



Universidade Federal do Rio de Janeiro

Centro de Ciências da Saúde

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-graduação em Endocrinologia

**Avaliação do perfil glicêmico em pacientes com
incidentaloma adrenal**

Julia Magarão Costa

Rio de Janeiro

2023



Universidade Federal do Rio de Janeiro

Centro de Ciências da Saúde

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-graduação em Endocrinologia

Avaliação do perfil glicêmico em pacientes com incidentaloma adrenal

Julia Magarão Costa

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Endocrinologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Endocrinologia.

Orientador:

Prof. Dr. Leonardo Vieira Neto – Doutor em Medicina – Endocrinologia; Prof. Adjunto da Faculdade de Medicina da UFRJ

Rio de Janeiro

Fevereiro 2023

Ficha Catalográfica

Costa, Julia Magarão

Avaliação do perfil glicêmico em pacientes com incidentaloma adrenal. / Julia Magarão Costa. – Rio de Janeiro: UFRJ / Centro de Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina, 2023.

76 f. : il. ; 31 cm.

Orientador: Leonardo Vieira Neto

Dissertação (mestrado) – UFRJ / Centro de Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina (Endocrinologia), 2023.

Referências: f. 67-76

1. Diabetes Mellitus. 2. Achados Incidentais. 3. Adenoma Adrenocortical. 4. Endocrinologia – Tese. I. Vieira Neto, Leonardo. II. UFRJ, CCS, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina (Endocrinologia). III. Título.

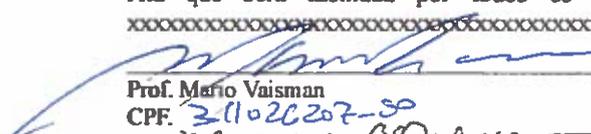


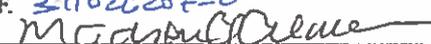
Universidade Federal do Rio de Janeiro
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Endocrinologia

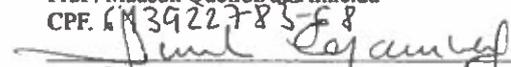
**ATA DE DEFESA DA DISSERTAÇÃO DO MESTRADO Julia Magarão Costa
DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
(ENDOCRINOLOGIA).**

Aos 15 dias do mês de fevereiro de dois mil e vinte três, às 09:30 horas, realizou-se no Auditório Halley Pacheco, Bl E, 8º andar, no Hospital Clementino Fraga Filho, na Cidade Universitária, a defesa da dissertação do mestrado da candidata **Julia Magarão Costa** intitulada: **AVALIAÇÃO DO PERFIL GLICÊMICO EM PACIENTES COM INCIDENTALOMA ADRENAL**. O trabalho foi orientado pelo Professor: **Leonardo Vieira Neto**. A Banca examinadora foi presidida pelo professor **Mario Vaisman** e composta pelos professores **Madson Queiroz de Almeida** e **Lenita Zajdenverg**. Iniciados os trabalhos, a aluna apresentou, em quarenta minutos, os objetivos, a metodologia, os resultados e as conclusões de seu trabalho. Em seus comentários, os examinadores procederam à arguição, indicando pontos passíveis de aperfeiçoamento na dissertação. A aluna replicou, agradecendo as sugestões e esclarecendo a sua opinião sobre os itens discutidos pelos examinadores. Após a aprovação, a aluna terá prazo máximo de sessenta dias para homologação, ficando determinado pela Banca que o orientador, prof. **Leonardo Vieira Neto** será a responsável para atestar se as modificações realizadas estão de acordo com o exigido pela Banca. Em seguida, a Banca Examinadora decidiu pela aprovação da candidata. Cumpridas as exigências; a candidata fará jus ao grau de Mestre em Medicina. Área de Concentração Endocrinologia. Nada mais havendo a tratar, foi encerrada a sessão e lavrada a presente Ata que será assinada por todos os membros da banca e pela candidata.

XX


Prof. Mario Vaisman
CPF. 311020207-50


Prof. Madson Queiroz de Almeida
CPF. 61392278568


Prof. Lenita Zajdenverg
CPF. 81204442720

Candidata: Julia Magarão Costa

Agradecimentos

Ao meu orientador, Dr. Leonardo, um verdadeiro gênio da endocrinologia, por ter me guiado com tamanha maestria nesse caminho. Obrigada pela paciência e amparo a todo o momento, o que garantiu o meu equilíbrio até aqui. Obrigada por sempre dividir seu conhecimento e experiência e por nunca medir esforços pelos seus alunos.

À Dra. Joana Dantas por ter me inspirado a fazer endocrinologia e por me ensinar todos os dias sobre a arte que é tratar diabetes. Obrigada por me oferecer tantas oportunidades e por sempre se alegrar com cada conquista minha.

Aos meus grandes parceiros nessa jornada: João, Andrea, Fernanda, Mari e Aline. Obrigada por me ajudarem a carregar todas as pedras que surgiram. O castelo que estamos construindo está ficando cada dia mais lindo!

Às alunas da iniciação científica: Juliana, Bia e Michele. Obrigada por toda a dedicação e apoio. Espero ter conseguido contribuir com a formação de vocês.

Aos funcionários do laboratório de Líquor, onde são realizados os testes: Seu Luis, seu Euclides e todos que participam das coletas. Obrigada pela disponibilidade e atenção e por todo carinho com os pacientes.

À Dra. Eugenia por todas as contribuições para esse trabalho. Obrigada por ser um grande exemplo na minha vida acadêmica.

Aos meus grandes amigos e todas as pessoas que contribuem constantemente para o meu crescimento como ser humano.

À minha família de origem: meu pai, minha mãe e meu irmão. Obrigada por terem me ensinado sobre caráter, determinação e persistência.

À minha família em formação: Gui, Prolia e Logan, meus grandes amores. Obrigada por virarem a minha vidinha de cabeça para baixo e fazerem cada segundo valer a pena! Amo muito vocês!

Sempre escutei a frase: “Fazer ciência no Brasil é um desafio”. Após todos esses anos de trabalho duro, concordo totalmente com essa frase. Entretanto, muito maior do que qualquer desafio, é a nossa vontade de oferecer sempre o nosso melhor! Desejo muito que todo esse conhecimento guardado nessas páginas possa ser útil para a UFRJ, universidade responsável por toda a minha formação médica, para o meu país, que eu tanto amo e me orgulho e, quem sabe, para o mundo. Mas, sem dúvidas, a maior transformação que esse estudo poderia causar já aconteceu: hoje tenho certeza absoluta de que, qualquer sonho que se sonhar, é possível realizar! Obrigada, Deus!

Dedicatória

Aos pacientes:

“Segurar a alma humana na palma da mão como um cascalho. Sentir um ser humano fugindo da vida, mas por seus atos trazê-lo de volta! Nem um rei podia ter tanto poder”

“Poderia aprender mais? Quanto se podia aprender? Como seria, o médico perguntava a si mesmo, aprender tudo o que tinham para ensinar?”

“Eu não faria o que você faz, a não ser que pudesse aprender tudo o que há para saber. O médico ficou chocado vendo que o rapaz tinha chegado imediata e claramente à conclusão que ele levava tanto tempo para alcançar”

(Trechos do Livro: *The Physician*)

Nunca iremos saber tudo. Mas espero me lembrar, todos os dias, da enorme responsabilidade que adquiri ao escolher ser médica. Buscando sempre aprender mais para poder oferecer o melhor tratamento aos meus pacientes, fiz essa pesquisa.

RESUMO

Avaliação do perfil glicêmico em pacientes com incidentaloma adrenal

Julia Magarão Costa

Orientador: Prof. Leonardo Vieira Neto

Resumo da Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Endocrinologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Endocrinologia.

Introdução: Pacientes com secreção autônoma de cortisol (SAC) apresentam maior incidência de obesidade central, intolerância à glicose, síndrome metabólica e diabetes mellitus (DM). Recentemente, estudos mostraram um aumento dessas condições também em incidentalomas adrenais não funcionantes (IANF). Pacientes com hipercortisolismo manifesto evoluem com alterações glicêmicas principalmente por mecanismos que induzem intolerância à glicose, assim, o teste oral de tolerância à glicose com 75g de dextrose (TOTG) é considerado de suma importância nessa população. No entanto, ainda faltam estudos que demonstrem a importância do TOTG em pacientes com incidentaloma adrenal (IA).

Objetivos: Comparar a prevalência de pré-DM e DM entre pacientes com IANF, SAC e controles. Avaliar a área sob a curva (ASC) no TOTG e descrever se o TOTG foi determinante para esses diagnósticos em cada população.

Materiais e métodos: 65 IANF (teste de supressão com dexametasona [DST] 1mg $\leq 1,8\mu\text{g/dL}$), 45 SAC (1mg DST $\geq 1,9\mu\text{g/dL}$) e 56 controles foram avaliados neste estudo transversal. O grupo controle foi selecionado com base em um exame de imagem adrenal normal. Os pacientes foram classificados em normoglicemia, pré-DM e DM de acordo com os resultados da glicemia de jejum, hemoglobina glicada

e TOTG.

Resultados: Não houve diferenças entre IANF, SAC e controles em relação à idade, sexo, etnia e menopausa. Os pacientes com IA apresentaram maior índice de massa corpórea (IMC) (31,6 vs. 29,0 kg/m²; p=0,008) e circunferência abdominal (102,8 vs. 97,3 cm; p=0,02). ASC foi maior no grupo SAC e IANF em comparação ao grupo controle (9118,1 vs. 8627,3 vs. 7185,8, respectivamente; p=0,007). A análise de regressão linear múltipla para avaliar os efeitos das variáveis independentes na ASC mostrou que a presença de IA foi determinante para esse resultado. A frequência de disglícemia (pré-DM e DM) foi maior no grupo SAC e IANF em relação ao grupo controle (91,1% vs. 90,8% vs. 73%, respectivamente; p=0,01). O TOTG foi capaz de alterar a classificação da disglícemia em 25,9% dos pacientes com SAC e 23,9% com IANF, enquanto no controle alterou apenas em 3,1% (p=0,03).

Conclusão: Pacientes com IA apresentaram maior glicemia no TOTG quando avaliados pela ASC, sendo a presença de IA determinante para esse resultado. A frequência de disglícemia foi maior nos grupos SAC e IANF, sem diferença entre eles. A presença de IA aumentou em 9,5 vezes a razão de chances de um indivíduo se beneficiar do TOTG para classificação de disglícemia mais acurada.

Palavras-chave: incidentaloma adrenal, adenoma adrenal, diabetes mellitus, disglícemia

Abstract

Assessment of the glycemic profile in patient with adrenal incidentaloma

Julia Magarão Costa

Orientador: Prof. Leonardo Vieira Neto

Abstract da Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Endocrinologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Endocrinologia.

Introduction: Patients with autonomous cortisol secretion (ASC) have a higher incidence of central obesity, glucose intolerance, metabolic syndrome and diabetes mellitus (DM). Recently, studies have shown an increase of these conditions also in non-functioning adrenal incidentalomas (NFAI). Patients with manifest hypercortisolism evolve with glycemic alterations mainly due to mechanisms that induce glucose intolerance, thus, the oral glucose tolerance test with 75g of dextrose (OGTT) is considered of paramount importance in this population. However, studies demonstrating the importance of OGTT in patients with adrenal incidentaloma (AI) are still lacking.

Objectives: To compare the prevalence of pre-DM and DM among patients with NFAI, ASC and controls. Evaluate the area under the curve (AUC) in OGTT and describe whether OGTT was determinant for these diagnoses in each population. **Materials and methods:** 65 NFAI (dexamethasone suppression test [DST] 1mg \leq 1.8 μ g/dL), 45 ASC (1mg DST \geq 1.9 μ g/dL) and 56 controls were evaluated in this cross-sectional study. The control group was selected on the basis of normal adrenal imaging. Patients were classified into normoglycemia, pre-DM and DM according to the results of fasting glycemia, glycated hemoglobin and OGTT.

Results: There were no differences between NFAI, ACS and controls regarding age, sex, ethnicity and menopause. Patients with AI had a higher body mass index (BMI) (31.6 vs. 29.0 kg/m²; p=0.008) and waist circumference (102.8 vs. 97.3 cm; p=0.02). AUC was higher in the ACS and NFAI group compared to the control group (9118.1 vs. 8627.3 vs. 7185.8, respectively; p=0.007). Multiple linear regression analysis to assess the effects of the independent variables on the AUC showed that the presence of AI was determinant for this result. The frequency of dysglycemia (pre-DM and DM) was higher in the ACS and NFAI group compared to the control group (91.1% vs. 90.8% vs. 73%, respectively; p=0.01). OGTT was able to change the dysglycemia classification in 25.9% of patients with ACS and 23.9% with NFAI, while in the control it only changed in 3.1% (p=0.03).

Conclusion: Patients with AI had higher glycemia in the OGTT when evaluated by the AUC, with the presence of AI being a determinant for this result. The frequency of dysglycemia was higher in the ACS and NFAI groups, with no difference between them. The presence of IA increased the odds ratio for a subject to be benefit by OGTT for a more accurate dysglycemia classification in 9.5 times

Keywords: adrenal incidentaloma, adrenal adenoma, diabetes mellitus, dysglycemia

Rio de Janeiro

Fevereiro 2023

Sumário

	Página
I Lista de Siglas e abreviaturas	12
II Apresentação do projeto	14
III Originalidade	18
IV Revisão da literatura	19
V Objetivos	44
VI Artigo	45
VII Considerações finais e perspectivas	64
VIII Referências bibliográficas	65

I. Siglas e abreviaturas

American Association of Clinical Endocrinology (AACE)

American Diabetes Association (ADA)

Área sob a curva (ASC)

Circunferência abdominal (CA)

Doença arterial coronariana (DAC)

Diabetes mellitus (DM)

Diabetes mellitus tipo 2 (DM2)

Dislipidemia (DLP)

Esteato hepatite não alcoólica (NASH)

Fenótipo intermediário (FI)

Fosfoenolpiruvato quinase (PEPCK)

Glicemia de jejum (GJ)

Glicemia de jejum alterada (GJA)

Glicemia plasmática no tempo de 2 horas (2h GP)

Glicocorticoides (GC)

Hemoglobina glicada (HbA1c)

Hipercortisolismo subclínico (HS)

Hipertensão arterial sistêmica (HAS)

Hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA)

Hormônio adrenocorticotrófico (ACTH)

Hospital Universitário Clementino Fraga Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro (HUCFF / UFRJ)

Incidentaloma adrenal (IA)

Incidentaloma adrenal não funcionante (IANF)

Índice de massa corpórea (IMC)

Inibidor da glicogênio sintase (GSK3)

Intolerância à glicose (IG)

Pressão arterial (PA)

Ressonância magnética (RM)

Secreção autônoma de cortisol (SAC)

Síndrome de Cushing (SC)

Síndrome metabólica (SM)

Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD)

Sulfato de deidroepiandrosterona (S-DHEA)

Teste de supressão com 1 mg de dexametasona (TSD - 1 mg)

Teste de supressão com 2 mg de dexametasona (TSD - 2 mg)

Teste oral de tolerância à glicose (TOTG)

Teste oral de tolerância à glicose com 75g de sobrecarga (TOTG 75g)

Tomografia computadorizada (TC)

Transportador de glicose 2 (GLUT 2)

Transportador de glicose 4 (GLUT 4)

Unidade Hounsfield (UH)

II. Apresentação do projeto

Incidentaloma adrenal (IA) é uma massa adrenal encontrada em exames de imagem realizados por outros motivos não relacionados com doenças adrenais (Zeiger *et al.*, 2011) (Fassnacht *et al.*, 2016). Com o desenvolvimento progressivo da tecnologia utilizada nos exames de imagem e sua maior disponibilidade, o IA vem sendo identificado com maior frequência. A incidência aumenta com a idade e estudos recentes mostram prevalência estimada de 8,7% na população geral (Zeiger *et al.*, 2009).

