

**UNIVERZITET U BEOGRADU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Nataša I. Vujačić**

**ANALIZA TESTOVA ZA PREOPERATIVNU  
DIJAGNOSTIKU PRIMARNOG  
ALDOSTERONIZMA**

**Doktorska disertacija**

**Beograd, 2022**

**UNIVERSITY OF BELGRADE  
MEDICAL FACULTY**

**Nataša I. Vujačić**

**ANALYSIS OF TESTS FOR PREOPERATIVE  
DIAGNOSIS OF PRIMARY ALDOSTERONISM**

**Doctoral dissertation**

**Belgrade, 2022**

**MENTOR:**

**Prof. dr Jasmina Ćirić**, specijalista interne medicine – endokrinolog Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, UKCS redovni profesor na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu

**KOMENTOR:**

**Prof. dr Ivan Paunović**, specijalista opšte hirurgije-endokrini hirurg Klinika za dijabetes i bolesti metabolizma, UKCS redovni profesor na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu

**ČLANOVI KOMISIJE:**

1. **Prof. dr Vladan Živaljević**, specijalista opšte hirurgije-endokrini hirurg Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, UKCS redovni profesor na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu
2. **Doc. dr Miloš Stojanović**, specijalista interne medicine - endokrinolog, Klinika za endokrinologiju, UKCS docent na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu
3. **Prof. dr Zoran Hajduković**, specijalista interne medicine - endokrinolog Klinika za endokrinologiju VMA profesor na Medicinskom fakultetu VMA

# ANALIZA TESTOVA ZA PREOPERATIVNU DIJAGNOSTIKU PRIMARNOG ALDOSTERONIZMA

## Sažetak

**Uvod:** Primarni aldosteronizam (PA) je prisutan u oko 5% hipertenzivne populacije i povezuje se sa brojnim kardiovaskularnim, renalnim i metaboličkim komplikacijama. Oko trećinu PA čine unilateralne forme koje se mogu korigovati hiruški, uglavnom aldosteron produkujući adenom (APA). Za potvrdu dijagnoze PA kod selektovanih hipertenzivnih pacijenata koristi se nekoliko testova od kojih ni jedan nema idealnu pouzdanost.

**Cilj:** Cilj ove studije je bio analiza vrste i validnosti primenjenih testova u preoperativnoj dijagnostici i diferencijalnoj dijagnostici PA i njihova korelacija sa patohistološkim (PH) nalazom i operativnim ishodom. Takođe, analiza kliničko-biohemijskih karakteristika grupe PA upoređenih sa kontrolnim grupama afunkcioni adrenokortikalni tumor sa esencijalnom hipertenzijom (Af tu) i adrenokortikalni tumor sa hiperkortizolizmom (SCS i CS).

**Metode:** Za retrospektivnu analizu korišćeni su podaci iz medicinske dokumentacije koji se odnose na operativno lečenje pacijenata u Centru za endokrinu hirurgiju KCS u periodu od 2007-2017, kao i endokrinološko testiranje u Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma. Analizirani su dijagnostički testovi za PA, slikovni prikazi adrenalnih tumora, antropometrijski i klinički parametri, biohemijski, komplikacije (kardiovaskularni događaji, renalna funkcija i morfologija, metabolički poremećaji), primenjena operativna tehnika, PH nalaz i postoperativni ishod.

**Rezultati:** U grupi PA (40) operisano je 35 pacijenata, kod 31 je potvrđen adenom, a kod 4 nodularna hiperplazija. U grupi SCS i CS (20) operisano je 19 osoba, a u Af tu (40) tri osobe. U grupi PA je 85% pacijenata imalo bazno povišen serumski aldosteron, a svi hipokalemiju i nisku ili suprimovanu PRA. Od definitivnih testova za potvrdu PA, infuzioni test slanim rastvorom je izveden kod 20, a kaptoprilski test kod 19 ispitanika. Izostanak supresije aldosterona u infuzionom testu nađen je kod svih osoba sa povišenim aldosteronom (najniži postinfuzioni aldosteron 160 ng/L). U kaptoprilskom testu 4 osobe (21%) sa povišenim aldosteronom su imale pad aldosterona za >30%. Najniža postkaptoprilska vrednost aldosterona je bila 135.5 ng/L. Za kriterijum da je PA aldosteron >120 ng/L, sve postkaptoprilske vrednosti su bile obuhvaćene. Primena deksametazon supresionog testa sa 1mg omogućila je potvrdu kosekretornih tumora u dva slučaja (PA i SCS). Adrenalno vensko uzorkovanje aldosterona (AVS) je obavljano sporadično, pa je na osnovu PH nalaza CT pokazao pogrešno da se radi o adenomu u 11.4% slučaja. U grupi PA tumori viđeni CT-om su značajno manji ( $22.15 \pm 9.70$ ), a najveći su u grupi SCS+CS ( $44.75 \pm 14.04$ ). Nađena je pozitivna korelacija težine i volumena tumora sa nivoom kortizola nakon supresije deksametazonom, a negativna korelacija sa nivoom bazalnog aldosterona. Ispitivane grupe se nisu razlikovale prema starosti i polu, ali je za PA (dominantno APA) nađena češća pojava kod mlađih žena (20-40 godina 24:6.7%) i starijih muškaraca (>60 godina 8:60%). Nije bilo značajnih razlika u antropometrijskim karakteristikama među grupama, koje su bile u rangu prekomerne težine. Srednje vrednosti sistolnog, dijastolnog i srednjeg arterijskog pritiska su bile značajno više u grupi PA u odnosu na grupu Af tu, ali ne i grupu SCS+CS. Hipertenzija je značajno duže trajala u grupi PA nego SCS+CS (SV 120 vs 60 m). Nije bilo značajnih razlika u prisustvu pojedinačnih kardiovaskularnih i cerebrovaskularnih događaja. Nisu nađene statistički značajne razlike među grupama za nivo glikemije, zastupljenost intolerancije glukoze i dijabetes melitusa, niti za parametre metabolizma masti. Metabolički sindrom je bio prisutan kod 55% svih ispitanika, najčešći u grupi SCS+CS (70%), zatim Af tu (65%), a najređi u PA (37.5%), značajno ređi u odnosu na druge grupe ( $p=0,015$ ). Renalne ciste su bile najčešće u grupi PA (30,8%), značajno češće nego u grupi Af tu. Nije bilo značajne razlike među grupama u zastupljenosti renalne insuficijencije, u PA 20%. Laparoscopska adrenalektomija je obavljena u 37 slučaja, a klasična u 20.

