpatico causando una diminuzione delle catecolamine e delle metanefrine circolanti. In particolare, un decremento dei livelli circolanti di NA di almeno il 50% e dei livelli circolanti di NMN di almeno il 40% rispetto al valore basale è altamente predittivo di assenza di feocromocitoma [7].

Ogni centro dovrebbe adottare un suo algoritmo adeguato al contesto in cui opera, che tenga soprattutto in considerazione la probabilità pre-test [7,10]. È indubbio che l'uso degli esami biochimici per la diagnosi di feocromocitoma sia efficace dal punto di vista economico in quanto il costo della determinazione delle metanefrine urinarie e plasmatiche e della CgA è pari al 20% del costo di un'indagine di *imaging* (tomografia computerizzata o scintigrafia con metaiodobenzilguanidina). Tuttavia, devono essere considerati anche i casi in cui è necessario ricorrere alle tecniche di *imaging* perché gli esami biochimici non sono definitivi o i casi di risultati falsi positivi che portano a stati d'ansia per il paziente, ulteriori esami di conferma e, nel peggiore dei casi, a interventi chirurgici non necessari. Questo stato di cose potrebbe essere migliorato da uno studio multicentrico prospettico che valuti l'efficienza diagnostica delle determinazioni delle metanefrine frazionate e i costi dei diversi algoritmi diagnostici attuati nelle varie realtà per diagnosi di feocromocitoma [10].

Raccomandazioni pratiche per la diagnosi di feocromocitoma

La migliore strategia diagnostica dipende dalla probabilità pre-test nel paziente in esame: un test con elevato potere predittivo positivo è di maggiore utilità nei pazienti ad alto rischio, mentre nei pazienti asintomatici è più utile un esame a elevato potere predittivo negativo per escludere la diagnosi.

Utilizzando il sistema GRADE (*Grading of Recommendation, Assessment, Development and Evaluation*), le raccomandazioni sono state categorizzate in base alla forza (grado 1 e 2) e alla qualità delle prove secondo i livelli H (⊕⊕⊕⊕), M (⊕⊕⊕○), L (⊕⊕○○) e VL (⊕○○○) [55].

Raccomandazione 1. Per la diagnosi di feocromocitoma si raccomanda la determinazione delle metanefrine plasmatiche libere e, nel caso questo test non sia disponibile, delle metanefrine urinarie frazionate (1 |⊕⊕⊕⊕).

Raccomandazione 2. Per la determinazione delle metanefrine plasmatiche e urinarie si suggerisce l'impiego dei metodi cromatografici (LC-ECD; LC-MS/MS) (2 |⊕⊕○○).

Raccomandazione 3. Per il dosaggio delle metanefrine plasmatiche si suggerisce il prelievo dopo 30 minuti di riposo in posizione supina e l'uso di intervalli di riferimento stabiliti nelle stesse condizioni (2 |⊕⊕○○).

Raccomandazione 4. Per concentrazioni di metanefrine plasmatiche libere intermedie (< 4 volte URL), si suggerisce di determinare la CgA e/o le metanefrine urinarie frazionate, come *reflex test* (2 |⊕⊕○○).

Raccomandazione 5. Nei casi in cui la determinazione delle metanefrine plasmatiche libere, della CgA e delle metanefrine urinarie frazionate non siano sufficienti per porre diagnosi di feocromocitoma, si suggerisce di eseguire il CLST (2 |⊕⊕○○).

Raccomandazione 6. Si raccomanda di non eseguire il dosaggio del U-VMA e delle catecolamine plasmatiche e/o urinarie (1 |⊕⊕⊕⊕).

Conflitto di interesse: Nessuno.