A hipersecreção hormonal mais comum é de cortisol, com incidência média de 8,1% na população, incluindo tanto pacientes com síndrome de Cushing (SC) manifesta quanto pacientes com a forma subclínica da doença (Lee *et al.*, 2017).

No passado a SC subclínica era definida como "evidência bioquímica de excesso de cortisol", identificada a partir de diferentes valores de cortisol após o teste de supressão com 1 mg de dexametasona (TSD-1mg), em pacientes sem sinais / sintomas específicos da doença, como fragilidade capilar e fraqueza muscular proximal (Yanase *et al.*, 2018). Atualmente, este termo encontra-se em desuso e as últimas diretrizes sugerem classificar os pacientes com valores de cortisol > 5,0 mcg/dL após o TSD-1mg como portadores de "provável secreção autônoma de cortisol" ou simplesmente "secreção autônoma de cortisol" (SAC) e "fenótipo intermediário" (FI) ou "possível SAC" para pacientes com valores de cortisol entre 1,9 e 5,0 mcg/dL após o TSD-1mg (Zeiger *et al.*, 2011) (Fassnacht *et al.*, 2016) (Lee *et al.*, 2017) (Yanase *et al.*, 2018) (Tabarin, 2018).

Está bem estabelecido na literatura que pacientes com hipercortisolismo subclínico (HS – cortisol TSD-1mg > 1,8 mcg/dL) apresentam maior incidência de obesidade central, hipertensão arterial sistêmica (HAS), intolerância à glicose (IG), diabetes mellitus (DM), dislipidemia (DLP), síndrome metabólica (SM) e fraturas (Mantero; Arnaldi, 2000) (Tauchmanova, 2000). Esses pacientes são expostos a um excesso de cortisol, não tão elevado a ponto de causar os estigmas clássicos da SC clinicamente manifesta, porém de forma crônica, o que é capaz de aumentar o risco cardiovascular (Rossi *et al.*, 2000) (Erbil *et al.*, 2006) (Zeiger *et al.*, 2011) (Di Dalmazi *et al.*, 2014).

Apesar de apresentarem supressão dos níveis de cortisol no TSD-1mg (valores menores ou igual a 1,8 mcg/dL), os pacientes com incidentalomas adrenais não funcionantes (IANF) também apresentaram maior incidência de HAS, DM, obesidade e SM em estudos mais recentes (Di Dalmazi *et al.*, 2012) (Morelli *et al.*, 2014) (Cavalari *et al.*, 2018) (Taya *et al.*, 2019).

Diversos trabalhos associaram os níveis de cortisol com a gravidade dos distúrbios metabólicos em pacientes com tumores adrenais (Yanase *et al.*, 2018), (Tabarin, 2018). Dessa forma, especialistas no assunto sugerem que atualmente os resultados do TSD-1mg sejam interpretados como uma variável contínua e não categórica. Além disso, supõe-se que os pacientes com IANF possam ter secreção minimamente aumentada de intermediários da via glico-e/ou mineralocorticoide não detectada pelos métodos atualmente disponíveis na prática clínica, porém suficiente para causar alterações metabólicas (Fassnacht *et al.*, 2016) (Tabarin, 2018). Outra hipótese seria uma alteração do ritmo circadiano na secreção de cortisol, sem

expressão laboratorial evidente, que poderia contribuir para o agravamento das alterações metabólicas (Di Dalmazi, 2019).

Especificamente sobre as alterações glicêmicas, os principais *guidelines* atuais para o manejo de IA não relacionam o IANF a comorbidades desta natureza. Já o FI e a SAC são citados como condições associadas à IG e DM. Porém, não há referência a nenhuma estratégia específica para realizar o rastreio dessas condições nessas populações (Zeiger *et al.*, 2009) (Zeiger *et al.*, 2011) (Fassnacht *et al.*, 2016) (Lee *et al.*, 2017).

Sabe-se que o hipercortisolismo crônico, ainda que leve, afeta diversos órgãos e tecidos responsáveis pela homeostase glicêmica e provoca alterações na glicemia de jejum (GJ) e, especialmente, no teste oral de tolerância à glicose (TOTG), aumentando o risco de DM. Entretanto, a importância da utilização do TOTG como método de rastreio para pré DM e DM ainda é pouco estudada em pacientes com IA. (Scaroni *et al.*, 2017) (Barbot *et al.*, 2018).

Este projeto busca avaliar a frequência de pré DM e DM em pacientes com IA quando comparado com um grupo controle de indivíduos com exame de imagem das adrenais sem alterações. Os estudos disponíveis na literatura até o presente momento foram realizados com poucos pacientes, raramente utilizando um grupo controle para comparação e a classificação de SAC foi heterogênea (Reincke *et al.*, 1996) (Fernández-Real *et al.*, 1998) (Terzolo *et al.*, 2002) (Terzolo *et al.*, 2005), (Cavalari *et al.*, 2018) (Di Dalmazi, 2019) (Reimondo *et al.*, 2020). Além disso, para o diagnóstico de pré DM e DM foram utilizados apenas um ou dois dos três critérios sugeridos pela *American Diabetes Association* (ADA) ou diagnóstico autorreferido

pelos pacientes, sem comprovação laboratorial (Standards of medical Care in Diabetes, 2022).

Uma vez que o TOTG possui destaque no diagnóstico dessas condições em pacientes com hipercortisolismo crônico, outro ponto que este trabalho visa elucidar é o quanto o TOTG pode ser determinante na classificação de pré DM e DM nos pacientes com IA (Scaroni *et al.*, 2017) (Barbot *et al.*, 2018).

III. Originalidade

Neste estudo observacional transversal foram incluídos pacientes com IA e indivíduos com glândulas adrenais normais (grupo controle) com confirmação diagnóstica por exame de imagem. Todos os pacientes foram submetidos ao TSD-1mg e classificados de acordo com as últimas diretrizes (Fassnacht *et al.*, 2016).

Para avaliação do perfil glicêmico, utilizamos os três critérios propostos pela ADA e pela Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD): GJ, hemoglobina glicada (HbA1c) e valor da glicemia plasmática no tempo de duas horas (2h GP) durante o TOTG com 75g de sobrecarga (TOTG 75g) (Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018) (Standards of medical Care in Diabetes, 2022). Sabe-se que a concordância entre os testes para diagnóstico de pré DM e DM não é ótima e que cada teste parece destacar diferentes aspectos fisiopatológicos da disglucemia (Kanat *et al.*, 2011) (Chatzianagnostou *et al.*, 2019). Em pacientes com hipercortisolismo crônico, o período pós-prandial parece ser o mais crítico em relação à hiperglicemia e por isso o TOTG tem importante papel no diagnóstico de disglucemias nessa população (Scaroni *et al.*, 2017) (Barbot *et al.*, 2018). Porém, até o momento, não encontramos relatos na literatura avaliando especificamente a importância do TOTG na classificação de disglucemia em pacientes com IA.

Após extensa revisão bibliográfica, acreditamos que o nosso trabalho possa responder algumas perguntas relevantes sobre alterações glicêmicas e IA que ainda se encontram sem respostas na literatura.

IV. Revisão da literatura

1 – Incidentaloma adrenal

Os IA são definidos como tumores adrenais assintomáticos maiores que 1 cm diagnosticados em exames de imagem de forma incidental. Pacientes submetidos a exames de imagem como parte do estadiamento e investigação de malignidade não devem ser incluídos nessa definição (Zeiger *et al.*, 2011) (Fassnacht *et al.*, 2016).

A prevalência de IA em estudos de autópsia é heterogênea, variando de 1,1% até 32%, com um aumento da frequência com a idade (Ioachimescu *et al.*, 2015).

Uma vez identificados, os IA devem ser avaliados quanto ao risco de malignidade e produção hormonal (Zeiger *et al.*, 2009) (Zeiger *et al.*, 2011) (Fassnacht *et al.*, 2016). Até 80% dos IA são adenomas benignos não funcionantes, entre 10 – 15% são lesões benignas com secreção hormonal, em torno de 5% são lesões malignas, como carcinoma adrenocortical e metástases e o restante constituem ganglioneuromas, mielolipomas ou cistos benignos (Zeiger *et al.*, 2009).

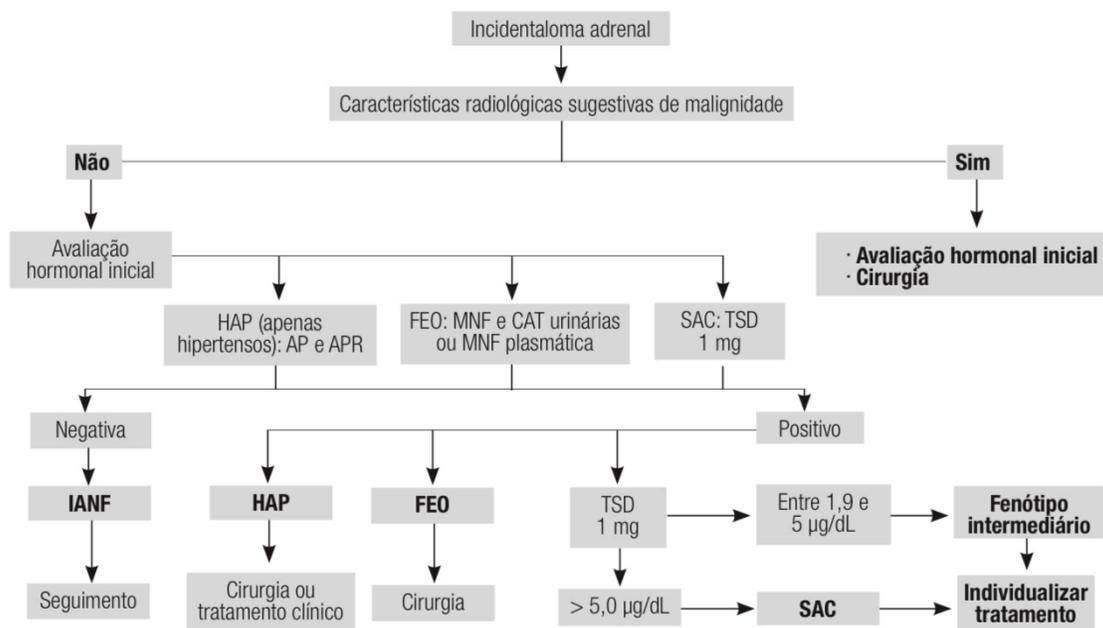
Para distinção de lesões benignas e malignas, os melhores exames são a tomografia computadorizada (TC) e a ressonância magnética (RM). Algumas características da lesão como tamanho maior de seis centímetros, bordos irregulares, limites imprecisos, massas heterogêneas, baixo conteúdo lipídico e eliminação de contraste lentificada sugerem malignidade (Aron *et al.*, 2012) (Mendiratta-Lala *et al.*, 2017).

O rastreio bioquímico para hipercortisolismo e feocromocitoma deve ser realizado em todos os pacientes com IA, por meio do TSD-1mg e da dosagem de

metanefrinas urinárias, respectivamente. A relação entre aldosterona plasmática e atividade de renina plasmática para investigação de hiperaldosteronismo primário deve ser restrita aos pacientes hipertensos. É consenso que pacientes com tumores com características radiológicas sugestivas de malignidade ou produtores de metanefrinas ou catecolaminas, bem como pacientes com SC manifesta devem ser submetidos à adrenalectomia (Zeiger *et al.*, 2009) (Zeiger *et al.*, 2011) (Fassnacht *et al.*, 2016).

O manejo inicial de um paciente com IA encontra-se resumido na figura 1, de acordo com o Departamento de Adrenal e Hipertensão da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (Vieira Neto *et al.*, 2021).

Figura 1: Algoritmo de abordagem inicial do paciente com diagnóstico de IA.

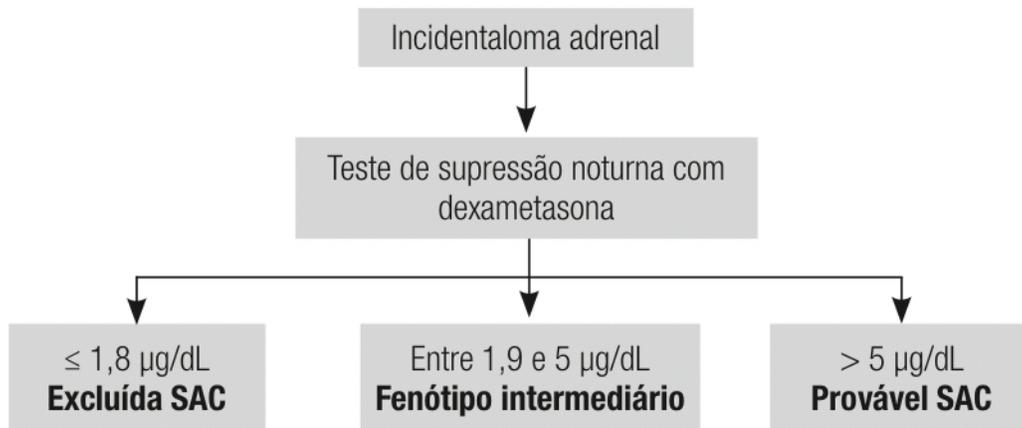


Fonte: Vieira Neto, L *et al.*, 2021.

HAP: hiperaldosteronismo primário; AP: aldosterona plasmática; APR: atividade plasmática de renina; FEO: feocromocitoma; MNF: metanefrinas; CAT: catecolaminas; SAC: secreção autônoma de cortisol; TSD 1 mg: teste de supressão com 1 mg de dexametasona; IANF: incidentaloma adrenal não funcionante.

A SAC é o distúrbio hormonal mais comum, diagnosticado em 30-50% dos pacientes com IA. Os principais consensos concordam que o primeiro teste para rastreio dessa condição deve ser o TSD-1mg, uma vez que é um exame prático e confiável (Terzolo *et al.*, 2011). Os pontos de corte variam na literatura, mas utilizando valores de cortisol após o TSD-1mg acima de 5 mcg/dL, o exame torna-se mais específico, enquanto valores acima de 1,8 mcg/dL são mais sensíveis (Terzolo *et al.*, 2011). Na figura 2 resumimos a classificação proposta pelo *guideline* europeu e pelo Departamento de Adrenal e Hipertensão da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (Fassnacht *et al.*, 2016) (Vieira Neto *et al.*, 2021).

Figura 2: Avaliação da secreção autônoma de cortisol em pacientes com IA.



Fonte: Vieira Neto, L *et al.*, 2021.