PH nalaz je omogućio prepoznavanje APA, a uz svetle ćelije nalik zoni fascikulati u PA su hibridne ćelije bile opisane u 60% slučajeva, značajno češće nego u grupi SCS+CS. U ranom postoperativnom periodu kod osoba sa PA nađeno je statistički značajno smanjenje sistolnog, dijastolnog i srednjeg arterijskog pritiska. Kod trećine ispitanika normotenzija se održavala bez antihipertenzivne terapije. Kod svih osoba registrovana je normalizacija serumskog kalijuma i značajan porast. U produženom postoperativnom praćenju podaci o izmerenom aldosteronu su bili dostupni za 50% ispitanika sa PA, registrovan je jedan recidiv kod nodularne hiperplazije.

**Zaključak:** Dobijeni rezultati podržavaju češću primenu skrininga za rano otkrivanje PA. Za dijagnostiku PA je infuzioni test pokazao dobru pouzdanost, a kaptoprili test samo primenom dijagnostičkog kriterijuma aldosteron >120 ng/L. Primena dominantno CT pregleda u diferencijalnoj dijagnostici je bila uzrok potencijalno pogrešne lateralizacije u 11.4%. Češća primena AVS i uvođenje funkcionalne patohistologije bi optimizovalo dijagnostiku primarnog aldosteronizma.

**Ključne reči:** primarni aldosteronizam, adrenokortikalni tumor, dijagnostički testovi, adrenaletomija, sekundarna hipertenzija

**Naučna oblast:** Medicina

**Uža naučna oblast:** Endokrinologija

**UDK br:**

## ANALYSIS OF TESTS FOR PREOPERATIVE DIAGNOSIS OF PRIMARY ALDOSTERONISM

### Abstract

**Introduction:** Primary aldosteronism (PA) is present in about 5% of the hypertensive population and is associated with a number of cardiovascular, renal, and metabolic complications. About a third of patients with PA have a unilateral tumour that can be treated surgically. These tumours are usually aldosterone producing adenomas (APA). There are several tests that are used to confirm the diagnosis of PA in patients with hypertension, but none have ideal reliability.

**Aim:** The aim of this study was to analyse the type and validity of applied tests in preoperative diagnosis and differential diagnosis of PA and their correlation with pathohistological (PH) findings and operative outcome. Also, analysis of clinical and biochemical characteristics of the PA group were compared with control groups of patients with afunctional adrenocortical tumours with essential hypertension (Af tu) and patients with adrenocortical tumour and hypercortisolism (SCS and CS).

**Methods:** For the retrospective analysis, data was obtained from medical documentation related to the surgical treatment of patients at the Centre for Endocrine Surgery of the Clinical Centre of Serbia; and from medical documentation related to functional testing performed by endocrinologists at the Clinic for Endocrinology, Diabetes and Metabolic Diseases of the Clinical Centre of Serbia, in the period 2007-2017. The following variables were analysed: diagnostic tests for PA, imaging diagnostics of adrenal tumours, anthropometric, clinical and biochemical parameters, complications (cardiovascular events, renal function and morphology, metabolic disorders), operative technique, definitive PH finding and postoperative outcome.

**Results:** In the PA group of 40 patients, 35 underwent surgery, and an adenoma was confirmed in 31 while nodular hyperplasia was found in four patients. In the group of SCS and CS of 20 patients, 19 underwent surgery while in the Af tu group (40 patients) three underwent surgery. In the PA group, 85% of the patients had baseline elevated serum aldosterone, and all had hypokalaemia and a low or suppressed PRA. Of the definitive tests to confirm PA, the saline infusion test was performed in 20 subjects and the captopril test in 19 subjects. Absence of aldosterone suppression in the infusion test was found in all subjects with elevated aldosterone (lowest post-infusion aldosterone 160 ng/L). In the captopril test, four patients (21%) with elevated aldosterone had a drop in aldosterone greater than 30%. The lowest post-captopril aldosterone value was 135.5 ng/L. In the PA group, for the criteria of aldosterone >120 ng/L all post-captopril values were included. The use of dexamethasone suppression test with 1 mg enabled the confirmation of co-secretory tumours in two cases (PA and SCS). Adrenal venous aldosterone sampling (AVS) was performed sporadically, so based on the PH findings, CT incorrectly showed that it was an adenoma in 11.4% of cases. In the PA group, the tumours seen by CT were significantly smaller ( $22.15 \pm 9.70\text{mm}$ ), and the largest were in the SCS + CS group ( $44.75 \pm 14.04\text{mm}$ ). A positive correlation was found between tumour weight and volume and cortisol levels after dexamethasone suppression, and a negative correlation was found with basal aldosterone levels. The study groups did not differ by age and sex, but PA (predominantly APA) was more common in younger women (20-40 years 24% vs. 6.7%) and older men (>60 years 8% vs. 60%). There were no significant differences in anthropometric characteristics between the overweight groups. The mean values of systolic, diastolic and mean arterial pressure were significantly higher in the PA group compared to the Af tu group, but not in the SCS + CS group. Hypertension lasted significantly longer in the PA group than SCS + CS (SV 120 vs 60 m). There were no significant differences in the presence of individual cardiovascular and cerebrovascular events. No statistically significant differences were found between the groups for their glycaemic level, prevalence of glucose intolerance and diabetes mellitus, or for any fat metabolism parameters. Metabolic syndrome was present in 55% of all patients, the most common being in the SCS + CS group (70%), followed