Bibliografia

1. Lenders JW, Eisenhofer G (2014) Pathophysiology and diagnosis of disorders of the adrenal medulla: focus on pheochromocytoma. *Compr Physiol* 4:691-713
2. Carr JC, Spanheimer PM, Rajput M et al. (2013) Discriminating pheochromocytomas from other adrenal lesions: the dilemma of elevated catecholamines. *Ann Surg Oncol* 20:3855-3861
3. Martucci VL, Pacak K (2014) Pheochromocytoma and paraganglioma: diagnosis, genetics, management, and treatment. *Curr Probl Cancer* 38:7-41
4. Lenders JW, Eisenhofer G, Mannelli M, Pacak K (2005) Pheochromocytoma. *Lancet* 366:665-675
5. Lefebvre M, Foulkes WD (2014) Pheochromocytoma and paraganglioma syndromes: genetics and management update. *Curr Oncol* 21:e8-e17
6. Parenti G, Zampetti B, Rapizzi E et al. (2012) Updated and new perspectives on diagnosis, prognosis, and therapy of malignant pheochromocytoma/paraganglioma. *J Oncol* 2012:872713
7. Pia A (2008) Feocromocitoma. In: Attanasio R, Dorizzi R, Martinelli M, Terzolo M. (eds) *Manuale per valutazione e inquadramento di patologie surrenaliche e ipertensione arteriosa endocrina*. Scripta, Verona, pp. 65–71
8. Hodin R, Lubitz C, Phitayakorn R, Stephen A (2014) Diagnosis and management of pheochromocytoma. *Curr Probl Surg* 51:151-187
9. Eisenhofer G, Lenders JW, Goldstein DS et al. (2005) Pheochromocytoma catecholamine phenotypes and prediction of tumor size and location by use of plasma free metanephrines. *Clin Chem* 51:735-744
10. Barron J (2010) Pheochromocytoma: diagnostic challenges for biochemical screening and diagnosis. *J Clin Pathol* 63:669-674
11. Grouzmann E, Drouard-Troalen L, Baudin E et al. (2010) Diagnostic accuracy of free and total metanephrines in plasma and fractionated metanephrines in urine of patients with pheochromocytoma. *Eur J Endocrinol* 162:951-960
12. Grouzmann E, Lamine F (2013) Determination of catecholamines in plasma and urine. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 27:713-23
13. Cook FJ, Chandler DW, Snyder DK (1995) Effect of buspirone on urinary catecholamine assays. *N Engl J Med* 332:401
14. Davidson FD (2004) Paracetamol-associated interference in an HPLC-ECD assay for urinary free metadrenalines and catecholamines. *Ann Clin Biochem* 41:316-320

15. Eisenhofer G, Goldstein DS, Walther MM et al. (2003) Biochemical diagnosis of pheochromocytoma: how to distinguish true- from false-positive test results. *J Clin Endocrinol Metab* 88:2656-66
16. Davidson DF, Grosset K, Grosset D (2007) Parkinson's disease: the effect of L-dopa therapy on urinary free catecholamines and metabolites *Ann Clin Biochem* 44:364-8
17. Pacak K, Lenders JW, Eisenhofer G (2007) Current trends in biochemical diagnosis of pheochromocytoma. In: Pacak K, Lenders JW, Eisenhofer G (eds). *Pheochromocytoma: diagnosis, localization and treatment*, 1st edn. Blackwell, pp.72–92
18. Därr R, Pamporaki C, Peitzsch M et al. (2014) Biochemical diagnosis of phaeochromocytoma using plasma-free normetanephrine, metanephrine and methoxytyramine: importance of supine sampling under fasting conditions. *Clin Endocrinol* 80:478-486
19. Pacak K, Eisenhofer G, Ahlman H et al. (2007) International Symposium on Pheochromocytoma. *Pheochromocytoma: recommendations for clinical practice from the First International Symposium Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 3:92-102
20. Unger N, Pitt C, Schmidt IL et al. (2006) Diagnostic value of various biochemical parameters for the diagnosis of pheochromocytoma in patients with adrenal mass. *Eur J Endocrinol* 154:409-417
21. Lenz T, Zorner J, Kirchmaier C et al. (2006) Multicenter study on the diagnostic value of a new RIA for the detection of free plasma metanephrines in the work-up for pheochromocytoma. *Ann N Y Acad Sci* 1073:358-373
22. Pussard E, Chaouch A, Said T (2014) Radioimmunoassay of free plasma metanephrines for the diagnosis of catecholamine-producing tumors. *Clin Chem Lab Med* 52:437-444
23. Gao YC, Lu HK, Luo QY et al. (2008) Comparison of free plasma metanephrines enzyme immunoassay with (131)I-MIBG scan in diagnosis of pheochromocytoma. *Clin Exp Med* 8:87-91
24. Procopiou M, Finney H, Akker SA et al. (2009) Evaluation of an enzyme immunoassay for plasma-free metanephrines in the diagnosis of catecholamine-secreting tumors. *Eur J Endocrinol* 161:131-140
25. Christensen TT, Frystyk J, Poulsen PL (2011) Comparison of plasma metanephrines measured by a commercial immunoassay and urinary catecholamines in the diagnosis of pheochromocytoma. *Scand J Clin Lab Invest* 71:695-700
26. Mullins F, O'Shea P, FitzGerald R, Tormey W (2011) Enzyme-linked immunoassay for plasma-free metanephrines in the biochemical diagnosis of phaeochromocytoma in adults is not ideal. *Clin Chem Lab Med.* 50:105-10
27. Sarathi V, Pandit R, Jagtap V et al. (2011) Performance of plasma fractionated free metanephrines by enzyme immunoassay in the diagnosis of pheochromocytoma and paraganglioma. *Endocr Pract.* 17(5):759-65