IA: incidentaloma adrenal; SAC: secreção autônoma de cortisol

A realização de um segundo exame que avalie o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) nesses pacientes ainda é motivo de discussão. Autores sugerem a dosagem sérica do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), dosagem sérica do sulfato de deidroepiandrosterona (S-DHEA), realização do *Liddle 1* (dosagem de

cortisol após 2 mg de dexametasona), medida de cortisol salivar noturno ou avaliação do cortisol livre urinário em urina de 24 horas. Entretanto, ainda não há consenso sobre qual teste deveria ser realizado na sequência dessa investigação (Chiodini, 2011).

1.2. Acompanhamento clínico do IA

Outro ponto importante de discussão é acerca do acompanhamento dos pacientes com IA após exclusão de malignidade, feocromocitoma, SC e hiperaldosteronismo primário. No acompanhamento de pacientes com IANF e SAC, destacam-se quatro aspectos:

a) *Características da massa no exame de imagem*

O risco de crescimento do IANF e SAC não é elevado e é extremamente raro ocorrer transformação maligna quando as características da massa no exame de imagem são de benignidade. Uma recente metanálise mostrou que, em um seguimento médio de 41,9 meses, o aumento no tamanho de qualquer grau foi observado em apenas 6,3% dos 3043 pacientes com IANF ou SAC; já um aumento de pelo menos 10 mm foi relatado em 2,5% dos pacientes com IANF ou SAC, sendo que nenhum dos pacientes apresentou transformação maligna (Loh *et al.*, 2017).

Em relação ao seguimento com imagem, o consenso europeu orienta a não repetir o exame em tumores menores que quatro centímetros com índice de atenuação menor ou igual a 10 unidade Hounsfield (UH) à TC. Enquanto para massas indeterminadas à TC, os autores sugerem ou repetir a TC em 6-12 meses, complementar com outro método de imagem ou então, encaminhar para cirurgia.

Caso haja crescimento do tumor, mas sem indicação de abordagem cirúrgica, o exame deve ser repetido em 6-12 meses (Fassnacht *et al.*, 2016).

De acordo com as rotinas do nosso ambulatório de Doenças Adrenais do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro (HUCFF / UFRJ), considerando que a realização de exames de imagem gera custos, ansiedade e exposição à radiação, recomendamos a realização de apenas mais um exame de imagem dedicado para adrenal em 6-12 meses após o primeiro nos casos de massa indubitavelmente benigna (tumores menores que 4-6 cm com índice de atenuação menor ou igual a 10 HU à TC). Para as massas indeterminadas que não foram submetidas à ressecção cirúrgica o exame deve ser repetido em seis meses. A frequência de realização do exame de imagem nesses casos deve ser individualizada, de acordo com os achados no segundo exame.

b) *Desenvolvimento de secreção hormonal*

Nos pacientes inicialmente diagnosticados com IANF, o risco do tumor se tornar funcionante é baixo e a SAC é a mais frequentemente desenvolvida (Loh *et al.*, 2017). Na metanálise citada anteriormente, de 2.745 pacientes acompanhados por um período médio de 49,6 meses, apenas seis pacientes (0,2%) desenvolveram SC clinicamente manifesta (cinco IANF e um SAC), três desenvolveram feocromocitoma e nenhum deles desenvolveu hiperaldosteronismo primário. A progressão de IANF para SAC foi observada em 4,3% de 2.083 pacientes acompanhados por 50,3 meses e houve resolução da SAC em 18 entre 840 pacientes acompanhados por 49,8 meses (Loh *et al.*, 2017).

Para pacientes com IANF, a maioria dos autores recomenda reavaliação da secreção hormonal uma vez ao ano por um período de 5 anos (Zeiger *et al.*, 2009) (Zeiger *et al.*, 2011) (Lee *et al.*, 2017). Já para pacientes com SAC, a maioria dos consensos atuais sugere reavaliação hormonal anual com TSD-1mg, ou a qualquer momento caso haja piora das comorbidades potencialmente relacionadas ao excesso de cortisol. Essa mesma conduta é seguida no nosso ambulatório (Zeiger *et al.*, 2009) (Zeiger *et al.*, 2011) (Fassnacht *et al.*, 2016) (Lee *et al.*, 2017).

As rotinas do nosso ambulatório recomendam para pacientes com IANF sem comorbidades cardiometabólicas que a reavaliação com o TSD-1mg pode ser realizada a cada 2 anos e, para aqueles com comorbidades, anualmente. Demais reavaliações hormonais devem ser realizadas apenas se surgirem novos sinais clínicos que sugiram atividade endócrina ou caso haja piora de comorbidades como HAS, DM, SM e baixa massa óssea.

c) Avaliação de comorbidades associadas

Diversos estudos já mostraram associação não apenas de SAC, mas também IANF, com HAS, hipertensão resistente, IG, DM, SM, obesidade, DLP, osteoporose e esteato hepatite não alcoólica (NASH). Alguns relatos também mostraram maior incidência de eventos cardiovasculares e fraturas vertebrais quando comparados com a população geral. (Mantero; Arnaldi, 2000) (Tauchmanova, 2000). Apesar de, aparentemente indolentes, os IANF também estão associados a resultados metabólicos desfavoráveis. Entretanto, nenhum dos consensos atuais traz recomendações específicas para o rastreio e

acompanhamento dessas comorbidades nesse grupo de pacientes. (Morelli *et al.*, 2014) (Taya *et al.*, 2019).

Em relação à SAC, os consensos atuais orientam rastrear HAS, obesidade, resistência à insulina, DLP e osteoporose. Os autores sugerem pesquisar fraturas vertebrais assintomáticas pelo menos uma vez, na ocasião do diagnóstico. A investigação pode ser feita por meio da reavaliação de imagens disponíveis de radiografias simples, densitometria óssea, GJ, pressão arterial (PA) e níveis plasmáticos de colesterol (Zeiger *et al.*, 2009) (Zeiger *et al.*, 2011) (Fassnacht *et al.*, 2016) (Lee *et al.*, 2017).

Como, atualmente, alguns autores sugerem que os resultados do TSD-1mg sejam interpretados como uma variável contínua e não categórica, então, em nosso ambulatório, realizamos o rastreio dessas comorbidades de forma semelhante em IANF e SAC (Fassnacht *et al.*, 2016) (Tabarin, 2018). Em todas as consultas são realizadas medidas de PA, circunferência abdominal (CA), peso, altura e cálculo do índice de massa corpórea (IMC). O rastreio para DM é feito com GJ, HbA1c e TOTG 75 g. Já o rastreio de fraturas vertebrais é feito por meio da radiografia de coluna torácica e lombar. O acompanhamento desses pacientes é feito de acordo com a necessidade em função das comorbidades ou, caso o paciente não apresente nenhuma comorbidade, as consultas são realizadas anualmente, por tempo indeterminado.

d) *Indicação cirúrgica*

Como ainda é controverso o benefício da adrenalectomia em pacientes com IA, a conduta deve ser individualizada, levando-se em consideração idade, grau de

excesso de cortisol, estado geral de saúde, presença e controle de comorbidades, crescimento do tumor e opinião do paciente (Zeiger *et al.*, 2009) (Zeiger *et al.*, 2011) (Fassnacht *et al.*, 2016) (Lee *et al.*, 2017). Alguns estudos mostraram melhora ou remissão das comorbidades em pacientes com SAC após adrenalectomia (Chiodini *et al.*, 2010) (Perogamvros *et al.*, 2015). Um relato comparando os desfechos entre 23 pacientes com SAC que foram submetidos à cirurgia e 22 que seguiram tratamento conservador, mostrou que após uma média de 7,7 anos houve melhora do DM em 62,5%, de HAS em 67%, DLP em 37,5% e dos índices de obesidade em 50% dos pacientes no grupo de intervenção (Toniato *et al.*, 2009).

Em pacientes com IANF, a *American Association of Clinical Endocrinology* (AACE) considera a abordagem cirúrgica para tumores com crescimento maior do que um centímetro ou que se tornaram secretores (Zeiger *et al.*, 2009). Já a *Endocrine Society* utiliza valor de corte de 0,8 cm em três a seis meses; a *European Society of Endocrinology* se baseia no crescimento maior que 20% no maior diâmetro, considerando um valor mínimo de cinco milímetros (Zeiger *et al.*, 2011) (Fassnacht *et al.*, 2016). Por fim, a *Korean Endocrine Society* sugere conduta cirúrgica se o crescimento da lesão for superior a um centímetro ou se houver mudança nas características da imagem (Lee *et al.*, 2017).

Nos pacientes com SAC, os consensos da AACE, da *Endocrine Society* e da *Korean Endocrine Society* concordam que, até que novas evidências comprovem benefícios em longo prazo de realizar adrenalectomia, a ressecção cirúrgica fica reservada para pacientes com piora da HAS, IG, DLP ou osteoporose, ou pacientes mais jovens (< 40 anos) com diagnóstico recente ou piora dessas comorbidades (Zeiger *et al.*, 2009) (Zeiger *et al.*, 2011) (Lee *et al.*, 2017).

Já o *guideline* da *European Society of Endocrinology* frisa que na presença de osteoporose sem definição etiológica, a cirurgia deve ser considerada. Apesar de não estar bem estabelecido, o grupo europeu concorda com a indicação cirúrgica para pacientes com cortisol >5 mcg/dL após o TSD-1mg, associado com pelo menos duas comorbidades potencialmente relacionadas ao excesso de cortisol (DM, HAS, obesidade, osteoporose) com pelo menos uma mal controlada com uso de medicação. A cirurgia não estaria indicada para pacientes sem comorbidades e níveis plasmáticos de cortisol <5 mcg/dL (Fassnacht *et al.*, 2016).

Em nosso ambulatório, consideramos cirurgia caso ocorra crescimento maior que 20% no maior diâmetro do tumor (desde que esse valor seja, no mínimo, 5mm). Nos pacientes com IANF se houver desenvolvimento de SAC e não controle das comorbidades com tratamento clínico otimizado e nos pacientes com SAC se houver piora do excesso de cortisol e das comorbidades (apesar de tratamento clínico otimizado).

A tabela 1 resume as orientações das principais diretrizes atuais em relação ao IANF e, na tabela 2, estão resumidas as condutas sugeridas em relação à SAC. Já a tabela 3 resume as rotinas realizadas em nosso ambulatório.

Tabela 1 – Recomendações dos principais consensos para acompanhamento de pacientes com IANF.

	AACE	Endocrine Society	European Society of Endocrinology	Korean Endocrine Society
<i>Imagem</i>	3-6 meses e depois anualmente por 1-2 anos	3-6 meses e depois anualmente por 2 anos	6-12 meses	3-6 meses e depois anualmente por 1-2 anos
<i>Considerar cirurgia</i>	Crescimento > 1 cm ou se tornar secretor	Crescimento \geq 0,8 cm em 3-12 meses	Crescimento >20% no maior diâmetro, sendo pelo menos 5 mm	Crescimento >1cm ou mudança nas características
<i>Avaliação hormonal</i>	Anualmente por 5 anos	Anualmente por 5 anos	Sinais clínicos que sugiram atividade endócrina ou se houver piora das comorbidades	Anualmente por 4-5 anos
<i>Comorbidades</i>	-	-	-	-
<i>Acompanhamento após 5 anos</i>	-	-	-	-

American Association of Clinical Endocrinologists / AACE (2009); Endocrine Society (2011); European Society of Endocrinology (2016) e Korean Endocrine Society (2017).

Tabela 2 – Recomendações dos principais consensos para acompanhamento de pacientes com SAC.

	AACE	Endocrine Society	European Society of Endocrinology	Korean Endocrine Society
<i>Definição de SAC</i>	Cortisol pós TSD- 1mg > 5 mcg/dL	Cortisol pós TSD- 1mg > 5 mcg/dL	Cortisol pós TSD- 1mg > 1,8 mcg/dL	Cortisol pós TSD- 1 mg > 5 mcg/dL
<i>Imagem</i>	3-6 meses e depois anualmente por 1-2 anos	3-6 meses e depois anualmente por 2 anos	6-12 meses	3-6 meses e depois anualmente por 1-2 anos
<i>Avaliação hormonal</i>	-	-	Anualmente por 2-4 anos ou se houver piora das comorbidades	Anualmente
<i>Considerar cirurgia</i>	Piora das comorbidades	Jovens e pacientes com diagnóstico recente ou com piora de DM, HAS, obesidade ou osteoporose	TSD-1 mg > 5 mcg/dL e pelo menos 2 comorbidades potencialmente relacionadas ao excesso de cortisol (HAS / DM / obesidade/ osteoporose), uma delas não controlada por medicação	Piora das comorbidades (HAS, IG, dislipidemia ou osteoporose)
<i>Comorbidades</i>	HAS, IG, dislipidemia ou osteoporose	DM, HAS, obesidade ou osteoporose	Rastrear HAS, DM e fraturas assintomáticas	Rastrear HAS, DM e fratura vertebral assintomática
<i>Como</i>	-	-	Pesquisar fraturas vertebrais assintomáticas no diagnóstico	Monitorar densidade óssea, glicemia de jejum, PA e colesterol. Revisão anual do tratamento medicamentoso
<i>Seguimento</i>	-	-	Com especialista por 2-4 anos	-

American Association of Clinical Endocrinologists / AACE (2009); Endocrine Society (2011); European Society of Endocrinology (2016) e Korean Endocrine Society (2017).

TSD-1mg: teste de supressão com 1 mg de dexametasona; IG: intolerância à glicose; DM: diabetes Mellitus; HAS: hipertensão arterial sistêmica; PA: pressão arterial

Tabela 3 – Rotina de seguimento de pacientes com IANF e SAC no ambulatório de doenças adrenais do HUCFF / UFRJ

Exame de Imagem	Massas < 4-6 cm com IA < 10 HU → repetir apenas uma vez em 6-12 meses; Massas < 4-6 cm com IA > 10 HU → repetir em 6 meses.
Rastreio hormonal	A cada 1-2 anos
Comorbidades que devem ser rastreadas	HAS IG e DM Síndrome metabólica e obesidade Fraturas vertebrais Cálculo do risco cardiovascular
Frequência do acompanhamento	A cada 6-12 meses (ou de acordo com a necessidade em função das comorbidades)
Indicação cirúrgica	Caso ocorra crescimento maior que 20% do maior diâmetro (desde que esse valor seja, no mínimo, 5mm) IANF: se houver desenvolvimento de SAC e não controle das comorbidades SAC: Piora do excesso de cortisol e das comorbidades

IA: índice de atenuação; HAS: hipertensão arterial sistêmica; IG: intolerância à glicose; DM: diabetes mellitus

2. Diabetes mellitus

O DM constitui um importante problema de saúde pública na atualidade. Estima-se que a prevalência mundial seja de 8,8% na população entre 20 a 79 anos de idade (Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018). A previsão é que em 2045 existam 42 milhões de pessoas vivendo com DM na América Latina (Glovaci *et al.*, 2019).