by Af tu (65%), while the rarest was in the PA group (37.5%), significantly less common than in other groups ( $p = 0.015$ ). Renal cysts were more common in the PA group (30.8%), significantly more common than in the Af group. There was no significant difference between the groups in the prevalence of renal insufficiency it was 20% in the PA group, but was not significant. Laparoscopic adrenalectomy was performed in 37 cases, and classical adrenalectomy in 20. PH findings enabled recognition of APA, and with light cells that resemble zona fasciculata in PA, hybrid cells were described in 60% of cases, significantly more often than in the SCS + CS group. In the early postoperative period, a statistically significant decrease in systolic, diastolic and mean arterial pressure was found in persons with PA. In one third of the patients normal tension was maintained without antihypertensive therapy. Normalization and a significant increase of serum potassium was registered in all persons. In the prolonged postoperative follow-up, where data on measured aldosterone was available for 50% of patients with PA, we registered one patient with nodular hyperplasia that had a relapse.

**Conclusion:** The results of this study support a need for more frequent application of screening for early detection of PA. For the diagnosis of PA, the infusion test showed good reliability while the captopril test proved useful only when the diagnostic criteria of aldosterone being  $>120$  ng/L was used. The use of predominantly CT scans in differential diagnosis was the cause of potentially incorrect lateralization in 11.4% of cases. More frequent use of AVS and introduction of functional pathohistology could further optimize the diagnosis of primary aldosteronism.

**Key words:** primary aldosteronism, adrenocortical tumor, diagnostic tests, adrenalectomy, secondary hypertension

**Scientific field:** Medicine

**Scientific subfield:** Internal medicine – endocrinology

**UDC number:**

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
1.1. Definicija aldosteronizma i istorijat definicije .....	1
1.2. Uzroci i podela primarnog aldosteronizma .....	3
1.3. Sinteza i dejstvo aldosterona u fiziološkim i patofiziološkim uslovima .....	4
1.4. Renin-angiotenzin-aldosteronski sistem .....	6
1.5. Klinička slika primarnog aldosteronizma .....	8
1.6. Dijagnostika primarnog aldosteronizma .....	10
1.6.1. Testovi za potvrdu primarnog aldosteronizma .....	13
1.6.2. Parenteralno opterećenje solju (infuzioni test fiziološkim rastvorom).....	13
1.6.3. Oralno opterećenje solju.....	13
1.6.4. Kaptoprilski test .....	14
1.6.5. Fludrokortizonski test.....	14
1.7. Diferencijalna dijagnostika primarnog aldosteronizma - metode za utvrđivanje podtipova .....	15
1.7.1. Kompjuterizovana tomografija .....	15
1.7.2. Adrenalno vensko semplovanje .....	16
1.8. Testiranje familijarnih formi primarnog aldosteronizma .....	17
1.8.1. Familijarni hiperaldosteronizam tip 1 (FH-I) ili aldosteronizam izlečiv glukokortikoidima .....	17
1.8.2. Familijarni hiperaldosteronizam tip 2 (FH-II) .....	17
1.8.3. Familijarni hiperaldosteronizam tip 3 (FH-III) .....	17
1.8.4. Genetske promene u sporadičnom aldosteron produkujućem adenomu .....	18
KCJ5 gen .....	18
ATP1A1 i ATP2B3 geni .....	18
CACNA1D gen .....	18
1.9. Terapija primarnog aldosteronizma .....	18
Hirurško lečenje primarnog aldosteronizma .....	20
1.10. Komplikacije primarnog aldosteronizma .....	20
1.10.1. Kardiovaskularne i bubrežne komplikacije .....	21
1.11. Histologija i patohistologija nadbubrežnih žlezda .....	23
1.11.1. Značaj patohistološkog pregleda u potvrdi primarnog aldosteronizma .....	23
1.11.2. Histologija peritumorskog adrenalnog tkiva .....	24
<b>2. CILJEVI RADA</b> .....	<b>26</b>
<b>3. MATERIJAL I METODE</b> .....	<b>27</b>
3.1. Tip studije, mesto i period istraživanja .....	27
3.2. Selekcija ispitanika .....	27
3.3. Protokol studije i instrumenti merenja .....	27
3.3.1. Procena krvnog pritiska .....	27
3.3.2. Metaboličke karakteristike .....	27
3.3.3. Procena prisustva komplikacija .....	28
3.3.4. Hormonske analize .....	28
3.3.5. Analiza endokrinoloških testova .....	29
3.3.6. Analize podataka vezane za adrenokortikalne tumorske promene .....	29
3.4. Statističke metode .....	29



<b>4. REZULTATI .....</b>	<b>30</b>
<b>5. DISKUSIJA .....</b>	<b>53</b>
<b>6. ZAKLJUČCI .....</b>	<b>64</b>
<b>7. LITERATURA .....</b>	<b>66</b>