28. Unger N, Hinrichs J, Deutschbein T et al. (2012) Plasma and urinary metanephrines determined by an enzyme immunoassay, but not serum chromogranin A for the diagnosis of pheochromocytoma in patients with adrenal mass. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 120:494-500
29. Jeyaraman K, Natarajan V, Thomas N et al. (2013) The role of urinary fractionated metanephrines in the diagnosis of pheochromocytoma. *Indian J Med Res* 137:316-323
30. Lenders JW, Pacak K, Walther MM et al. (2002) Biochemical diagnosis of pheochromocytoma: which test is best? *JAMA* 287:1427-1434
31. Sawka AM, Jaeschke R, Singh RJ, Young WF Jr (2003) A comparison of biochemical tests for pheochromocytoma: measurement of fractionated plasma metanephrines compared with the combination of 24-hour urinary metanephrines and catecholamines. *J Clin Endocrinol Metab* 88:553-558
32. Pillai D, Ross HA, Kratzsch J et al. (2009) Proficiency test of plasma free and total metanephrines: report from a study group. *Clin Chem Lab Med* 47:786-790
33. Hickman PE, Leong M, Chang J et al. (2009) Plasma free metanephrines are superior to urine and plasma catecholamines and urine catecholamine metabolites for the investigation of pheochromocytoma. *Pathology* 41(2):173-7
34. Boyle JG, Davidson DF, Perry CG, Connell JM (2007) Comparison of diagnostic accuracy of urinary free metanephrines, vanillyl mandelic acid, and catecholamines and plasma catecholamines for diagnosis of pheochromocytoma. *J Clin Endocrinol Metab* 92:4602-4608
35. Raber W, Raffesberg W, Bischof M et al. (2000) Diagnostic efficacy of unconjugated plasma metanephrines for the detection of pheochromocytoma. *Arch Intern Med* 160:2957-2963
36. Vaclavik J, Stejskal D, Lacnak B et al. (2007) Free plasma metanephrines as a screening test for pheochromocytoma in low-risk patients. *J Hypertens* 25:1427-1431
37. Perry CG, Sawka AM, Singh R et al. (2007) The diagnostic efficacy of urinary fractionated metanephrines measured by tandem mass spectrometry in detection of pheochromocytoma. *Clin Endocrinol* 66:703-708
38. Peaston RT, Graham KS, Chambers E et al. (2010) Performance of plasma free metanephrines measured by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in the diagnosis of pheochromocytoma. *Clin Chim Acta* 411:546-552
39. Brossaud J, Gosse P, Gatta B et al. (2013) Phasing-in plasma metanephrines determination. *Eur J Endocrinol* 169:163-70
40. Peitzsch M, Prejbisz A, Kroiß M et al. (2013) Analysis of plasma 3-methoxytyramine, normetanephrine and metanephrine by ultraperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry: utility for diagnosis of dopamine-producing metastatic pheochromocytoma. *Ann Clin Biochem* 50:147-155