O diabetes mellitus tipo 2 (DM2) é a forma mais comum da doença e representa 90-95% dos casos. O crescimento exponencial do DM2 pode ser atribuído ao envelhecimento da população, dietas altamente processadas, redução da prática de atividade física e aumento da prevalência de sobrepeso e obesidade. Como é uma doença silenciosa, que cursa com poucos sinais e sintomas nos primeiros anos, cerca de metade dos pacientes desconhece o diagnóstico de DM2 (Glovaci *et al.*, 2019).

Os pacientes com DM2 apresentam de duas a seis vezes mais chance de morrer por doença cardiovascular e evoluir com diversas complicações crônicas como retinopatia, nefropatia e neuropatia. O rastreio possibilita o diagnóstico e tratamento precoces e reduz o risco de desenvolvimento de complicações. Deve ser realizado em indivíduos acima de 45 anos ou em qualquer idade em pacientes com fatores de risco como: sobrepeso / obesidade, HAS ou história familiar de DM2 e síndrome do ovário policístico (Glovaci *et al.*, 2019).

2.1 Exames de rastreamento para DM2

Os seguintes exames podem ser utilizados para rastreamento para DM2: GJ, TOTG e HbA1c. A GJ é o teste mais fácil e barato, porém tem baixa sensibilidade e

muita variabilidade pré-analítica, pois pode ser influenciada pelo tempo de jejum, dieta nos dias que antecedem o exame e condições agudas, como, por exemplo, presença de uma doença aguda (Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018) (Chatzianagnostou *et al.*, 2019). O tempo de jejum recomendado para sua realização é de oito horas (Cobas *et al.*, 2022). O TOTG, que consiste na medida da glicemia em jejum e outra medida 2 horas após a sobrecarga de 75 g de glicose, é o exame mais sensível, porém é menos utilizado, uma vez que é mais longo e caro (Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018) (Chatzianagnostou *et al.*, 2019). A medida da HbA1c não necessita de jejum, é relativamente estável em um período de dois a três meses, mas sofre interferências de situações como anemia, hemoglobinopatias e uremia (Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018). Apesar de ser um exame menos sensível, possui a vantagem de ser menos influenciada por alterações do dia a dia, como estresse, mudanças na dieta e doenças (Standards of medical Care in Diabetes, 2022).

É importante perceber que resultados diferentes podem ocorrer entre os testes, ou seja, obter um valor não diagnóstico em um teste não exclui que outro teste possa ser positivo para DM num mesmo indivíduo (Chatzianagnostou *et al.*, 2019) (Standards of medical Care in Diabetes, 2022). Esse fato ocorre, provavelmente, porque existem diferentes mecanismos que provocam alterações na regulação da glicose e além disso, podem existir condições que influenciem os resultados em cada método (como, por exemplo, a interferência das hemoglobinopatias nas dosagens de HbA1c ou ausência de jejum adequado no TOTG) (Chatzianagnostou *et al.*, 2019) (Gonzalez *et al.*, 2020).

Os pacientes com alteração da GJ isolada, em geral, apresentam aumento da resistência hepática à insulina, redução e/ou disfunção das células beta pancreáticas e hipersecreção de glucagon. Enquanto em indivíduos com IG de forma isolada, há predomínio de resistência periférica à insulina, disfunção progressiva das células beta, secreção reduzida dos hormônios insulíntricos e secreção desordenada de glucagon (Jagannathan *et al.*, 2020). Já a alteração da HbA1c revela uma combinação de ambos os mecanismos (Chatzianagnostou *et al.*, 2019).

Uma vez que a concordância entre os diferentes testes é imperfeita, estudos defendem que a combinação das medidas de glicose com os níveis de HbA1c devem ser utilizados para estabelecer o diagnóstico (Gonzalez *et al.*, 2020).

A tabela 4 resume os critérios atuais utilizados pela ADA e SBD para diagnóstico de pré DM e de DM (Standards of medical Care in Diabetes, 2022) (Cobas *et al.*, 2022).

Tabela 4 – Critérios laboratoriais para o diagnóstico de pré DM e de DM

Critérios	Normal	Pré DM	DM
<i>GJ (mg/dL)</i>	< 100	100 - 125	>125
<i>Glicemia 2h após TOTG 75 g (mg/dL)</i>	<140	140 - 199	>199
<i>HbA1c (%)</i>	<5,7	5,7 - 6,4	>6,4

Fonte: Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes, 2022. DM: diabetes mellitus; GJ: glicemia de jejum; TOTG 75g: teste oral de tolerância à glicose com 75g de sobrecarga; HbA1c: hemoglobina glicada

2.1.1 O TOTG e área sob a curva

Utilizado há mais de 100 anos, o TOTG é o teste mais sensível para o diagnóstico de DM (Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018) (Jagannathan *et al.*, 2020).

Alguns estudos demonstraram que o formato da curva de glicose no TOTG poderia ser um marcador prognóstico do DM2. Apesar do valor da 2h GP após o TOTG 75g ser o mesmo entre indivíduos, a área sob a curva (ASC) pode ser diferente. Diversos trabalhos mostram superioridade da ASC em identificar indivíduos com maior risco de progredir futuramente para DM2, apesar de aplicabilidade clínica limitada (Jagannathan *et al.*, 2020).

Uma metanálise com 15 estudos e mais de 35.000 pacientes mostrou que a medida da glicemia com 1 hora no TOTG 75g tem correlação com a ASC. Valores maiores que 208 mg/dL, nesse tempo, são capazes de predizer o diagnóstico de DM com 95% de sensibilidade e 94% de especificidade. Já um valor maior que 155 mg/dL, nesse tempo, foi um excelente preditor de risco cardiovascular (Jagannathan *et al.*, 2020) (Ahuja *et al.*, 2021).

Em relação aos valores da ASC, um estudo demonstrou que o ponto de corte de 290 mg h/dL possui sensibilidade de 90% e especificidade de 93% em identificar indivíduos com DM e IG (Sakaguchi *et al.*, 2015).

3. Alterações glicêmicas e hipercortisolismo

A exposição crônica ao excesso de glicocorticoides (GC), tanto endógenos quanto exógenos, afeta o metabolismo glicêmico e contribui para o aumento da morbimortalidade. A ação dos GC nos tecidos ocorre principalmente através da

indução da transcrição de genes específicos envolvidos no metabolismo (Scaroni *et al.*, 2017) (Barbot *et al.*, 2018).

No fígado, os GC alteram a ação da insulina ao induzir a transcrição de enzimas envolvidas na gliconeogênese, principalmente glicose-6-fosfatase e a fosfoenolpiruvato quinase (PEPCK), que acarreta o aumento da produção e liberação hepática de glicose. Além disso, a exposição crônica aos GC provoca aumento da expressão hepática de 11 β -hidroxiesteroide desidrogenase tipo 1, enzima que confere bioatividade à cortisona por meio da sua conversão em cortisol. Esse aumento da forma ativa do cortisol exacerba ainda mais os efeitos deletérios do GC nos tecidos (Scaroni *et al.*, 2017) (Barbot *et al.*, 2018).

Já no músculo, os GC inibem a captação e utilização de glicose tanto por mecanismos genômicos quanto não genômicos, como através da redução da expressão do transportador de glicose 4 (GLUT 4) e da ativação do inibidor da glicogênio-sintase (GSK3). Os GC provocam também atrofia das fibras musculares tipo II e reduzem a síntese proteica muscular (Scaroni *et al.*, 2017) (Barbot *et al.*, 2018).

No tecido adiposo os GC estimulam a diferenciação dos adipócitos promovendo adipogênese, especialmente na gordura visceral, enquanto na gordura periférica acontece lipólise, gerando o fenótipo de obesidade centrípeta e intensificando a resistência à insulina (Scaroni *et al.*, 2017) (Suh; Park, 2017) (Barbot *et al.*, 2018).

Os GC também atuam no pâncreas de forma dose dependente. Em um primeiro momento, ocorre aumento no número de células beta como forma de

superar a resistência à insulina, porém, com o uso crônico, os GC interferem na função da célula beta, prejudicando a secreção de insulina. A expressão de transportador de glicose 2 (GLUT 2), oxidação de glicose comprometida e estresse oxidativo são alguns mecanismos envolvidos nesse processo. Clinicamente, essas alterações se manifestam como hiperglicemia, principalmente pós-prandial e no período da tarde e noite (Burt *et al.*, 2011) (Suh; Park, 2017).

Em pacientes em uso de GC exógenos, a medida de GJ subestima o diagnóstico de hiperglicemia e de DM, enquanto a medida da glicose pós-prandial no período da tarde apresenta a melhor sensibilidade diagnóstica (Burt *et al.*, 2011) (Suh; Park, 2017).

Em paciente com SC manifesta o TOTG é citado como padrão ouro para o diagnóstico de DM (Scaroni *et al.*, 2017).

4. Alterações glicêmicas e incidentaloma adrenal

Diversos estudos confirmam que pacientes com IA, tanto IANF quanto FI e SAC, apresentam perfil metabólico pior do que a população geral, acarretando um maior risco cardiovascular. Dentre as alterações metabólicas descritas, observamos maior frequência de GJ alterada, IG e DM (Yener *et al.*, 2012) (Di Dalmazi *et al.*, 2014) (Morelli *et al.*, 2014) (Debono *et al.*, 2014) (Patrova, 2017) (Morelli *et al.*, 2017). Entretanto, a falta de padronização na classificação de IA e das alterações glicêmicas limita a análise dos dados.

Em 1996, Reincke *et al.* avaliaram 13 pacientes com IA após exclusão de SC manifesta, hiperaldosteronismo primário e excesso de androgênios. Do total, 11 apresentavam IMC maior que 25 kg/m² com acúmulo de gordura

predominantemente abdominal e em todos foi identificada alguma alteração glicêmica.

Fernandez-Real *et al.* em 1998, publicaram um estudo com 64 pacientes com IANF no qual o principal achado foi uma elevada prevalência de alterações glicêmicas (61%). Embora a prevalência tenha sido menor do que a descrita em pacientes com SC clinicamente manifesta, foi superior à de população de mesma idade residente na mesma região estudada.

Em 2000, Rossi *et al.* relataram frequência de 24% de DM e 12% de IOG em uma série com 50 pacientes com IA. Nesse estudo o HS foi definido a partir da resposta alterada em pelo menos dois testes para avaliar a função do eixo HHA e ausência de sinais e sintomas clássicos de SC. Doze pacientes preencheram este critério e desses metade eram obesos e 41,6% apresentavam DM. Um grupo controle composto por 107 indivíduos é citado no trabalho, porém não há descrição da avaliação do metabolismo glicêmico nesse grupo.

Ainda no ano 2000, Mantero *et al.* publicaram um estudo multicêntrico com 1.004 pacientes com IA (854 IANF e 92 HS). O HS foi definido como dois testes avaliando o eixo HHA alterados (o TSD 1 mg foi considerado alterado quando maior ou igual a 5 mcg/mL). A frequência de DM na amostra total foi de 10%. Entretanto em 13% dos pacientes não havia referência quanto ao *status* glicêmico. Em pacientes com HS a frequência de DM foi de 8%.

Em 28 pacientes com HS, Tauchmanová *et al.*, em 2002, encontraram uma prevalência de 28,6% de IOG e 35,7% de DM2. Os critérios para HS foram os mesmos utilizados por Rossi *et al.* Pacientes com HS apresentaram níveis maiores de GJ do que indivíduos do grupo controle.

Nesse mesmo ano, um estudo controlado com 41 pacientes mostrou maior prevalência de IG nos pacientes com IA (36% em IA *versus* 14% controles), sendo que pacientes com IA tiveram níveis mais elevados de glicemias no TOTG nos tempos 60', 90' e 120 minutos. Em pacientes com IA a frequência de DM não diagnosticado previamente foi de 5%. Entretanto, pacientes com alterações prévias de glicose foram excluídos desse estudo. Outro resultado interessante desse trabalho foi que o valor da 2h GP foi significativamente maior em pacientes com HS (classificados segundo os critérios vigentes na época) (Terzolo *et al.*, 2002).

Em 2003, um trabalho realizou TOTG em pacientes com IA após a exclusão de feocromocitoma e hiperaldosteronismo primário. Todos os pacientes apresentavam cortisol após TSD - 1 mg menor que 5 mcg/dL. A análise de regressão logística múltipla de IG avaliando a presença de IA, IMC e idade revelou que IG foi observado mais frequentemente em pacientes do que em controles. Uma subanálise avaliando pacientes e controles com mais de 45 anos e IMC maior que 30 kg/m² mostrou uma maior frequência de novos casos de IG e DM e maior ASC no TOTG em pacientes em relação aos controles (Vierhapper *et al.*, 2003).

Terzolo *et al.* em 2005 avaliaram 210 pacientes (144 IANF e 23 SAC) que apresentavam elevada prevalência de obesidade (21,4%) e hiperglicemia (22,4%), sem diferença significativa entre IANF e SAC, porém pacientes com cortisol sérico da meia-noite mais elevados apresentaram maiores valores de GJ e HbA1c.

Di Dalmazi *et al.* em 2012 e 2014, demonstraram maior prevalência de DM e doença arterial coronariana (DAC) em pacientes com HS em comparação com IANF, sendo a mortalidade cardiovascular mais elevada nesse primeiro grupo de pacientes. De 348 pacientes, 19 foram classificados como SAC, 126 FI e 203 como

IANF, já utilizando os critérios atuais. A prevalência de DM foi de 42%, 25% e 15%, respectivamente.

Também em 2014, Morelli *et al.* publicaram um estudo prospectivo com 206 pacientes acompanhados por 5 anos. Trinta e nove pacientes apresentaram HS definido como presença de cortisol após TSD - 1 mg maior que 5 mcg/dL ou então maior que 3 mcg/dL associado a ACTH baixo e/ou cortisol livre urinário aumentado. A prevalência inicial de DM foi de 33% em HS e 16% em IANF. Após 5 anos essa prevalência aumentou para 43% e 22%, respectivamente.

Avaliando especificamente pacientes com IANF, um estudo polonês avaliou 131 pacientes. 30,5% apresentaram DM e apenas 29,8% não apresentaram nenhuma alteração no metabolismo da glicose. A ocorrência de DM foi 4,5 vezes maior do que a população geral do país (Krzyżewska *et al.*, 2017).

Já Lopez *et al.* avaliaram o risco de pacientes com IANF desenvolverem DM ao longo de um acompanhamento médio de 7,7 anos em comparação com um grupo controle e esse risco foi 2 vezes maior.

Recentemente, Cavalari *et al.* encontraram maior frequência de pré-DM, DLP e HAS em pacientes com IANF quando comparados a um grupo controle, bem como maior CA e maior frequência de SM.

Em 2020, Reimondo *et al.* descreveram que pacientes com IA apresentaram maior IMC, CA e maior frequência de DM, sendo que em uma análise multivariada a presença de DM esteve associada à presença de IA.

Por fim, uma metanálise publicada em 2021 comparou 426 pacientes com IANF com 1342 controles. Os pacientes com IANF apresentaram um risco relativo

de 2,03 para desenvolver DM, confirmando o maior risco de disglucemia relacionada ao IANF (Athanasouli *et al.*, 2021).

Alguns autores sugerem que a resistência à insulina poderia ser, na verdade, a causa de tumores adrenais e não o contrário, uma vez que é bem estabelecido que o DM2 é fator de risco para diversos tipos de câncer em função do aumento da mitogênese estimulada pela hiperinsulinemia, hiperglicemia, fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-I) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (Reincke *et al.*, 1996).