# 1. UVOD

U poslednjih petnaest godina rano otkrivanje primarnog aldosteronizma (PA) dobija na važnosti zbog saznanja da čak i lako povišen serumski aldosteron ostvaruje brojne nepovoljne efekte na kardiovaskularni sistem nezavisno od stepena hipertenzije (HT) (Rossi GP, 2008) i da je uključen u mehanizme nastanka metaboličkog sindroma (MS) (Hanslik G, 2015; Fischer E, 2013). Prekomerna sekrecija aldosterona je udružena sa povišenom prevalencom metaboličkih poremećaja kao što su oštećen glukozni i lipidni metabolizam i insulinska rezistencija, ali takođe i sa češćim pojavljivanjem kardiovaskularnih, renalnih i komplikacija od strane centralnog nervnog sistema (Bego T, 2018). Atrijalna fibrilacija je dvanaest puta češća u PA u odnosu na esencijalnu hipertenziju, infarkt miokarda 6.5 puta i cerebrovaskularni insult 4.2 puta, nezavisno od krvnog pritiska i podtipa PA (Milliez P, 2005). Procenat kardiovaskularnog i cerebrovaskularnog morbiditeta i mortaliteta u pacijenata sa PA je viši u poređenju sa osobama sa esencijalnom hipertenzijom upoređujući godine, pol i krvni pritisak (Catena C, 2008; Monticone S, 2018). Prema ranijim procenama, primarni aldosteronizam je uzrok arterijske hipertenzije u manje od 3%. Međutim, imajući u vidu, da većina bolesnika sa PA ne mora imati hipokalijemiju, smatra se da je prevalenca PA u hipertenzivnih bolesnika značajno veća.

Ipak, još uvek ostaje mnogo pitanja vezanih za ovaj poremećaj, prvenstveno zbog složene kontrole sekrecije aldosterona, kao i činjenice da se o njenom poremećaju najviše podataka dobija preko ređih formi PA koje se leče operativno. Kod nas se na godišnjem nivou u Centru za endokrinu hirurgiju operiše oko 10 aldosteronoma.

Podaci dobijeni nakon operativnog lečenja unilateralnog PA daju mogućnost boljeg sagledavanja ovog složenog poremećaja sa ozbiljnim posledicama za koje za sada ne postoji optimalna klinička dijagnostika (Kuo LE, 2013).

Dijagnostički algoritam za PA čine skrining, potvrđni testovi i diferencijacija podtipa (Funder JW, 2016). PA je čest uzrok HT i praćen je velikim morbiditetom zbog čega je značajno njegovo rano lečenje. Najčešća indikacija za operativno lečenje PA je APA (aldosteron produkujući adenom) i unilateralna hiperplazija. Nivo serumskog aldosterona i njegov odnos sa fiziološkim stimulatorima i inhibitorima sekrecije može zavisiti od podtipa PA, kao i vrste ćelije karakteristične za APA koja dominira u tumoru. Zbog toga PA karakteriše različit potencijal i autonomnost sekrecije aldosterona koji se odražavaju na dijagnostičke testove.

Učestalost PA u svetu, u opštoj populaciji hipertenzivnih je porastao na oko 5-12% populacije, što je uglavnom rezultat bolje dijagnostike idiopatske adrenalne hiperplazije (IHA) kao predominantnog uzroka PA (Mulatero P, 2004; McKenzie TJ, 2009). Procenat pojavljivanja aldosteron produkujućeg adenoma (APA) je 1-3%, a u rezistentnoj HT i incidentalno nađenim tumorima nadbubrega, čak 20% slučajeva. (Eide IK, 2004; Bernini G, 2002). To PA čini najčešćom endokrinom hipertenzijom i ubraja među najčešće sekundarne HT uopšte (Stowasser M, 2003).

## 1.1. Definicija aldosteronizma i istorijat definicije

Primarni aldosteronizam (PA) je neodgovarajuće povišena, relativno autonomna, renin-angiotenzin sistem (RAS) nezavisna i nesupresibilna produkcija aldosterona. Primarni aldosteronizam (PA), ili hiperaldosteronizam, je stanje povećane sekrecije aldosterona iz ćelija zone glomeruloze u kori nadbubrega koje nije uzrokovano prekomernom stimulacijom reninom. Klinička slika PA nije karakteristična pa se definicija bazira na nalazu evidentno viših vrednosti aldosterona u serumu i urinu, ili normalnih ali sa funkcionalnom autonomijom koja se demonstrira rezistencijom na fiziološke inhibitore. Pretragama opšte populacije uočeno je značajno češće pojavljivanje PA i u raznovrsnijim formama nego što je bilo poznato, što je uslovalo promenu definicije i dijagnostičkih kriterijuma. Definicija primarnog aldosteronizma (PA) se poslednjih petnaest godina menjala da bi obuhvatila i blaže forme ranije svrastavane u esencijalnu hipertenziju (EHT) sa niskim reninom,

odnosno plazma reninskom aktivnošću (PRA). Karakterističan tip PA je aldosteron-producirajući adenom (APA) koga je uz hipertenziju i hipokalemiju prvi opisao američki endokrinolog *Jerome W. Conn* 1955. godine. *Conn* je 1955. godine prvi opisao klinički sindrom hipertenzije, hipokalemije i metaboličke alkaloze kao rezultat autonomne produkcije aldosterona iz adenoma nadbubrega. On je tada stručnu javnost upoznao sa novim kliničkim sindromom nekontrolisanog lučenja mineralokortikoida iz adenoma u kori nadbubrega i ukazao da operativno uklanjanje adenoma dovodi do izlječenja hipertenzije i korekcije pridruženih metaboličkih poremećaja. Iako je kasnije osporavan, danas je pojam primarnog aldosteronizma sinonim za *Conn*-ov sindrom. Danas brojna istraživanja pokušavaju da utvrde prevalencu ovog poremećaja. Pre 1981. godine, za PA se mislilo da je redak uzrok hipertenzije. Vremenom se pokazalo da najveći broj pacijenata sa PA nema hipokalemiju (Funder JW, 2016; Young WF Jr, 2007). Teška, perzistentna hipokalemija, povišen nivo 18-hidroksikortikosterona u plazmi i abnormalno posturalno smanjenje koncentracije aldosterona, kada postoji, predstavlja najbolji indikator prisustva adenoma. (Bravo EL, 1983). Aldosteronizam nije samo posledica benignog tumora (aldosteronoma), već može nastati i zbog bilateralne hiperplazije zone glomeruloze i retko zbog mikro i makronodularne hiperplazije ili karcinoma kore nadbubrega. U svim ovim stanjima dolazi do hipersekrecije aldosterona, završnog mineralokortikoida, koja je autonomna i nezavisna od fizioloških uticaja kontrole. Visok aldosteron dovodi do hipervolemije zbog reapsorpcije natrijuma i vode u distalnom tubulu i sabirnim kanalićima (gde aldosteron ostvaruje svoje delovanje), a izlučivanja kalijuma i  $H^+$  jona. Zbog toga će se kod obolelih razviti hipertenzija, hipokalemija i alkalozna. Hipokalemija je ranije bila preduslov za primenu dijagnostičkih testova za PA.