41. Lenders JW, Duh QY, Eisenhofer G et al. (2014) Pheochromocytoma and paraganglioma: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 99:1915-42
42. Grossman A, Pacak K, Sawka A et al. (2006) Biochemical diagnosis and localization of pheochromocytoma: can we reach a consensus? *Ann N Y Acad Sci* 1073:332-347
43. Lenders JW (2009) Biochemical diagnosis of pheochromocytoma and paraganglioma. *Ann Endocrinol* 70:161-165
44. Eisenhofer G, Lattke P, Herberg M et al. (2013) Reference intervals for plasma free metanephrines with an age adjustment for normetanephrine for optimized laboratory testing of pheochromocytoma. *Ann Clin Biochem.* 2013 Jan;50(Pt 1):62-9.
45. Giovanella L, La Rosa S, Ceriani L et al. (1999) Chromogranin-A as a serum marker for neuroendocrine tumors: comparison with neuron-specific enolase and correlation with immunohistochemical findings. *Int J Biol Markers* 14:160-166
46. Zuber S, Wesley R, Prodanov T et al. (2014) Clinical utility of chromogranin A in SDHx-related paragangliomas. *Eur J Clin Invest* 44:365-371
47. Stridsberg M, Eriksson B, Oberg K, Janson ET (2003) A comparison between three commercial kits for chromogranin A measurements. *J Endocrinol* 177:337-341
48. Peracchi M, Gebbia C, Basilisco G et al. (2005) Plasma chromogranin A in patients with autoimmune chronic atrophic gastritis, enterochromaffin-like cell lesions and gastric carcinoids. *Eur J Endocrinol* 152:443-448
49. Popovici T, Moreira B, Schlageter MH, Bories PN (2014) Automated two-site immunofluorescent assay for the measurement of serum chromogranin A. *Clin Biochem* 47:87-91
50. Giovanella L (2005) Serum chromogranin-A assay in differential diagnosis of incidentally discovered adrenal masses. *Anticancer Res* 25:1547-1550
51. Giovanella L, Squin N, Ghelfo A, Ceriani L (2006) Chromogranin A immunoradiometric assay in diagnosis of pheochromocytoma: comparison with plasma metanephrines and 123I-MIBG scan. *Q J Nucl Med Mol Imaging* 50:344-347
52. Algeciras-Schimnich A, Preissner CM, Theobald JP et al. (2008) Plasma chromogranin A or urine fractionated metanephrines follow-up testing improves the diagnostic accuracy of plasma fractionated metanephrines for pheochromocytoma. *J Clin Endocrinol Metab* 93:91-95
53. Krzych LJ (2008) Use of Bayesian statistical approach in diagnosing secondary hypertension. *Pol Arch Med Wewn* 118:132-142.
54. Dorizzi RM, Maconi M, Giavarina D et al. (2009) An electronic thesaurus of Evidence Based Laboratory Medicine hematological and biochemical diagnostic tests. *Int J Lab Hematol* 31: 544-551.

55. Swiglo BA, Murad MH, Schönemann HJ et al. (2008) A case for clarity, consistency, and helpfulness: state-of-the-art clinical practice guidelines in endocrinology using the grading of recommendations, assessment, development, and evaluation system. *J Clin Endocrinol Metab*:666-73

Federica D'Aurizio et al.

N° figure: 2

Fig. 1 Origine delle catecolamine e delle metanefrine plasmatiche espresse come percentuale del totale. Nella midollare del surrene e nel feocromocitoma le catecolamine sono costantemente metabolizzate e rilasciate in circolo. Le terminazioni nervose simpatiche producono dopamina e noradrenalina con rapide fluttuazioni nel plasma a seguito di svariati stimoli (farmaci, condizioni di *stress*, ecc.) (modificato da [10])

Fig. 2 Stima della probabilità post-test dopo risultato positivo (linea continua) e negativo (linea tratteggiata) della determinazione delle metanefrine plasmatiche in una popolazione in cui la probabilità pre-test è dell'1% (sinistra) e del 30% (destra)