A partir desses dados disponíveis na literatura até o momento, ainda não é possível elucidar essa relação de causa e efeito. Entretanto, alguns achados favorecem a hipótese de que os tumores adrenais são precursores às alterações metabólicas, como por exemplo, o fato de os níveis de cortisol se correlacionarem com a gravidade das comorbidades. Além disso, ao se analisar índices de secreção de insulina, não houve diferença entre pacientes com IA e controles pareados para idade e IMC (Vierhapper *et al.*, 2003). Por fim, alguns estudos mostraram melhora no perfil metabólico de indivíduos que foram submetidos à adrenalectomia, corroborando essa hipótese (Terzolo *et al.*, 2002) (Erbil *et al.*, 2006) (Morelli *et al.*, 2022).

Os resultados dos principais estudos que avaliaram as alterações glicêmicas em pacientes com IA estão resumidos na tabela 5.

Tabela 5: Principais resultados de estudos que avaliaram as alterações glicêmicas em pacientes com IA.

Estudo	Características	Definição	Principais Resultados
<i>Reincke et al., 1996</i>	IA (n=13)	Sem resultados no TSD-1mg	DM (n=5) GJA (n=5) IG (n=8)
<i>Fernandez-Real et al., 1998</i>	IANF (n=64)	IANF: Cortisol pós TSD-1mg <5 µg/dL	IG (n=17) DM recém-diagnosticados (n=22) DM prévio (n=6) Alteração metabolismo glicose (61%)
<i>Rossi et al., 2000</i>	IA (n=50) HS (n=12) Controle (n=107)	HS: Avaliação do eixo HHA em dois exames	DM e IG em IA: 24% e 12% DM e IG em HS: 41% e 17%
<i>Mantero et al., 2000</i>	IA (n=1004) HS (n=92)	HS: Avaliação do eixo HHA em dois exames	DM em IA: 10% DM em HS: 8%
<i>Tauchmanová et al., 2002</i>	HS (n=28) Controle (n=100)	HS: Avaliação do eixo HHA em dois exames	IG: 28,6% DM: 35,7%
<i>Terzolo et al., 2002</i>	IA (n=41) HS (n=12) Controle (n=41)	HS: Avaliação do eixo HHA em dois exames	IG em IA: 36% IG em controles: 14%
<i>Vierhapper et al., 2003</i>	IANF (n=148) Controle (n=245)	IANF: Cortisol pós TSD-1mg <5 µg/dL	Novos casos de IG e DM em indivíduos > 45 anos e com IMC > 30

			kg/m ² : 66% em IANF e 42% em controles
<i>Terzolo et al., 2005</i>	IANF (n=144) SAC (n=23)	SAC: Cortisol pós TSD-1mg >5 µg/dL	Obesidade: 21,4% Hiperglicemia: 22,4% Sem diferença entre IANF e SAC
<i>Di Dalmazi et al., 2012</i>	SAC (n=19) FI (n=126) IANF (n=203)	SAC: cortisol pós TSD-1mg >5 µg/dL FI: cortisol pós TSD-1mg entre 1,8 e 5 µg/dL	DM em SAC: 42% DM em FI: 25% DM em IANF: 15%
<i>Morelli et al., 2014</i>	IANF (n=167) SAC (n=39)	Cortisol pós TSD-1mg >5 µg/dL ou >3 µg/dL associado a ACTH baixo e/ou cortisol livre urinário aumentado	DM SAC: 33% (basal) e 43% (<i>follow-up</i> 5 anos) DM IANF: 16% (basal) e 22% (<i>follow-up</i> 5 anos)
<i>Lopez et al., 2016</i>	IANF (n=242) Controle (n=1237)	Cortisol pós TSD-1mg <1,8 µg/dL	Risco aumentado em duas vezes para DM em IANF (<i>follow-up</i> 7,7 anos)
<i>Krzyżewska et al., 2017</i>	IANF (n=131)	Cortisol pós TSD-1mg <1,8 µg/dL	DM: 30,5% Normoglicemia: 29,8%
<i>Cavalari et al., 2018</i>	IANF (n=74) Controle (n=90)	Cortisol pós TSD-1mg <1,8 µg/dL	Pré DM IANF: 43,2% Pré DM Controle: 27,8%

<i>Reimondo et al., 2020</i>	IA (n=44) Controle (n=557)	-	DM IA: 32% DM Controle:14%
<i>Athanasouli et al., 2021</i>	IANF (n=1548) Controle (n=2358)	Cortisol pós TSD-1mg <1,8 µg/dL	Risco aumentado em 2 vezes para DM em IANF

Diabetes mellitus (DM); Fenótipo intermediário (FI); Glicemia de jejum alterada (GJA); Hiper-cortisolismo subclínico (HS); Hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA); Hormônio adrenocorticotrófico (ACTH); Incidentaloma adrenal (IA); Incidentaloma adrenal não funcionante (IANF); Intolerância à glicose (IG); Secreção autônoma de cortisol (SAC); Teste de supressão com 1 mg de dexametasona (TSD - 1 mg)

V - Objetivos

1) Geral

Avaliar o perfil glicêmico em pacientes com IA comparando com grupo controle.

2) Específicos

a) Avaliar e comparar a frequência de pré-DM e DM em pacientes com SAC, IANF e controles;

b) Avaliar o papel e a relevância do TOTG na classificação de disglucemia em SAC, IANF e controles.

VI – Artigo científico

Glycaemic profile assessment by using the oral glucose tolerance test and area under the curve in patients with adrenal incidentaloma

Julia Magarão Costa^{1,2}, João Felipe Dickson Rebelo¹, Andrea Faria Dutra Fragoso Perozo¹, Fernanda Damasceno Junqueira¹, Ana Beatriz Alcantara Bérenger Samarcos De Almeida³, Juliana Saldanha Milaresco³, Michelle dos Santos Souza³, Aline Barbosa Moraes⁴, Joana Rodrigues Dantas Vezzani², Leonardo Vieira Neto¹

¹ Department of Internal Medicine and Endocrine Unit, Federal University of Rio de Janeiro, School of Medicine, Clementino Fraga Filho University Hospital, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

² Department of Internal Medicine and Nutrology Unit, Federal University of Rio de Janeiro, School of Medicine, Clementino Fraga Filho University Hospital, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

³ School of Medicine, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

⁴ Department of Clinical Medicine and Endocrine Unit, Universidade Federal Fluminense, School of Medicine, Hospital Universitário Antônio Pedro, Niterói, RJ, Brazil

Corresponding author:

Leonardo Vieira Neto, MD, PhD (Vieira Neto, L) - netolv@gmail.com.

Hospital Clementino Fraga Filho – Universidade Federal do Rio de Janeiro

Rua Professor Rodolpho Paulo Rocco, 255 - Nono andar – Secretaria de Endocrinologia

Rio de Janeiro – RJ – Brazil. ZIPCODE: 21941-913

Disclosure: The authors report no conflicts of interest in this work. This study was made possible thanks to grants from the Research Support Foundation of the State of Rio de Janeiro (FAPERJ) and the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq).

Word count: Abstract (250); Text (3281); Tables and Figures (6); References (32)

Abstract

Introduction: There are limited data regarding the role of oral glucose tolerance test (OGTT) with 75g of dextrose to classify glycaemic alterations in patients with adrenal incidentaloma (AI). **Objectives:** To compare the frequency of dysglycemia [pre-diabetes mellitus (DM) and DM] among patients with non-functioning adrenal incidentalomas (NFAI), autonomous cortisol secretion (ACS) and controls. To assess the area under the curve (AUC) in the OGTT and describe whether the OGTT was determinant for these diagnosis in each population. **Methods:** 65 NFAI (1mg-dexamethasone suppression test [DST] $\leq 1.8\mu\text{g/dL}$), 45 ACS (1mg-DST $\geq 1.9\mu\text{g/dL}$) and 56 controls were evaluated in this cross-sectional study. The control group was selected based on a normal adrenal imaging exam. Patients were classified into normoglycemia or dysglycemia according to fasting glucose, glycated haemoglobin and OGTT. **Results:** There were no differences among NFAI, ACS, and controls regarding age, gender, ethnicity, and menopause. $\text{AUC} > 290 \text{ mg.h/dL}$ was found in 75% of ACS, 55% of NFAI, and 22% of controls ($p=0.008$), and the presence of IA was determinant for this result. Dysglycemia frequency was higher in ACS and NFAI than controls (91.1 vs. 90.8 vs. 73.2%, respectively; $p=0.01$). The OGTT changed this classification in 27% of ACS, 23% of NFAI, and 3% of controls ($p=0.03$). Presence of IA increased the odds ratio for a subject to be benefit from OGTT to obtain a more accurate dysglycemia classification in 9.5 times. **Conclusion:** The frequency of dysglycemia was higher in patients with IA and around 25% of these patients benefited from OGTT to classify glycaemic alterations.

Keywords: adrenal incidentaloma, adrenal adenoma, diabetes mellitus, dysglycemia

Introduction

Adrenal incidentaloma (AI) is an adrenal mass found on imaging tests performed for reasons not related to adrenal diseases^{1,2}. The incidence has been growing significantly with the progressive development of imaging technology and greater availability of these^{3,4}. In most cases these lesions are benign non-functioning adenomas. The most common functioning adrenal lesion is the autonomous cortisol secretion (ACS), once called subclinical Cushing's syndrome or subclinical hypercortisolism^{1,3}. Nowadays, the latest guideline on the management of AI suggests using the 1mg-dexamethasone suppression test (1mg-DST) to categorize patients as having non-functioning adrenal incidentaloma (NFAI) [serum cortisol level ≤ 50 nmol/L (≤ 1.8 $\mu\text{g/dL}$)], possible ACS [51 and 138 nmol/L (1.9 to 5.0 $\mu\text{g/dL}$) and probable ACS [>138 nmol/L (>5.0 $\mu\text{g/dL}$)]¹.

Patients with ACS have a higher incidence of central obesity, impaired glucose tolerance (IGT), metabolic syndrome (MS), and diabetes mellitus (DM). Recently, studies have also shown an increase in these conditions in NFAI^{5,6,7,8,9}.

Specifically, regarding glycaemic alterations, the main current guidelines for the management of AI do not relate the NFAI to comorbidities of this nature. Though ACS is already cited as a condition associated with IGT and DM, there is no reference to any specific strategy to carry out the screening of these disorders in this population until now^{1,2,3,4}. In patients with overt hypercortisolism, the oral glucose tolerance test with 75g of dextrose (OGTT) is considered of paramount importance to diagnose glycaemic disorders. However, studies that demonstrate the importance of OGTT in patients with AI are still lacking^{10,11}.

This study seeks to bring more data about the frequency of pre-DM and DM in patients with ACS and NFAI, compared to a control group, and aims to elucidate whether the OGTT may be decisive to correctly classify glycaemic alterations.

Materials and methods

Study design

This is a cross-sectional observational study carried out at Clementino Fraga Filho University Hospital (HUCFF) of the Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ). This study was approved by the local Research Ethics Committee under protocol number

37024120.6.0000.5257 and was conducted in accordance with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2013. All subjects signed a written informed consent form before participating in the study.

From February 2020 to August 2022, we selected patients from the Endocrinology Outpatient Clinic from HUCFF/UFRJ, and the control group was selected using the hospital imaging database obtained from abdominal computed tomography (CT) or magnetic resonance imaging (MRI) from the Radiology Unit showing normal adrenal glands.

The inclusion criteria for patients with AI were: 1) unilateral and bilateral adrenal mass ≥ 1 and < 6 cm detected incidentally during imaging examination unrelated to suspected adrenal disease; 2) tumour with benign radiological characteristics, including a homogeneous mass presenting a regular shape and well-defined margins, attenuation index < 10 Hounsfield units. If the diameter size was between 4 and 6 cm, the contrast-enhanced washout CT was evaluated, in addition to all the above-mentioned imaging characteristics, in these cases the patient was included when the relative washout was $>40\%$; 3) absence of predictive signs and symptoms of overt Cushing's syndrome; 4) absence of other diagnosis of adrenal tumours such as primary aldosteronism (PA), pheochromocytoma, paraganglioma, adrenocortical carcinoma, mielolipoma, congenital adrenal hyperplasia; and 5) absence of medications use that interfere with dexamethasone metabolism.

Patients and controls were evaluated according to the following exclusion criteria: 1) age < 18 years; 2) pregnancy; 3) alcoholism/drug abuse; 4) hepatic or renal failure (defined as Child-Pugh score B or C and creatinine clearance < 15 mL/min, respectively); 5) uncontrolled neuropsychiatric disorders; 6) septic or seriously ill patients; 7) post-transplant; 8) current malignancy; and 9) glucocorticoid users.

The work up for AI was performed in all patients according to the European Society of Endocrinology 2016 guideline¹. The investigation of pheochromocytoma and primary aldosteronism was performed in agreement with the current guidelines^{12,13}. The ACS evaluation was performed by 1mg-DST in all patients with AI as follows: patients with cortisol levels following 1mg-DST ≤ 50 nmol/L (≤ 1.8 $\mu\text{g/dL}$) after an overnight fast and

collected between 07:00 and 09:00 AM were considered as NFAI, whereas patients with cortisol levels $>50\text{nmol/L}$ ($>1.8\ \mu\text{g/dL}$) were considered as having possible or probable ACS¹.

Thus, we have selected a convenience sample based on all patients with AI followed at the adrenal disease outpatient clinic from HUCFF/UFRJ, after applying the inclusion and exclusion criteria. Sixty-five patients with NFAI, 45 with ACS (39 with possible ACS and six with probable ACS), and 56 controls were included in the study (Figure 1).

Clinical evaluation

Clinical data and anthropometric evaluation were collected for all patients. Ethnicity was classified as white or non-white according to their self-assessment response. Details on menopausal status (cessation of menstruation for 1 year or more), and smoking status were obtained. Body mass index (BMI) was calculated. Waist circumference (WC) and hip circumference, both in cm, were determined and the waist-to-hip ratio (WHR) was calculated¹⁴.

The assessment of glucose metabolism was performed using fasting glucose (FG), OGTT and glycated haemoglobin (HbA1c). The classification in normoglycemia, prediabetes e diabetes mellitus (DM) was made according to the 2022 American Diabetes Association (ADA) recommendations¹⁵. Those individuals who already had previous diagnosis of diabetes do not performed OGTT. Dysglycemia was defined if the patient had prediabetes or diabetes mellitus. Subjects were classified as positive for dyslipidaemia if they were already taking lipid-lowering therapy and/or had lipid profile levels above the individualized target proposed by the American Association of Clinical Endocrinologists (AACE)¹⁶.

Finally, patients with AI were classified as having or not having MS according to the International Diabetes Federation (IDF) criteria¹⁷. IDF is the only institution that defines WC according to the specific values of each ethnicity. Because there is no specific validation for South Americans, IDF recommends using the same parameter from South Asians, which was applied in this study¹⁷.

Laboratory evaluation

Serum cortisol was analysed using electrochemiluminescence immunoassay (Cobas, Roche 2010, Mannheim, Germany). The inter- and intra-assay coefficients of variation (CV) were 1.6% and 1.3%, respectively.