Obim hipertenzivne populacije u kojoj se traga za PA se stalno proširuje. Zbog novootkrivenih formi familijarnog PA, testiraju se hipertenzivni prvostepeni srodnici i osobe sa porodičnom anamnezom za HT ili cerebrovaskularnim insultom (CVI) pre 40. godine. Familijarna distribucija omogućava bolji uvid u sagledavanje genetske osnove za razvoj PA o kojoj se tek poslednjih godina više saznaje (Zennaro MC, 2015). U kasnijem praćenju pacijenata sa PA i sam *Conn* daje pretpostavke da je PA češći nego 1% koliko se tada uočavao među hipertenzivnom populacijom. Takav naslućivan porast u prepoznavanju je i nastupio u poslednjih petnaest godina, nakon liberalnog sprovođenja skrininga za PA među hipertenzivnim osobama i učestalog otkrivanja slabije uočljive forme aldosteronizma zbog bilateralne adrenalne hiperplazije (BAH). Rezultati nekih studija objavljenih od 1999. godine o PA koje ukazuju na prevalencu PA do 10% u opštoj hipertenzivnoj populaciji, koliko je *Conn* davno pretpostavljao. Međutim, navedena prevalenca primarnog aldosteronizma se spominje obično u manje od 1% neselektovane hipertenzivne populacije. Nedavno su *Gordon* i saradnici prikazali dokaze da PA nije redak i da se može ispoljiti sa incidencom većom od 12% kada se determinate serumski aldosteron, plazma reninska aktivnost i ARR koriste u dijagnozi (*Gordon RD*, 2004). Oni su, takođe našli da se hipokalemija prikazuje samo u težim oblicima bolesti a da najveći broj pacijenata ima normalan kalijum.

Sekundarni aldosteronizam se takođe karakteriše povišenim serumskim aldosteronom, ali zbog aktivacije sistema renin-angiotenzin. Ovaj termin obuhvata različite poremećaje u kojima su povišeni renin i aldosteron, ali su od značaja za diferencijalnu dijagnozu samo oni praćeni hipertenzijom. Renovaskularna hipertenzija zbog renalne ishemije i hipoperfuzije je najčešća, a ređi su uzrok sekundarnog aldosteronizma tumori koji luče renin, reninomi.

## 1.2. Uzroci i podela primarnog aldosteronizma

Podela uzroka PA i njihova procentualna zastupljenost prikazani su u Tabeli 1.

**Tabela I** - Uzroci primarnog aldosteronizma (Preuzeto iz Ćirić J, 2019)

PODTIP	ZASTUPLJENOST (%)
Aldosteron produkujući adenom (APA)	33%
Bilateralna adrenalna hiperplazija (BAH)	63%
Unilateralna adrenalna hiperplazija (UAH)	<1%
Aldosteron produkujući karcinom	<1%
Familijarni hiperaldosteronizam tip 1 (FH-I) ili PA izlečiv glukokortikoidima	0.5-1%
Familijarni hiperaldosteronizam tip 2 (FH-II)	3-6%
Familijarni hiperaldosteronizam tip 3 (FH-III)	retki
Kortizol kosekretujući tip APA	retki
Ektopični APA i karcinomi	vrlo retki

Do skora se smatralo da je u 75% slučajeva PA posledica adenoma. Međutim primenom široko rasprostranjenog skrininga i novijih saznanja, smatra se da je učestalost aldosteron produkujućeg adenoma značajno manja (oko 33%), dok je učestalost bilateralnog idiopatskog hiperaldosteronizma (BAH) značajno veća (63%) (tabela 1.). Poslednjih godina pravac ispitivanja u najvećim studijama je bila upravo dijagnostika blažih formi PA usled IHA. Klinička slika APA je specifičnija usled znakova češće prisutne hipokalijemije.

Najvažniji poremećaji su:

- 1) aldosteron produkujući adenom (APA),
- 2) unilateralna ili bilateralna hiperplazija nadbubrega (UAH ili BAH, IHA),
- 3) kortizol sekretujući APA

Uočavanje velike učestalosti PA i njegovog štetnog efekta na kardiovaskularni sistem i druge organe dovelo je do razmatranja potrebe za opštim skriningom hipertenzivne populacije. Hipertenzija u primarnom aldosteronizmu je obično opisana kao blaga do umerena i rezistentna na terapiju. Saglasno studiji *Mosso* i saradnika, među 600 hipertenzivnih pacijenata koju su bili na skriningu za primarni aldosteronizam, dijagnoza je potvrđena u 2% pacijenata sa blagom hipertenzijom, 8% sa umerenom hipertenzijom i u 13% pacijenata sa težim oblikom hipertenzije. Ovi rezultati ukazuju da prevalenca PA raste sa težinom hipertenzije. Novije studije i meta analize pokazale su u različitim delovima sveta veću prevalencu primarnog aldosteronizma kod pacijenata sa hipertenzijom (od 5%-25%) u odnosu na ranije prihvaćen broj (Strauch B., 2003). Stopa prevalencije PA navedena je od strane *Mosso* i saradnika (Mosso L., 2003). Ostali istraživači su imali slična zapažanja. (Rossi GP, 2006).