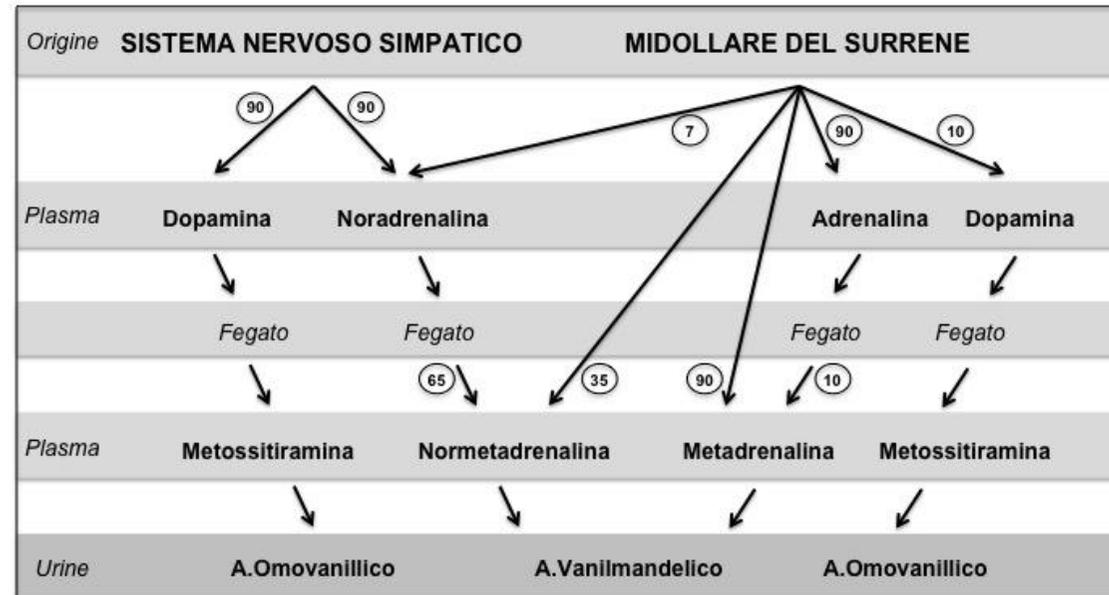


Figura 1

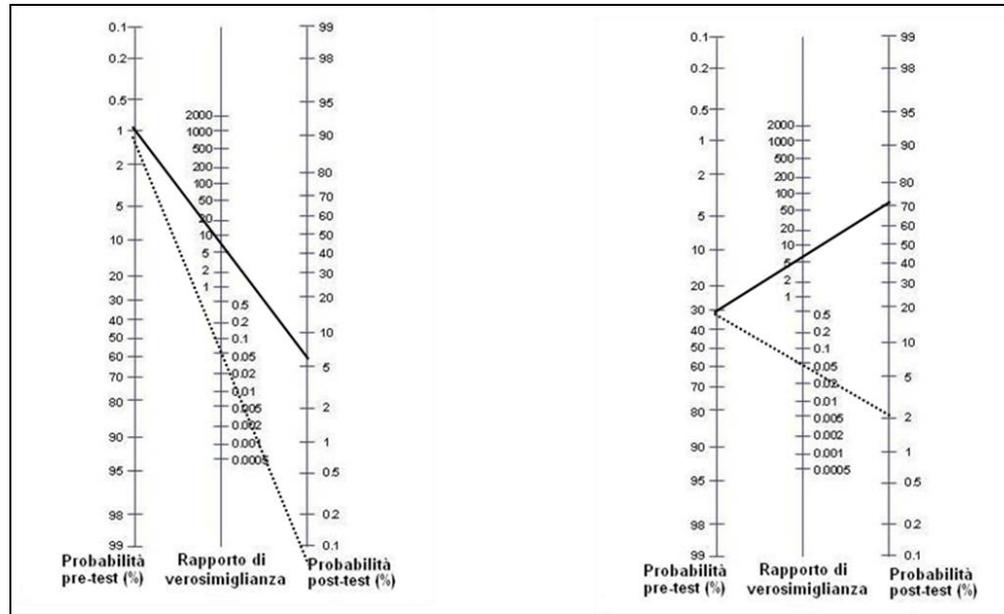


Figura 2

Federica D'Aurizio et al.

N° tabelle: 5

Tabella 1 Caratteristiche cliniche del feocromocitoma

Segni	Sintomi
Ipertensione parossistica*	Cefalea*
Ipertensione persistente	Cardiopalmo*
Sudorazione*	<i>Flushing</i>
Pallore e cute fredda*	Ansia e tremori
Tachicardia	Astenia
Tachipnea	Nausea, vomito
Calo ponderale	Parestesie
Iperglicemia a digiuno	Disturbi visivi
Riduzione della motilità intestinale	Dolore toracico o addominale

* Sintomi tipici delle crisi parossistiche dovute a un brusco rilascio di catecolamine [7]

Tabella 2 Interferenze fisiologiche e analitiche farmaco-indotte nel dosaggio delle catecolamine e delle metanefrine