FG and plasma glucose levels at time 0, 1 hour and 2 hours during OGTT was measured by the enzymatic method using Hexokinase (Roche/Hitachi Cobas c systems) and HbA1C by the HPLC method (Premier Hemoglobin Affinity, Bragança Paulista, Brazil).

The estimated glucose area under the curve (AUC) was calculated using 3 points obtained in the OGTT (0, 1 hour and 2 hours), using the trapezoidal method in the Microsoft Excel program.

Statistical analysis

The statistical analyses were performed using SPSS version 23.0 for MacOS (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). In the descriptive analysis, categorical variables were expressed as their frequency and percentage; numerical variables were expressed as mean \pm standard deviation (SD) or median (minimum – maximum). Student's T-test or the Mann-Whitney U-test was performed to compare numerical variables between the two groups, as appropriate. The Kruskal–Wallis's test or ANOVA were used to compare numerical variables among three groups (NFAI, ACS, and controls). In these cases, Bonferroni or Tukey post-hoc tests were used to identify which of the pairs of groups differ from each other, accordingly. The chi-square test or Fisher's exact test was applied to compare categorical variables. Correlations between numerical variables were analysed by Spearman test. Binary logistic regression was used to explore the influence of each independent variable (AI, age, BMI, and AC] on AUC > 290 mg h/dL and (AI, age, BMI, and WHR] on the relevance of OGTT to correctly classify glycaemic alterations. A p-value < 0.05 was considered significant.

Results

Demography, clinical and laboratorial characteristics in patients with NFAI, ACS and controls

There were no differences among the three groups regarding age, gender, ethnicity, and menopause. Patients with NFAI presented higher BMI and WC than controls. The BMI and WC were similar between NFAI and ACS groups. The descriptive characteristics of the patients are shown in Table 1.

AUC was higher in the ACS and NFAI groups when compared to control group (310.6 vs. 287.6 vs. 239.5 mg h/dL, respectively; $p=0.002$) (Figure 2). AUC was greater than 290 mg h/dL in 75% of patients in the ACS group and in 55% in the NFAI group, without statistically significant difference between groups. In the control group, the percentage of patients with AUC greater than 290 mg h/dL was 22%, lower than both groups ($p=0.008$). Values greater than 155 mg/dL on the plasma glucose level at the 1 hour of the OTGG were observed in 75% of patients with ACS, 65% of NFAI, and 28% of controls ($p=0.01$).

The frequency of dysglycemia (pre-DM and DM) was higher in the ACS and NFAI compared to the control group (91.1 vs. 90.8 vs. 73.2%, respectively; $p=0.01$). The occurrence of previous diabetes was similar between the three groups (control: 42,9%, NFAI: 47,7%, ACS: 42,2%). The distribution between normoglycemia, pre-DM and DM occurred as follows: controls: 26,8%, 25% and 48,2%; NFAI: 9,2%, 40% and 50,8%; ACS: 8,9%, 40% and 51,1%, respectively. The OGTT was able to change the dysglycemia classification in 27% of patients with ACS and 23% with NFAI, while in the control group it changed only in 3% ($p=0.03$).

The table 2 shows in detail the glycaemic alterations found in those individuals who do not have a previous diagnosis of diabetes, comparing controls and AI.

Diabetes was uncontrolled in half of the patients with incidentaloma, while in the control group 63.6% of the individuals had satisfactory control, however this data did not reach a statistically significant difference.

We found positive correlations between AUC and: cortisol levels after DCT-1mg ($r=0.39$; $p=0.02$), age ($r=0.43$; $p=0.001$), BMI ($r=0.37$; $p=0.006$), WC ($r=0.43$; $p=0.001$), and WHR ($r=0.45$; $p=0.001$).

The ROC curve analysis evidenced that the cortisol level on 1mg-DST was not a good predictor of presence of dysglycemia in patients with IA (AUC < 0.7).

Statistical analyses were performed without the six patients with probable ACS and the results remained similar (data not shown).

Multivariate analysis

Binary logistic regression analysis was performed to identify independent variables associated with the AUC greater than 290 mg h/dL. The model showed that the presence of IA was determinant for it, whereas age, BMI and WC were not. The presence of IA increased the odds ratio for a subject to present AUC > 290 mg h/dL in 5.9 times (Table 3).

Binary logistic regression analysis was also performed to identify independent variables associated with the relevance of OGTT to correctly classify glycaemic alterations. The model showed that the presence of IA increased the odds ratio for a subject to be benefit from OGTT to obtain a more accurate dysglycemia classification in 9.5 times (Table 4).

Discussion

Patients with ACS have a higher incidence of central obesity, IGT, MS, and DM^{5,6,7}. Recently, studies have shown an increase in these conditions also in patients with NFAI⁸. There are robust data that patients with overt hypercortisolism evolve with glycaemic changes mainly through mechanisms that induce glucose intolerance, thus, OGTT is considered of paramount importance in this population^{10,11}. Nevertheless, studies that demonstrate the importance of OGTT in patients with AI are still lacking¹⁰.

Although, only the 2-hour glucose measurement in OGTT is considered as a diagnostic criterion for IGT and DM, other parameters in OGTT seem to be of great relevance¹⁸. The glucose AUC is an index of whole glucose excursion during the exam and may provide more information than just a single point of plasma glucose¹⁹. Here, we clearly

showed that the glucose AUC in the OGTT was greater in the ACS and NFAI groups than controls. A previous study in patients with AI and serum cortisol level < 138 nmol/L (< 5.0 µg/dL), using the 1mg-DST, was able to demonstrate an increased AUC only in patients older than 45 years and with BMI greater than 30 kg/m² compared to controls matched for age and BMI²⁰.

In the general population, values of the glucose AUC in the OGTT greater than 290 mg h/dL obtained high sensitivity and specificity in detecting cases of OGI and DM¹⁹. Interestingly, in our study, the presence of AI was determinant for AUC values >290 mg h/dL, regardless of age, BMI or WC, so that 75% of patients with ACS, 55% of NFAI, and only in 22% of controls reached these values.

Another OGTT parameter that has been extensively studied in the general population is the 1-hour plasma glucose measurement. Glucose values at this time have already been pointed out as a good predictor of incident DM, for example²¹. Plasma glucose values greater than 155 at 1-hour time in OGTT were associated with an adverse cardiovascular risk profile such as higher BMI, abdominal obesity, carotid atherosclerosis and fatty liver²¹. Terzolo *et al.* found higher plasma glucose values at 1-hour time in OGTT in patients with AI when compared to controls²². In our results, both groups ACS and NFAI had a higher percentage of patients with values greater than 155 mg/dL on the plasma glucose level at the 1 hour of the OGTT compared to controls. To the best of our knowledge, this is the first time that the cut-off of 155 mg/dL on the plasma glucose level at the 1 hour of the OGTT has been evaluated in a population of patients with ACS and NFAI.

Cardiovascular disease is the leading cause of death worldwide, so the ability to identify patients at higher risk of developing future cardiovascular events is of great importance²³. Several studies found a higher frequency of cardiovascular risk factors both in ACS and NFAI^{9,24}. Morelli *et al.* also showed a higher prevalence of cardiovascular events in ACS, and Di Dalmazi *et al.* even managed to prove upper cardiovascular mortality in these patients^{6,25}. Although there are still many questions about the prevalence of cardiovascular disease and mortality in NFAI, it is increasingly becoming clear that these are not an innocuous condition^{6,7}. Calavari *et al.* have already described a higher frequency of cardiovascular risk factors such as pre-DM, dyslipidaemia, hypertension and higher WC and MS frequency, in NFAI⁸. As described above, our study has just demonstrated a greater

presence of another parameter associated with a worse cardiovascular profile in patients with AI in relation to the control group. Furthermore, we show that the frequency of patients with values greater than 155 mg/dL on the plasma glucose level at the 1 hour of the OGTT is similar between the ACS and NFAI groups, which might suggest that NFAI may be as harmful as ACS in relation to cardiovascular disease. This finding is in agreement with the results of the study by Rebelo *et al.*²⁶, which showed that both, NFAI and ACS, presented higher frequency of cardiometabolic morbidities comparing to controls, with no difference between them. To better elucidate this hypothesis, longitudinal studies are needed.

Also, the frequency of dysglycemia was similar between in ACS and NFAI, but both significantly higher than controls. In the literature, some studies show a higher DM frequency in patients with probable ACS compared with patients with possible ACS and NFAI, such as the studies by Di Dalmazi *et al.* and Morelli *et al.*^{6,25}. However, the study by Terzolo *et al.* found no difference between the frequency of dyglycemia in ACS and NFAI, just like ours²⁷. The fact is that, in relation to the general population, several studies have already shown a higher frequency of DM also in patients with NFAI. In the Athanasouli *et al.* meta-analysis, patients with NFAI had a 2-fold higher risk of having DM than controls²⁸. These findings support that glucose alterations should be traced not only in patients with ACS, but also in patients with NFAI.

The frequency of dysglycemia found in our study (greater than 90%) is higher than those previously described in the literature^{9,29}. We hypothesize that it may be justified by two reasons: our hospital is a quaternary hospital, with patients with high morbidity, so the frequency of dysglycemia found in the control group was also higher than in the general population with similar age and living in geographically close urban areas in the city of Rio de Janeiro with similar socioeconomic and environmental factors. The second hypothesis would be that, in our study, we used the three tests recommended by the ADA for pre-DM and DM screening, which may have increased the diagnostic accuracy. Indeed, a Krzyzewska *et al.* study, which also used the three tests, showed normoglycemia only in less than 30% of patients with NFAI³⁰.

As DM is one of the main cardiovascular risk factors, the correct detection of dyglycemia is essential to enable early diagnosis and treatment, in order to prevent development of cardiovascular disease¹⁵.

The OGTT was fundamental to correctly classify glycaemic alterations in about 25% of AI patients (27% of patients with ACS and 23% of NFAI), whereas in the control group we observed benefit in only 3%. In other words, patients with AI had their dysglycemia classification changed by OTTG about 9.5 times more than the general population, regardless of age, BMI, and WHR. It is also important to emphasize that OGTT was determinant even for patients with normal FG and HbA1c. OGTT is known to be the most sensitive test for diagnosing glycaemic alterations in the general population¹⁵. In patients with endogenous and exogenous overt hypercortisolism, OGTT is cited as the gold standard for diagnosing impaired glucose metabolism¹⁰. To the best of our knowledge, this is the first study that objectively demonstrates the determination of OGTT in the dysglycemia classification in a population of patients with AI.

The ROC curve analysis to define a cortisol level cut-off on 1mg-DST as a predictor of dysglycemia has not presented an appropriate area under the curve. This finding may be due to a small sample size or, indeed, cortisol level cut-off to make this variable dichotomous does not seem to be adequate to predict dysglycemia. Thus, in the light of these results and several published to date, cortisol levels on 1mg-DST should be interpreted as a continuous and not as a categorical variable^{1,31}. Indeed, both patients with ACS and NFAI showed similar behaviours regarding glycaemic alterations in the current study. Furthermore, it is assumed that patients with NFAI may have a minimally increased secretion of intermediates of the gluco- and/or mineralocorticoid pathway, not detected by the methods currently available in clinical practice, but sufficient to cause metabolic alterations^{1,31}. Another hypothesis would be an alteration in the circadian rhythm in cortisol secretion, which may contribute to the worsening of metabolic disorders, without evident laboratory alterations³². Once again, this is another finding of our study that supports that NFAI are not harmless lesions as it was thought^{6,7}.

Some limitations of our study should be considered. It is important to emphasize that the control group has been selected from a quaternary hospital that serves as the state reference for rare, severe, complex and/or advanced staging diseases, what justifies the high cardiometabolic morbidities frequency in this group, as we already mentioned. Even so, patients with AI had a higher frequency of dysglycemia. The small sample size in the control group occurred mainly due to the exclusion criteria. Another limitation is that we did not

assess the cortisol levels in the control group. In fact, we were not authorized by the Institutional Review Board to submit the controls to 1mg-DST. It is important to note that the AUC was one of the parameters used to assess the glycaemic profile, however, it has low clinical reproducibility¹⁸. Ultimately, the cross-sectional design limits cause-effect inferences on the observed findings.

In conclusion, the frequency of dysglycemia was higher in patients with IA and around 25% of these patients had their dysglycemia classification changed by OTTG. Taking all these results together, we might suggest that screening for glycaemic alterations should be carried out both in patients with ACS and in patients with NFAI. In this scenario, OGTT should be highlighted as an essential test to fulfil a proper assessment, even for patients with normal FG and HbA1c.

References

- 1- FASSNACHT, Martin. *et al.* Management of adrenal incidentalomas: European Society of Endocrinology Clinical Practice Guideline in collaboration with the European Network for the Study of Adrenal Tumors. **European Journal of Endocrinology**, v. 175, p. G1-G34. Aug. 2016. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27390021/>.
- 2- ZEIGER, Martha A. *et al.* Medical and Surgical Evaluation and Treatment of Adrenal Incidentalomas. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 96, n. 7, p. 2004-15. Jul. 2011. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21632813/>.
- 3- ZEIGER, Martha A. *et al.* AACE/AAES Medical Guidelines for the management of adrenal incidentalomas. **ENDOCRINE PRACTICE** Vol 15 (Suppl 1) July/August 2009. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19632967/>.
- 4- LEE, Jung Min. *et al.* Clinical Guidelines for the Management of Adrenal Incidentaloma. **Endocrinol Metab**, v. 32, n. 2, p. 200-218. Jun. 2017. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28685511/>.
- 5- MANTERO, Franco. *et al.* Management approaches to adrenal incidentalomas. A view from Ancona, Italy. **Endocrinol Metab Clin North Am**, v. 29, n. 1, p. 107-25. Mar. 2000. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10732267/>.