U Kliničkom vodiču za otkrivanje, dijagnostiku i lečenje primarnog aldosteronizma definisane su grupe sa povećanim rizikom (John W Funder, 2016). Za detekciju pacijenata sa relativno visokom prevalencijom za primarni aldosteronizam koristimo sledeće ciljne grupe (Chobanian AV, 2003):

1. Pacijenti sa umerenom/teškom hipertenzijom (>160-179/100-109mmHg i 180/110 mmHg)

2. Pacijenti sa rezistentnom hipertenzijom >140/90 mmHg uprkos terapiji sa tri antihipertenzivna leka
3. Pacijenti sa hipertenzijom i spontanom ili diureticima provociranom hipokalijemijom
4. Hipertenzija sa adrenalnim incidentalomom
5. Hipertenzija i sleep apnea
6. Hipertenzija kod osoba sa porodičnom istorijom ranog javljanja hipertenzije (<20 g) ili cerebrovaskularnog insulta pre 40. godine
7. Svi prvostepeni rođaci osoba sa PA koji imaju hipertenziju

Danas više od polovine pacijenata sa PA ima normalan kalijum (Stowasser M, 2003). PA u pacijenata sa normalnim vrednostima kalijuma i sa incidentalomima su dijagnostikovani kod 5.5% od svih pacijenata sa hipertenzijom koji su bili ispitivani (Bernini G, 2002). U nekim studijama mali broj pacijenata sa PA ima hipokalijemiju (9%-37%). Uglavnom, pacijenti sa APA imaju tendenciju višeg nivoa aldosterona i viši krvni pritisak u odnosu na pacijente sa IHA. Zato što se hipokalijemija prezentuje u samo 28% pacijenata sa PA (Mulatero P, 2004; Monticone S, 2017), te su svi pacijenti sa hipertenzijom potencijalni kandidati za ovaj poremećaj. Primarni aldosteronizam je najčešći uzrok reverzibilne hipertenzije, prisutan je u 5%-18% odraslih sa hipertenzijom (Aronova A, 2014).

Štetni efekti povišenog aldosterona su brojni nezavisni od uticaja HT. Pacijenti sa PA imaju dva puta veću prevalencu uvećanja leve komore srca i značajno veću prevalencu koronarne bolesti, nefatalnih infarkta miokarda, srčane insuficijencije i atrijalne fibrilacije (Savard S, 2013). *Mulatero* i saradnici navode veću učestalost aritmija, moždanog udara i drugih kardiovaskularnih događaja kod osoba sa IHA i APA u odnosu na esencijalnu HT (*Mulatero* P, 2013), a *Fisher* i saradnici opisuju veću pojavu dijabetesa tip 2 u PA tokom godina praćenja (*Fischer* E, 2013).

*Ribeiro Cavalari* i saradnici su pokazali da je učestalost predijabetesa, dislipidemije, povećan obim struka i hipertenzija značajnije viša u grupi pacijenata sa nefunkcionalnim tumorom nadbubrega (NFA) u poređenju sa kontrolnom grupom sa normalnim CT prikazom nadbubrega. Koristeći različite kriterijume za definiciju, oni takođe dokazuju da pacijenti sa NFA imaju visoku prevalencu metaboličkog sindroma u odnosu na kontrolnu grupu (*Ribeiro Cavalari* EM, 2018). U nedavnim studijama u grupi od oko 37000 pacijenata sa HTA i hipokalemijom, samo 2.7% je bilo ikada na skriningu za PA, potvrđujući da nedostatak skrininga hipertenzivnih pacijenata na riziku može biti univerzalni problem (*Ruhle* BC, 2019).

Primarni aldosteronizam je u osnovi 43% slučajeva hipertenzije sa unilateralnim adrenalnim incidentalomima i normalnim kalijumom, što ukazuje na veći broj blažih oblika PA i manji broj slučajeva sa APA (*Heinrich* DA, 2018).

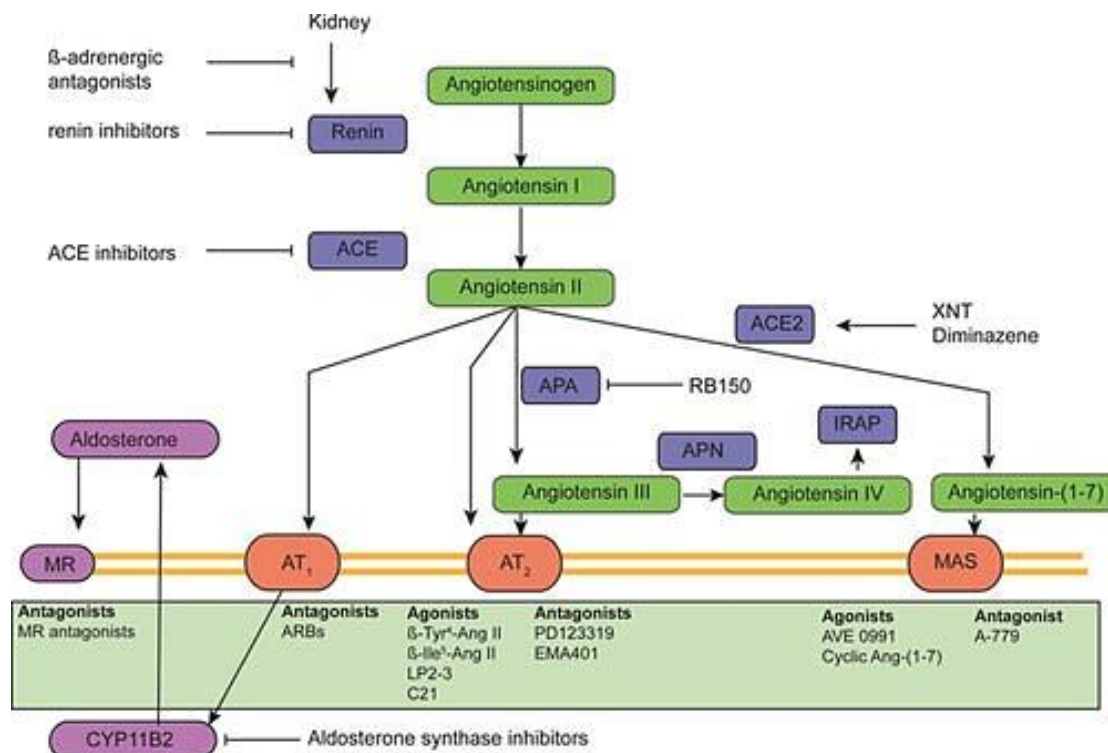
### 1.3. Sinteza i dejstvo aldosterona u fiziološkim i patofiziološkim uslovima