INTERFERENZE	Analita urinario						Analita plasmatico				Meccanismo d'azione	Rilevanza clinica
	U-A	U-NA	U-D	U-MN	U-NMN	U-MT	P-A	P-NA	P-MN	P-NMN		
FISIOLOGICHE												
Antidepressivi triciclici		X			X			X		X	Inibizione del <i>re-uptake</i> della NA	Significativa [15]
α -bloccanti (non selettivi)		X			X			X		X	Aumento del rilascio della NA	Significativa [15]
α -bloccanti (α 1-selettivi)							X	X		X	Attivazione riflessa del SNS	Non significativa [15]
β -bloccanti	X	X		X	X					X	Attivazione riflessa del SNS	Non significativa [15]
Ca-antagonisti	X	X						X			Attivazione riflessa del SNS	Non significativa [15]
Inibitori delle monoaminoossidasi				X						X	Aumento dei substrati della via delle COMT	Significativa [15]
Agonisti dopaminergici			X			X					Aumento della sintesi di NA e A	Significativa [16]
Simpaticomimetici e amfetamine	X	X		X	X		X	X	X	X	Aumento del rilascio della NA	Significativa [15]
Cocaina e altri stimolanti	X	X					X	X			Inibizione del <i>re-uptake</i> della NA	Significativa [17]
ANALITICHE												
Buspirone				X							Interferenza positiva in LC-ECD	Significativa [13]
Paracetamolo	X	X		X	X				X	X	Interferenza positiva in LC-ECD	Significativa [14]

U-A: adrenalina urinaria; U-NA: noradrenalina urinaria; U-D: dopamina urinaria; U-MN: metadrenalina urinaria; U-NMN: normetadrenalina urinaria; U-MT: 3-metossitiramina urinaria; SNS: sistema nervoso simpatico; COMT: catecol-O-metiltransferasi; LC-ECD: *liquid chromatography-electrochemical detection*

Tabella 3 Criticità della fase pre-analitica, analitica e post-analitica del dosaggio delle metanefrine urinarie frazionate e delle metanefrine plasmatiche libere

Metanefrine urinarie frazionate	Metanefrine plasmatiche libere
La raccolta delle urine/24 ore può essere scomoda per il paziente e quindi eseguita in modo non corretto	Il prelievo di sangue è più comodo per il paziente rispetto alla raccolta delle urine/24 ore e in genere viene eseguito in modo affidabile
L'esame è consolidato e ampiamente disponibile	L'esame è poco consolidato anche se è in graduale aumento
La concentrazione di metanefrine nelle urine rende l'analisi relativamente poco complessa	La bassa concentrazione delle metanefrine nel plasma rende l'analisi molto complessa
La determinazione, effettuata dopo un processo di deconiugazione, riflette maggiormente le forme coniugate rispetto a quelle libere	La determinazione riflette i metaboliti liberi prodotti dalle cellule tumorali
L'esame non è utile in pazienti con insufficienza renale	L'esame è utile in pazienti con insufficienza renale

Tabella 4 Valutazione dell'utilità diagnostica delle metanefrine urinarie/24 ore in sette studi diversi

Autore	Sede	Soggetti		Metodo	Analita urinario	URL ($\mu\text{mol}/24$ ore)	Performance diagnostica					
		Feo	Non feo				Sens (%)	Spec (%)	LR+	LR-	DOR	NND
Unger et al 2006 [20]	Essen (Germania)	24	126	RIA	U-MN	0.56	80	83	4.71	0.24	19.5	1.6
					U-NMN	2.40	93	86	6.64	0.08	81.6	1.3
					U-MN + U-NMN		93	75	3.72	0.09	39.9	1.5
Unger et al 2012 [28]	Essen (Germania)	24	125	EIA	U-MN	0.45	71	78	3.23	0.37	8.7	2.0
					U-NMN	1.70	86	92	10.75	0.15	70.6	1.3
					U-MN + U-NMN		93	78	4.23	0.09	47.1	1.4
Jeyaraman et al 2013 [29]	Vellore (India)	20	52	ELISA	U-MN	3.55	35	100	∞	0.65	∞	2.9
					U-NMN	6.60	80	92	10.00	0.22	46.0	1.4
					U-MN + U-NMN		95	92	11.88	0.05	218.5	1.1
Lenders et al 2002 [30]	Studio multicentrico (NIH, Olanda, Svezia, Italia)	214	644	LC-ECD	U-MN	1.22/0.71*	nr	nr	-	-	-	-
					U-NMN	3.00/1.70*	nr	nr	-	-	-	-
					U-MN + U-NMN		97	69	3.13	0.04	71.9	1.5
Boyle et al 2007 [34]	Glasgow (Regno Unito)	25	134	LC-ECD	U-MN	0.35	nr	nr	-	-	-	-
					U-NMN	0.70	nr	nr	-	-	-	-
					U-MN + U-NMN		100	94	16.67	0	∞	1.1
Pussard et al 2014 [22]	Le Kremlin (Francia)	59	474	LC-ECD	U-MN	1.78	nr	nr	-	-	-	-
					U-NMN	2.50	nr	nr	-	-	-	-
					U-MN + U-NMN		98	86	7.00	0.02	301.0	1.2
Perry et al 2007 [37]	Mayo Clinic, Rochester (USA)	102	625	LC- MS/MS	U-MN	1.53	57	95	11.4	0.45	25.2	1.9
					U-NMN	4.00	87	95	17.40	0.14	127.1	1.2
					U-MN + U-NMN		97	91	10.80	0.03	326.9	1.1