- 6- MORELLI, Valentina. *et al.* Long-term follow-up in adrenal incidentalomas: an Italian multicenter study. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 99, n. 3, p. 827-34. Mar. 2014. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24423350/>.
- 7- TAYA, Michio. *et al.* The relationship between adrenal incidentalomas and mortality risk. **Eur Radiol**, v. 29, n. 11, p. 6245-55. Nov. 2019. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30993434/>.
- 8- CAVALARI, E. M. R. *et al.* Nonfunctioning adrenal incidentaloma: A novel predictive factor for metabolic syndrome. **Clin Endocrinol (Oxf)**, v. 89, n. 5, p. 586-95. Nov. 2018. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30044007/>.
- 9- TAUCHMANOVÀ, Libuse. *et al.* Patients with subclinical Cushing's syndrome due to adrenal adenoma have increased cardiovascular risk. **J Clin Endocr Metab**, v. 87, n. 11, p. 4872-8. Nov. 2002. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12414841/>.
- 10- SCARONI, Carla. *et al.* Glucose Metabolism Abnormalities in Cushing Syndrome: From Molecular Basis to Clinical Management. **Endocrine Reviews**, v. 38, n. 3, p.189 – 219. Jun. 2017. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28368467/>.
- 11- BARBOT, Mattia. *et al.* Diabetes Mellitus Secondary to Cushing's Disease. **Frontiers in Endocrinology**, v. 9, n. 5, p. 284. Jun. 2018. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29915558/>
- 12- FUNDER, JW *et al.* Case Detection, Diagnosis, and Treatment of Patients with Primary Aldosteronism: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 2008;93(9):3266-3281. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18552288/>
- 13- LENDERS, JWM *et al.* Pheochromocytoma and Paraganglioma: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 2014;99(6):1915-1942. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24893135/>
- 14- NISHIDA, C. *et al.* Body fat distribution and noncommunicable diseases in populations: overview of the 2008 WHO Expert Consultation on Waist Circumference and Waist–Hip Ratio. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 64, n. 1, p. 2-5. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19935820/>
- 15- STANDARDS OF MEDICAL CARE IN DIABETES. **Diabetes Care** 2022; 45 (Suppl. 1): S1-S2. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34964875/>
- 16- JELLINGER, Paul. *et al.* American Association of Clinical endocrinologists and american college of endocrinologist guidelines for management of dyslipidemia and prevention of

- cardiovascular disease. **Endocr Pract.** 2017;23(Suppl 2):1-87. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28437620/>
- 17- ALBERTIA, George. *et al.* The metabolic syndrome—a new worldwide definition. **The Lancet.** 2005;366(9491):1059-1062. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16182882/>
- 18- JAGANNATHAN, Ram. *et al.* The Oral Glucose Tolerance Test: 100 Years Later. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity**, v. 19, n. 13, p. 3787-3805. Oct. 2020. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33116727/>.
- 19- SAKAGUCHI, Kazuhiko. *et al.* Glucose area under the curve during oral glucose tolerance test as an index of glucose intolerance. **Diabetol Int**, v. 14, n. 7(1), p. 53-58. May. 2015. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30603243/>.
- 20- VIERHAPPER, H. *et al.* Adrenocortical tumors: prevalence of impaired glucose tolerance and of "Paradoxical Rise" of cortisol during an oral glucose tolerance test. **Exp Clin Endocrinol Diabetes**, 111(7):415-20. Oct. 2003. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14614648/>.
- 21- AHUJA, Vasudha. *et al.* Accuracy of 1-Hour Plasma Glucose During the Oral Glucose Tolerance Test in Diagnosis of Type 2 Diabetes in Adults: A Meta-analysis. **Diabetes Care**, v. 44, n. 4, p. 1062–1069. Apr. 2021. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33741697/>.
- 22- TERZOLO, M. *et al.* Adrenal Incidentaloma: A new cause of metabolic Syndrome? **J Clin Endocr Metab**, v. 87, n. 3, p. 998-1003. Mar. 2002. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11889151/>.
- 23- WILLIAMS, Bryan. *et al.* ESC/ESH Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension. **J Hypertens**, v. 36, n. 10, p. 1953-2041. Oct. 2018. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30234752/>.
- 24- YENER, S. *et al.* Increased risk of unfavorable metabolic outcome during short-term follow-up in subjects with nonfunctioning adrenal adenomas. **Med Princ Pract**, v. 21, n. 5, p. 429-34. 2012. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22398948/>.
- 25- DI DALMAZI, Guido *et al.* Cardiovascular events and mortality in patients with adrenal incidentalomas that are either non-secreting or associated with intermediate phenotype or subclinical Cushing's syndrome: a 15-year retrospective study. **Lancet Diabetes**

- Endocrinol**, v. 2, n. 5, p. 396-405. May. 2014. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24795253/>.
- 26- REBELO, Joao. *et al.* Adrenal incidentaloma: do patients with apparently nonfunctioning mass or autonomous cortisol secretion have similar or different clinical and metabolic features? **Clin Endocrinol.** 2022;1-8. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36514987/>.
- 27- TERZOLO, M. *et al.* Midnight serum cortisol as a marker of increased cardiovascular risk in patients with a clinically inapparent adrenal adenoma. **Eur J Endocrinol.** v. 153, n. 2, p. 307-15. Aug. 2005. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16061838/>.
- 28- ATHANASOULI, Fani. *et al.* Nonfunctional adrenal adenomas and impaired glucose metabolism: a systematic review and meta-analysis. **Endocrine**, v. 74, n. 1, p. 50-60. Oct. 2021. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33963515/>.
- 29- DI DALMAZI, Guido *et al.* Progressively increased patterns of subclinical cortisol hypersecretion in adrenal incidentalomas differently predict major metabolic and cardiovascular outcomes: a large cross-sectional study. **Eur J Endocrinol**, v. 166, n. 4, p. 669-77. Apr. 2012. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22267278/>.
- 30- KRZYŻEWSKA, Katarzyna. *et al.* Glucose metabolism disorders in patients with non-functioning adrenal adenomas — single-centre experience. **Endokrynol Pol**, v. 68, n. 4, p. 416-421. Jun. 2017. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28585681/>.
- 31- TABARIN, Antoine. Do the diagnostic criteria for subclinical hypercortisolism exist? *Annales d' Endocrinologie.* **Ann Endocrinol (Paris)**, v. 79, n. 3, p. 146-148. Jun. 2018. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29661471/>.
- 32- DI DALMAZI, Guido. Adrenal Incidentaloma: Picking Out the High-Risk Patients. **Exp Clin Endocrinol Diabetes**, v. 127, n. 2-03, p. 178-184. Fev. 2019. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30372764/>.

Table 1: Clinical, anthropometric, and laboratory data of the study groups

	Adrenal incidentaloma		Controls (n = 56)	p value*
	NFAI (n = 65)	ACS (n = 45)		
Age (years)	57.3 ± 10.0	60.9 ± 10.3	60.3 ± 12.9	0.2
Gender (% women)	80.0	84.4	71.4	0.3
Race (% White)	52.5	61.4	65.5	0.2
Smoking (%)	24.2	20.5	12.7	0.3
Menopause (%)	80.0	88.9	80.0	0.5
Hypertension (%)	78.1	86.7‡	66.1‡	0.04
Dyslipidaemia (%)	89.2 †	80.0	73.2 †	0.07
BMI (kg/m ²)	32.0 ± 5.2 †	31.0 ± 5.8	29.0 ± 6.5 †	0.02
WC (cm)	104.4 ± 10.8 †	100.4 ± 12.2	97.3 ± 15.3 †	0.01
WHR	0.96 ± 0.1 †	0.93 ± 0.1	0.93 ± 0.1 †	0.02
Dysglycemia (%)	90.8 †	91.1 ‡	73.2 †‡	0.01
Glucose (mg/dL)	108.0 (71.0 – 327.0)	106.0 (82.5 – 315.5)	104.0 (74.5 – 185.0)	0.2
HbA1c (%)	6.1 (5.0 – 11.1)	6.1 (5.0 – 12.3)	6.1 (4.9 – 9.0)	0.8
AUC OGGT 75g (mg h/dL)	287.6 ± 56.6 †	310.6 ± 58.8 ‡	239.5 ± 58.7 †‡	0.002
AUC > 290 mg h/dL (%)	55.0 †	75.0 ‡	22.2 †‡	0.008
Glucose > 155 mg/dL 1h OGGT 75g (%)	65 †	75 ‡	27.8 †‡	0.012
OGGT 75 changed dysglycemia classification (%)	23 †	27 ‡	3 †‡	0.03
MS (IDF criteria) (%)	90.5 †	91.1 ‡	64.3 †‡	< 0.001
DHEAS (ng/dL)	65.4 (10.0 – 188.0)	47.0 (5.0 – 2076.0)	-	0.7
1 mg DST (mmol/L)	1.1 (0.6 – 1.8)	2.7 (1.9 – 12.7)	-	<0.001
ACTH (pmol/L)	17.4 ± 11.2	13.6 ± 8.8	-	0.1
Tumour Size (cm)	1.9 ± 0.8	2.7 ± 1.0	-	<0.001

Normally distributed data were presented using the mean (± SD) and non-normally distributed data were presented using the median (minimum and maximum).

p-value*: Kruskal–Wallis test or ANOVA among the three groups (controls, NFAI and ACS); Bonferroni or Tukey post-hoc tests were used to identify which of the pairs of groups differ from each other, accordingly. †Controls vs. NFAI; ‡ Controls vs. ACS. There were no differences between NFAI and ACS regarding the variable studied.

ACS autonomous cortisol secretion, ACTH: adrenocorticotrophic hormone, AI adrenal incidentaloma, BMI body mass index, DHEAS dehydroepiandrosterone sulphate, HbA1C glycated haemoglobin, HDL-C high-density lipoprotein cholesterol, MS metabolic syndrome, NFAI non-functioning adrenal incidentaloma, LDL-C low-density lipoprotein cholesterol, WC waist circumference, WHR waist-to-hip ratio, T2DM type 2 diabetes mellitus, 1-mg DST suppression test with 1 mg dexamethasone.

Table 2: Glycaemic alterations found in those individuals who do not have a previous diagnosis of diabetes

	Control	IA
FG	1	1
IGT	0	6
HbA1c	4	4
FG + IGT	0	7
FG + HbA1c	6	12
IGT + HbA1c	3	3
FG + IGT + HbA1c	3	17

FG: only altered fasting glucose; IGT: only impaired glucose tolerance; HbA1c: only altered glycated haemoglobin; FG+IGT: fasting glucose altered and impaired glucose tolerance; FG+HbA1c: altered fasting glucose and altered glycated haemoglobin; IGT+HbA1c: impaired glucose tolerance and altered glycated haemoglobin; FG+IGT+HbA1c: altered fasting glucose, impaired glucose tolerance, and altered glycated haemoglobin

Table 3: Binary logistic regression analysis to predict AUC greater than 290 mg h/dL

Variables	OR	CI 95%	B	p-value
AI	5.92	1.14 – 30.91	1.78	0.03
Age	1.05	0.99 – 1.12	0.05	0.08
BMI	0.94	0.72 – 1.23	0.06	0.66
WC	1.05	0.95 – 1.16	0.05	0.31

p-value: significance level < 0.05.

AUC area under the curve, *AI* adrenal incidentaloma, *BMI* body mass index, *WC* waist circumference, *CI* confidence interval, *OR* odds ratio, *B* regression coefficient.

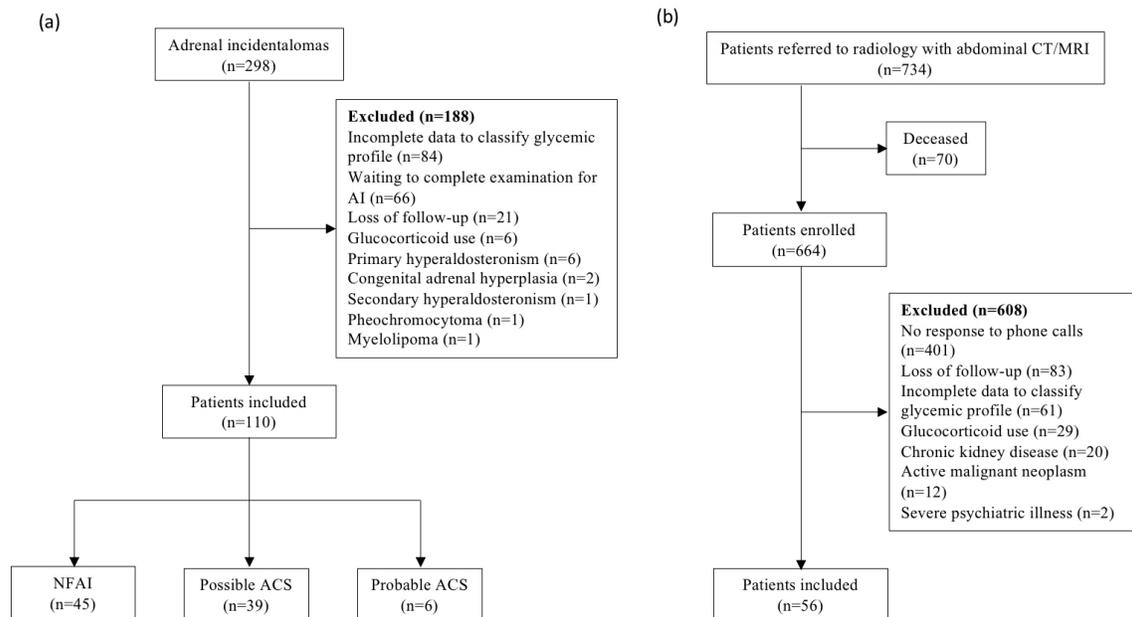
Table 4: Binary logistic regression analysis to predict the relevance of OGTT to correctly classify glycaemic alterations

Variables	OR	CI 95%	B	<i>p</i> -value
AI	9.51	1.13 – 80.13	2.25	0.03
Age	1.01	0.95 – 1.06	0.06	0.83
BMI	1.04	0.92 – 1.17	0.03	0.57
WHR	12.27	0.02 – 83.10	2.66	0.55

p-value: significance level < 0.05.

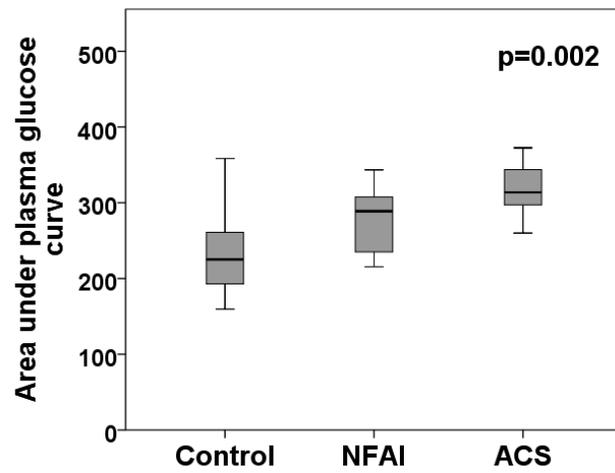
OGTT oral glucose tolerance test, AI adrenal incidentaloma, BMI body mass index, WHR waist hip ratio, CI confidence interval, OR odds ratio, B regression coefficient.

Figure 1: Recruitment strategy flowchart for AI and control patient participation in the study



AI: adrenal incidentaloma, NFAI: non-functioning adrenal incidentaloma, ACS: autonomous cortisol secretion, CT: computed tomography, MRI: magnetic resonance imaging

Figure 2: Area under the curve was higher in the ACS and NFAI groups when compared to control group (310.6 vs. 287.6 vs. 239.5 mg h/dL, respectively; $p=0.002$)



NFAI: non-functioning adrenal incidentaloma, *ACS*: autonomous cortisol secretion

VII- Considerações finais e perspectivas

Os resultados do presente estudo corroboram com outros trabalhos na literatura que apontam que os IANF não são apenas achados inócuos em exames de imagem, como antes se pensava (Morelli *et al.*, 2014) (Taya *et al.*, 2019).

Nesta casuística envolvendo 65 pacientes com IANF e 45 pacientes com SAC observamos maior frequência de disglucemia nos dois grupos, em relação ao grupo controle composto por 56 indivíduos sem lesão evidenciada em exame de imagem da adrenal.