Aldosteron je jedan od mineralokortikoida koji sintetišu i luče nadbubrežne žlezde i igra presudnu ulogu u regulisanju zapremine vanćelijske tečnosti i krvnog pritiska. Autonomna prekomerna sekrecija aldosterona koja je posledica adrenokortikalnih bolesti poznata je kao primarni aldosteronizam i predstavlja jedan od najčešćih uzroka sekundarne hipertenzije. Zbog toga je važno razumeti molekularne mehanizme sinteze aldosterona i u normalnom i u patološkom nadbubrežnom tkivu. Postoje mišljenja da različiti faktori učestvuju u regulaciji biosinteze aldosterona, a razvijeno je i nekoliko adrenokortikalnih ćelijskih linija za upotrebu kod in vitro modela nadbubrežnih ćelija koje proizvode aldosteron, za analizu osnovnih molekularnih mehanizama. (*Splat* A, 2004). Kod odraslog čoveka kora nadbubrežne žlezde histološki je podeljena u tri različita dela: zona glomeruloza (ZG), zona fascikulata (ZF) i zona retikularis (ZR). Svaka od ovih zona sekretuje različiti tip adrenokortikalnih steroidnih hormona: menaralokortikoidi u ZG, glukokortikoidi u ZF i adrenalni adrogeni u ZR.

Aldosteron, poznat i kao elektrokortin, steroidni je hormon (izveden iz ciklopentan perihidrofenantrena) koji se sintetiše u glomerularnom delu kore nadbubrežne žlezde i koji je povezan sa kontrolom nivoa natrijuma, kalijuma i vode u vanćelijskoj tečnosti. Aldosteron je odgovoran za

homeostazu natrijuma, time što pomaže u kontroli nivoa volumena krvi i krvnog pritiska (Bollag WB, 2014). Albumini i globulini u plazmi (proteini krvi) deluju kao transporteri steroidnih hormona. Transport aldosterona odvija se nespecifičnim mehanizmom i približno 50% aldosterona u plazmi je u slobodnom stanju. Povećanje ACTH ili adrenokortikotropnog hormona, angiotenzina i kalijuma u plazmi, smanjenje natrijuma i atrijalni natriuretčki faktor neki su od faktora koji stimulišu sintezu i oslobađanje aldosterona. Ovaj hormon pospešuje bubrežnu apsorpciju natrijuma i izlučivanje kalijumovih i vodonikovih jona, što rezultira zadržavanjem natrijuma i povećanom eliminacijom jona kalijuma i vodonika. Voda se apsorbuje zajedno sa natrijumom kroz osmotski efekat. Aldosteron se sintetise u sloju zona glomeruloza kore nadbubrega koji pokazuje prisustvo specifičnog enzima aldosteron sintetaza (CYP11B2) (Gomez-Sanchez CE, 2013; Gioco E, 2015). Nivo aldosterona u serumu je kontrolisan na komplikovaniji način nego ostalih steroida, delovanjem više stimulatora sekrecije i inhibitora prekomernog lučenja. Sintezu kontrolišu tri glavna faktora: angiotenzin II, kalijum i adrenokortikotropni hormon (ACTH). Sekrecija i funkcija aldosterona zavise od nekoliko elemenata, među kojima su atrijalni natriuretiski faktor ili ANF i angiotenzin II. ANF je peptidni hormon koji sintetišu ćelije srčanog mišića i sekretuju ga kao odgovor na rastezanje komora ( de Bold AJ, 1985). Hormon angiotenzin II je deo sistema renin-angiotenzin (RAS) koji je glavni regulator aldosteronske sinteze. Renin je enzim koga proizvodi jukstaklomerularni aparat bubrega da katalizuje konverziju angiotenzinogena, inaktivnog peptidnog prekuzora iz jetre, u angiotenzin I. Iz angiotenzina I se delovanjem angiotenzin-konvertujućeg enzima (ACE) stvara angiotenzin II (Ang. II). Porast angiotenzina II je posledica stimulacije sekrecije renina od strane ćelija zrnaca bubrežnog jukstaklomerularnog aparata. Te ćelije luče renin stimulisan raznim faktorima kao što su:

- Smanjen bubrežni perfuzijski pritisak
- Promene u sastavu tubularne tečnosti koje kupu macula densa u bubregu ili
- Stimulacija bubrežnih simpatičkih živaca i drugi faktor.