Feo: soggetti con feocromocitoma; Non feo: soggetti senza feocromocitoma; RIA: *radioimmunoassay*; ELISA: *enzyme-linked immunosorbent assay*; LC-ECD: *liquid chromatography-electrochemical detection*; LC-MS/MS: *liquid chromatography-mass spectrometry*; U-MN: metadrenalina urinaria; U-NMN: normetadrenalina urinaria; URL: *upper reference limit* (valore soglia); Sens: sensibilità; Spec: specificità; LR+: *likelihood ratio* positivo; LR-: *likelihood ratio* negativo; DOR: *diagnostic odds ratio*; NND: *number needed to diagnose*; *maschi/femmine; nr: non riportato.

Dividere per il fattore di conversione (MN: 0.00507; NMN: 0.00546) per passare dalle unità del Sistema Internazionale (μmol) alle unità del Sistema Convenzionale (μg).

Tabella 5 Valutazione dell'utilità diagnostica delle metanefrine plasmatiche libere in otto studi diversi

Autore	Sede	Soggetti		Metodo	Analita plasmatico	URL (nmol/L)	Performance diagnostica					
		Feo	Non feo				Sens (%)	Spec (%)	LR+	LR-	DOR	NND
Unger et al 2006 [20]	Essen (Germania)	24	126	RIA	P-MN	0.19	71	79	3.38	0.37	9.2	2.0
					P-NMN	0.68	92	96	23.00	0.08	276.0	1.1
					P-MN + P-NMN		96	79	4.57	0.05	90.3	1.3
Pussard et al 2014 [22]	Le Kremlin (Francia)	59	474	RIA	P-MN	0.35	61	97	20.33	0.40	50.6	2.0
					P-NMN	0.55	97	96	24.25	0.03	776.0	1.0
					P-MN + P-NMN		100	96	25.00	0	∞	
Unger et al 2012 [28]	Essen (Germania)	24	125	EIA	P-MN	0.13	68	90	6.80	0.36	19.1	1.7
					P-NMN	0.91	89	98	44.50	0.11	396.4	1.1
					P-MN + P-NMN		89	90	8.90	0.12	72.8	1.2
Raber et al 2000 [35]	Vienna (Austria)	17	14	LC-ECD	P-MN	0.31	71	100	∞	0.29	∞	1.4
					P-NMN	0.67	100	100	∞	0	∞	1
					P-MN + P-NMN		100	100	∞	0	∞	1.0
Lenders et al 2002 [30]	Studio multicentrico (NIH, Olanda, Svezia, Italia)	214	644	LC-ECD	P-MN	0.31	nr	nr	-	-	-	-
					P-NMN	0.62	nr	nr	-	-	-	-
					P-MN + P-NMN		99	89	9.00	0.01	801	1.1
Sawka et al 2003 [31]	Mayo Clinic, Rochester (USA)	56	445	LC-ECD	P-MN	0.51	71	100	∞	0.29	∞	1.4
					P-NMN	0.92	87	94	14.50	0.14	104.8	1.2
					P-MN + P-NMN		97	85	6.47	0.04	183.2	1.2
Veclavic et al 2007 [36]	Praga (Repubblica Ceca)	25	1235	LC-ECD	P-MN	0.31	88	95	17.60	0.13	139.3	1.2
					P-NMN	0.61	96	99	96.00	0.04	2367.0	1.0
					P-MN + P-NMN		100	97	33.33	0	∞	1.0
Peaston et al 2010 [38]	Newcastle (Regno Unito)	38	113	LC-MS/MS	P-MN	0.52	45	96	11.25	0.57	19.6	2.4
					P-NMN	1.19	97	92	12.13	0.03	371.8	1.1
					P-MN + P-NMN		100	96	25.00	0	∞	1.1

Feo: soggetti con feocromocitoma; Non feo: soggetti senza feocromocitoma; RIA: radioimmunoassay; ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay; LC-ECD: liquid chromatography-electrochemical detection; LC-MS/MS: liquid chromatography-mass spectrometry; P-MN: metadrenalina plasmatica; P-NMN: normetadrenalina plasmatica; URL: upper reference limit (valore soglia); Sens: sensibilità; Spec: specificità; LR+: likelihood ratio positivo; LR-: likelihood ratio negativo; DOR: diagnostic odds ratio; NND: number needed to diagnose; *maschi/femmine; nr: non riportato.