Após as análises, ficou claro que o TSD - 1mg não é um bom exame para prever a ocorrência de alterações glicêmicas em pacientes com IA. Para este fim, outros instrumentos precisam ser mais estudados, como por exemplo o polimorfismo de receptor de glicocorticoide que foi apontado como um fator protetor para o desenvolvimento de DM em mulheres pós menopausa com IA (Ognjanovic *et al.*, 2021)

Neste trabalho o TOTG mostrou ser uma ferramenta fundamental para a classificação correta de disglucemia em pacientes com IA. Como o TOTG é o exame mais sensível para o diagnóstico de pré-DM e DM (Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018) (Chatzianagnostou *et al.*, 2019), seria esperado que o grupo controle também se beneficiasse dele para realizar essa classificação, entretanto pacientes com IA tiveram sua classificação alterada pelo TOTG 9,5 vezes mais que os indivíduos do grupo controle.

A partir dos dados encontrados, sugerimos que o rastreio de alterações glicêmicas seja realizado tanto em pacientes com SAC quanto em pacientes com IANF e que o TOTG seja destacado como exame essencial nesta investigação

IX- BIBLIOGRAFIA DO TEXTO DA DISSERTAÇÃO

AHUJA, Vasudha. *et al.* Accuracy of 1-Hour Plasma Glucose During the Oral Glucose Tolerance Test in Diagnosis of Type 2 Diabetes in Adults: A Meta-analysis. **Diabetes Care**, v. 44, n. 4, p. 1062–1069. Apr. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33741697/>.

ARON, David. *et al.* Adrenal incidentalomas. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab**, v. 26, n. 1, p. 69-82. Feb. 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22305453/>.

ATHANASOULI, Fani. *et al.* Nonfunctional adrenal adenomas and impaired glucose metabolism: a systematic review and meta-analysis. **Endocrine**, v. 74, n. 1, p. 50-60. Oct. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33963515/>.

BARBOT, Mattia. *et al.* Diabetes Mellitus Secondary to Cushing's Disease. **Frontiers in Endocrinology**, v. 9, n. 5, p. 284. Jun. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29915558/>.

BURT, Morton G. *et al.* Continuous Monitoring of Circadian Glycemic Patterns in Patients Receiving Prednisolone for COPD. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 96, n. 6, p. 1789–1796. Jun. 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21411550/>.

CAVALARI, E. M. R. *et al.* Nonfunctioning adrenal incidentaloma: A novel predictive factor for metabolic syndrome. **Clin Endocrinol (Oxf)**, v. 89, n. 5, p. 586-95. Nov. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30044007/>.

CHATZIANAGNOSTOU, Kyriazoula. *et al.* Low concordance between hba1c and ogtt to diagnose prediabetes and diabetes in overweight or obesity. **Clin Endocrinol (Oxf)**, v. 91, n. 3, p. 411-416. Sep. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31152677/>.

CHIODINI, Iacopo. *et al.* Beneficial Metabolic Effects of Prompt Surgical Treatment in Patients with an Adrenal Incidentaloma Causing Biochemical Hypercortisolism. **J Clin Endocr Metab**, v. 95, n. 6, p. 2736-45. Jun. 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20375210/>.

CHIODINI, Iacopo. Clinical review: Diagnosis and treatment of subclinical hypercortisolism. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 96, n. 5, p. 1223-36. May. 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21367932/>.

COBAS, Roberta. *et al.* BERTOLUCCI, Marcello. (ed.) Diagnóstico do diabetes e rastreamento do diabetes tipo 2. **Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes**, 2022. Disponível em: <https://diretriz.diabetes.org.br/diagnostico-e-rastreamento-do-diabetes-tipo-2/>.

COBIN, R. H. *et al.* AACE/AAES AACE/AAES medical/surgical guidelines for clinical practice: management of thyroid carcinoma. **Endocrine Practice**, v. 7, n. 3, p. 202-20. Sep. 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11430305/>.

DEBONO, Miguel. *et al.* Cortisol as a marker for increased mortality in patients with incidental adrenocortical adenomas. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 99, n. 12, p. 4462-70. Dec. 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25238207/>.

DI DALMAZI, Guido. Adrenal Incidentaloma: Picking Out the High-Risk Patients. **Exp Clin Endocrinol Diabetes**, v. 127, n. 2-03, p. 178-184. Fev. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30372764/>.

DI DALMAZI, Guido *et al.* Cardiovascular events and mortality in patients with adrenal incidentalomas that are either non-secreting or associated with intermediate phenotype or subclinical Cushing's syndrome: a 15-year retrospective study. **Lancet Diabetes Endocrinol**, v. 2, n. 5, p. 396-405. May. 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24795253/>.

DI DALMAZI, Guido *et al.* Progressively increased patterns of subclinical cortisol hypersecretion in adrenal incidentalomas differently predict major metabolic and cardiovascular outcomes: a large cross-sectional study. **Eur J Endocrinol**, v. 166, n. 4, p. 669-77. Apr. 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22267278/>.

DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES 2017-2018.

OLIVEIRA, José Egídio Paulo de. (org.). *et al.* São Paulo: Editora Clannad, 2017.

ERBIL, Yesim. *et al.* Evaluation of the cardiovascular risk in patients with subclinical Cushing syndrome before and after surgery. **World J Surg**, v. 30, n. 9, p. 1665-71. Sep. 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16927063/>.

GLOVACI, Diana. *et al.* Epidemiology of Diabetes Mellitus and Cardiovascular Disease. **Current Cardiology Reports**, v. 15, n. 6, p. 8-16. Feb. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31646113/>.

FASSNACHT, Martin. *et al.* Management of adrenal incidentalomas: European Society of Endocrinology Clinical Practice Guideline in collaboration with the European Network for the Study of Adrenal Tumors. **European Journal of Endocrinolog**, v. 175, p. G1-G34. Aug. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27390021/>.

FERNÁNDEZ-REAL, J. M. *et al.* Study of glucose tolerance in consecutive patients harbouring incidental adrenal tumours. Study Group of Incidental Adrenal Adenoma. **Clin Endocrinol (Oxf)**, v. 49, n. 1, p. 53-61. Jul. 1998. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9797847/>.

GONZALEZ, A. *et al.* Impact of mismatches in HbA1c vs glucose values on the diagnostic classification of diabetes and prediabetes. **Diabet Med**, v. 37, n. 4, p. 689-696. Apr. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31721287/>.

IMGA, Nasiroglu Narin. *et al.* The Relationship Between Increased Epicardial Fat Thickness and Left Ventricular Hypertrophy and Carotid Intima-Media Thickness in Patients With Nonfunctional Adrenal Incidentaloma. **Int J Endocrinol Metab**. v. 14, n. 3. Jul. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27942264/>.

IOACHIMESCU, Adriana G. *et al.* Adrenal incidentalomas: a disease of modern technology offering opportunities for improved patient care. **Endocrinol Metab Clin**, v. 44, n; 2, p. 335-54. 2015 Jun. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26038204/>.

JAGANNATHAN, Ram. *et al.* The Oral Glucose Tolerance Test: 100 Years Later. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity**, v. 19, n. 13, p. 3787-3805. Oct. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33116727/>.

KANAT, Mustafa. *et al.* The relationship between {beta}-cell function and glycated hemoglobin: results from the veterans administration genetic epidemiology study. **Diabetes Care**, v. 34, n. 4. p. 1006-1010. Apr. 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21346184/>.

KRZYŻEWSKA, Katarzyna. *et al.* Glucose metabolism disorders in patients with non-functioning adrenal adenomas — single-centre experience. **Endokrynol Pol**, v. 68, n. 4, p. 416-421. Jun. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28585681/>.

LEE, Jung Min. *et al.* Clinical Guidelines for the Management of Adrenal Incidentaloma. **Endocrinol Metab**, v. 32, n. 2, p. 200-218. Jun. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28685511/>.

LOH, Huai H. *et al.* The natural progression and outcomes of adrenal incidentaloma: a systematic review and meta-analysis. **Minerva Endocrinol**, v. 42, n. 1. p. 77-87. Mar. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26698544/>.

LOPEZ, Diana. *et al.* “Non-Functional” Adrenal Tumors and the Risk of Incident Diabetes and Cardiovascular Outcomes: A Cohort Study. **Ann Intern Med**, v. 18, n. 165(8), p. 533–542. Oct. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27479926/>.

MANTERO, Franco. *et al.* A Survey on Adrenal Incidentaloma in Italy. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 85, n. 2, p. 637–644. Feb. 2000. Disponível em: <https://academic.oup.com/jcem/article/85/2/637/2854010>.

MANTERO, F. ARNALDI, G. Management approaches to adrenal incidentalomas. A view from Ancona, Italy. **Endocrinol Metab Clin North Am**, v. 29, n. 1, p. 107-25. Mar. 2000. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10732267/>.

MENDIRATTA-LALA, Mishal. *et al.* Adrenal imaging. **Endocrinol Metab Clin North Am**, v. 46, n. 3, p. 741-59. Sep. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28760236/>.

MORELLI, Valentina. *et al.* Adrenalectomy Improves Blood Pressure and Metabolic Control in Patients With Possible Autonomous Cortisol Secretion: Results of a RCT. **Front Endocrinol (Lausanne)**, v. 13, art. 898084. Jun. 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35721734/>.

MORELLI, Valentina. *et al.* Cardiovascular events in patients with mild autonomous cortisol secretion: analysis with artificial neural networks. **Eur J Endocrinol**, v. 177, n. 1, p. 73-83. Jul. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28468767/>.

MORELLI, Valentina. *et al.* Long-term follow-up in adrenal incidentalomas: an Italian multicenter study. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 99, n. 3, p. 827-34. Mar. 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24423350/>.

NISHIDA, C. *et al.* Body fat distribution and noncommunicable diseases in populations: overview of the 2008 WHO Expert Consultation on Waist Circumference and Waist–Hip Ratio. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 64, n. 1, p. 2-5. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19935820/>.

OGNJANOVIĆ, Sanja. *et al.* The association of glucocorticoid receptor polymorphism with metabolic outcomes in menopausal women with adrenal incidentalomas. **Maturitas**, v. 151, n.15, p. 21. Sep. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34446274/>.

PATROVA, J. Increased mortality in patients with adrenal incidentalomas and autonomous cortisol secretion: a 13-year retrospective study from one center. **Endocrine**, v. 58, n. 2, p. 267-75. Nov. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28887710/>.

PEROGAMVROS, I. *et al.* Biochemical and clinical benefits of unilateral adrenalectomy in patients with subclinical hypercortisolism and bilateral adrenal incidentalomas. **European journal of endocrinology**, v. 173, n. 6, p. 719-25. Dec. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26330465/>.

REBELO, Joao. *et al.* Adrenal incidentaloma: do patients with apparently nonfunctioning mass or autonomous cortisol secretion have similar or different clinical and metabolic features? **Clin Endocrinol**. 2022;1-8. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36514987/>.

REIMONDO, G. *et al.* Adrenal Incidentalomas are Tied to Increased Risk of Diabetes: Findings from a Prospective Study. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 105, n. 4, dgz. 284. Apr. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31900474/>.

REINCKE M. *et al.* Adrenal incidentalomas: a manifestation of the metabolic syndrome? **Endocr Res**, v. 22, n. 4, p. 757-61. Nov. 1996. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8969938/>.

ROSSI, R. *et al.* Subclinical Cushing's syndrome in patients with adrenal incidentaloma: Clinical and biochemical features. **J Clin Endocr Metab**, v. 85, n. 4, p. 1440-8. Apr. 2000. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10770179/>.

SAKAGUCHI, Kazuhiko. *et al.* Glucose area under the curve during oral glucose tolerance test as an index of glucose intolerance. **Diabetol Int**, v. 14, n. 7(1), p. 53-58. May. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30603243/>.

SCARONI, Carla. *et al.* Glucose Metabolism Abnormalities in Cushing Syndrome: From Molecular Basis to Clinical Management. **Endocrine Reviews**, v. 38, n. 3, p.189 – 219. Jun. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28368467/>.

STANDARDS OF MEDICAL CARE IN DIABETES. **Diabetes Care** 2022; 45 (Suppl. 1): S1-S2. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34964875/>

SUH, Sunghwan; PARK, Mi K. Glucocorticoid-Induced Diabetes Mellitus: An Important but Overlooked Problem. **Endocrinol Metab**, v. 32, n. 2 p. 180-189. Jun. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28555464/>.

TABARIN, Antoine. Do the diagnostic criteria for subclinical hypercortisolism exist? Annales d' Endocrinologie. **Ann Endocrinol (Paris)**, v. 79, n. 3, p. 146-148. Jun. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29661471/>.

TAUCHMANOVÀ, Libuse. *et al.* Patients with subclinical Cushing's syndrome due to adrenal adenoma have increased cardiovascular risk. **J Clin Endocr Metab**, v. 87, n. 11, p. 4872-8. Nov. 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12414841/>.

TAYA, Michio. *et al.* The relationship between adrenal incidentalomas and mortality risk. **Eur Radiol**, v. 29, n. 11, p. 6245-55. Nov. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30993434>.

TERZOLO, M. *et al.* Adrenal Incidentaloma: A new cause of metabolic Syndrome? **J Clin Endocr Metab**, v. 87, n. 3, p. 998-1003. Mar. 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11889151/>.

TERZOLO, M. *et al.* AME position statement on adrenal incidentaloma. **Eur J Endocrinol**, v. 164, n. 6, p. 851-70. Jun. 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21471169/>.

TERZOLO, M. *et al.* Midnight serum cortisol as a marker of increased cardiovascular risk in patients with a clinically inapparent adrenal adenoma. **Eur J Endocrinol**. v. 153, n. 2, p. 307-15. Aug. 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16061838/>.

TONIATO, Antonio. *et al.* Surgical Versus Conservative Management for Subclinical Cushing Syndrome in Adrenal Incidentalomas: A Prospective Randomized Study. **Ann Surg**, v. 249, n. 3, p. 388-91. Mar. 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19247023/>.

VIERHAPPER, H. *et al.* Adrenocortical tumors: prevalence of impaired glucose tolerance and of "Paradoxical Rise" of cortisol during an oral glucose tolerance test. **Exp Clin Endocrinol Diabetes**, 111(7):415-20. Oct. 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14614648/>.

WILLIAMS, Bryan. *et al.* ESC/ESH Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension. **J Hypertens**, v. 36, n. 10, p. 1953-2041. Oct. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30234752/>.

YANASE, Toshihiko. *et al.* New diagnostic criteria of adrenal subclinical Cushing's syndrome: opinion from the Japan Endocrine Society. **Endocrine Journal**, v. 65, n. 4, 383-393. Apr. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29576599/>.

YENER, S. *et al.* Increased risk of unfavorable metabolic outcome during short-term follow-up in subjects with nonfunctioning adrenal adenomas. **Med Princ Pract**, v. 21, n. 5, p. 429-34. 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22398948/>.

VIEIRA NETO, Leonardo. *et al.* Guia Prático em doenças adrenais e hipertensão endócrina. São Paulo: Editora Clannad, 2021.

ZEIGER, Martha A. *et al.* AACE/AAES Medical Guidelines for the management of adrenal incidentalomas. **ENDOCRINE PRACTICE** Vol 15 (Suppl 1) July/August 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19632967/>.

ZEIGER, Martha A. *et al.* Medical and Surgical Evaluation and Treatment of Adrenal Incidentalomas. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 96, n. 7, p. 2004-15. Jul. 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21632813/>.