Dividere per il fattore di conversione (MN: 0.00507; NMN: 0.00546) per passare dalle unità del Sistema Internazionale (nmol/L) alle unità del Sistema Convenzionale (pg/mL).

Conflict of Interest Disclosure Form

È politica *La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio-Italian Journal of Laboratory Medicine* garantire l'equilibrio, l'indipendenza, l'obiettività e il rigore scientifico dei suoi contenuti. Tutti gli autori sono tenuti a esplicitare ai lettori un conflitto reale o apparente di interessi che possono avere un rapporto diretto con il loro articolo.

Questo riguarda i rapporti con le aziende farmaceutiche, i produttori di dispositivi biomedicali o altre società i cui prodotti o servizi possono essere correlati all'argomento dell'articolo o alla sponsorizzazione dello studio descritto.

Non si vuole assolutamente contrastare la pubblicazione di articoli da parte di autori con un potenziale conflitto di interessi. L'esplicitazione di quest'ultimo infatti è necessario esclusivamente ai lettori, che avranno così gli strumenti per potersi formare un proprio giudizio e stabilire se il conflitto di interessi abbia o meno portato a una possibile distorsione sia nell'esposizione sia nelle conclusioni presentate.

Si prega il *corresponding author* di compilare e inviare il modulo per l'*Editor-in-Chief* per conto di tutti gli autori elencati di seguito.

It is the policy of *La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio-Italian Journal of Laboratory Medicine* to ensure balance, independence, objectivity, and scientific rigor in the Journal. All authors are expected to disclose to the readers any real or apparent conflict(s) of interest that may have a direct bearing on the subject matter of the article. This pertains to relationships with pharmaceutical companies, biomedical device manufacturers or other corporation whose products or services may be related to the subject matter of the article or who have sponsored the study.

The intent of the policy is not to prevent authors with a potential conflict of interest from publication. It is merely intended that any potential conflict should be identified openly so that the readers may form their own judgements about the article with the full disclosure of the facts. It is for the readers to determine whether the authors' outside interest may reflect a possible bias in either the exposition or the conclusions presented.

The corresponding author will complete and submit this form to the *Editor-in-Chief* on behalf of all authors listed below.

Rivista/Journal

La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio

Titolo dell'Articolo/Article Title

La diagnostica di laboratorio delle malattie del surrene

1. Raccomandazioni pratiche per feocromocitoma e paraganglioma

Laboratory diagnostics of adrenal diseases

Practical guidelines for pheochromocytoma and paraganglioma

Autori/Authors

F. D'Avolio, R. Tozzoli, R.M. Durazzi, V. Brescia, B. Calvo, C. Cocco, E. Cotel, E. Esposito, A. Ferrati, A. Formisano, L. Giovanello, G. Gonnella, G. Occolo, E. Stemer, E. Tokgözoğlu, M. Villo

Per cortesia tenga presente che il conflitto di interessi verrà pubblicato su ogni articolo.

Please note that a conflict of interest statement is published with each paper.

Per cortesia dichiarare qui di seguito l'eventuale conflitto di interesse

If any conflict exists, please define hereafter:

(Se non è presente alcun conflitto scriva "Nessuno", altrimenti descriva gli accordi/interessi finanziari con una o più organizzazioni che potrebbero essere percepiti come reali o apparenti conflitti di interesse in relazione ai contenuti del suo articolo.)

(If none, "None" or describe financial interest/arrangement with one or more organizations that could be perceived as a real or apparent conflict of interest in the context of the subject of this article):

.....
Nessuno.....
.....
.....
.....

Nome/Name

D'AUBIZIO FEDERICA

Firma/Signature

Federica D'Aubizio

Data/Date

23/06/2014

Per cortesia compili questo documento e lo carichi in Editorial Manager insieme al suo articolo.

Please fill in this document and upload it in Editorial Manager while submitting your manuscript.