Slika 1. (Preuzeto i prilagođeno iz *Te Riet L, 2015*)

Renin je proteolitički enzim koji razgrađuje angiotenzinogen i pretvara ga u angiotenzin I koji se enzimom angiotenzinom II pretvara u angiotenzin II. Angiotenzin II, stimuliše oslobađanje aldosterona. Ako se unos natrijuma poveća, a to pak, refleksno smanjuje bubrežni simpatički tonus, što takođe smanjuje proizvodnju renina i angiotenzina. Povećanje volumena plazme uzrokuje

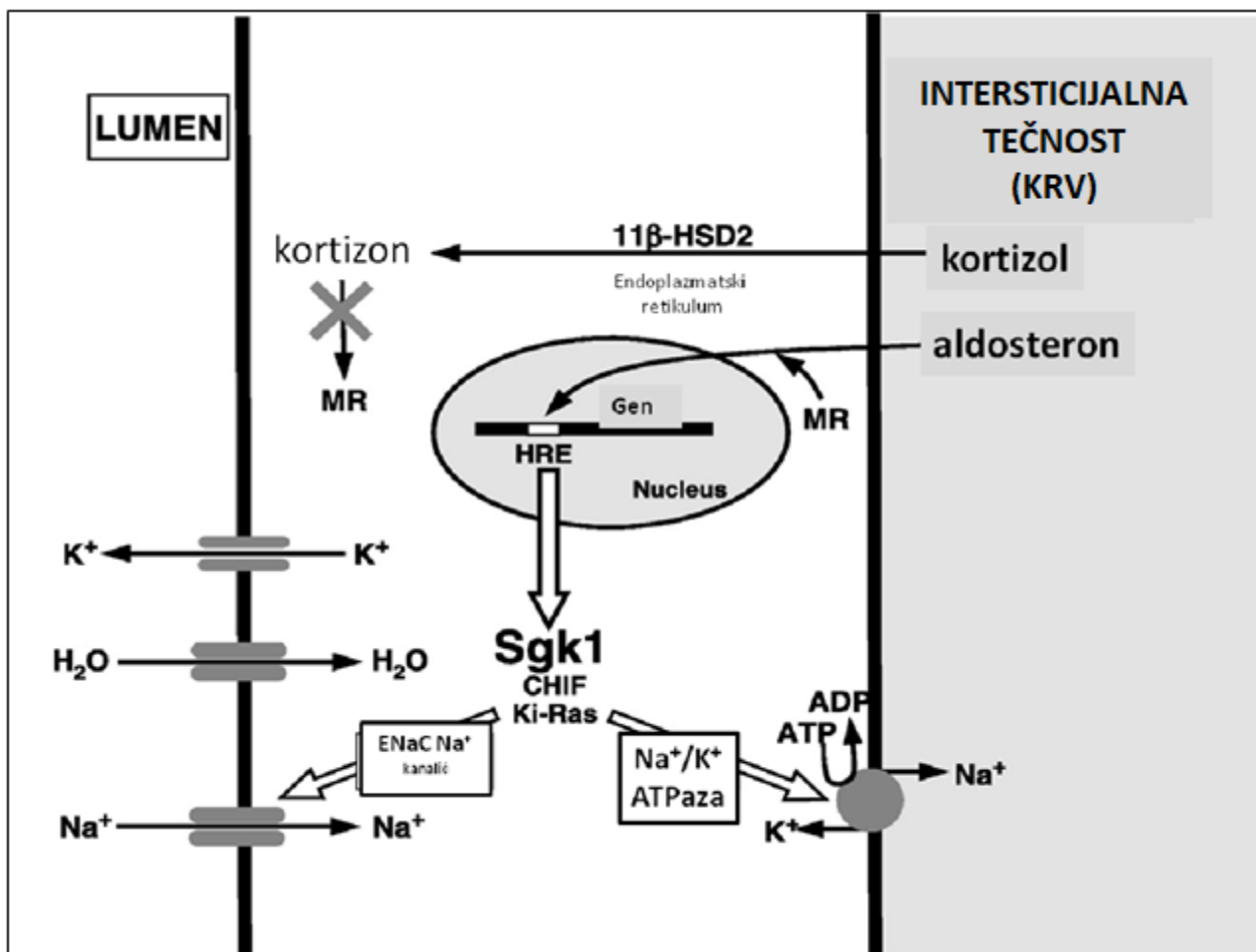
povećanje sekrecije ANF (Gardner DG, 2007). Na ćelijama zone glomeruloze nalaze se receptori za AngII (AT1R) nakon čije stimulacije započinje transkripcija enzima aldosteron sintetaze. Stimulativno na sekreciju aldosterona direktno i preko AT2R deluje i metabolit angIII. RAS ima značajnog efekta na sintezu aldosterona u uslovima potrebe za zajedničkom fiziološkom funkcijom (čine RAAS) u očuvanju homeostaze natrijuma, intravaskularnog volumena i krvnog pritiska. Potreba za ovakvom stimulacijom slabi kada je unos natrijuma povećan. Stimulus za produkciju renina u bubregu je sniženo dopremanje jona hlorida do guste mrlje (*macula densa*) jukstaglomerularnog aparata. Dopremanje hlora je sniženo pri padu sistemskog krvnog pritiska i posledičnog pada renovaskularnog pritiska i glomerulske filtracije. Produkcija aldosterona nije brza, te su mnoge popravke volumena i perfuzije vezane za brže efekte AngII (sistemska arterijska vazokonstrikcija, stimulacija vazopresina radi pospešivanja retencije vode, direktno zadržavanje natrijuma i vode u proksimalnom tubulu). Lokalni adrenalni RAS takođe ima modulatorni efekat na sekreciju aldosterona. (Te Riet L, 2015). Drugi stimulator transkripcije aldosteron sintetaze u ćelijama zone glomeruloze je povišen nivo kalijuma u plazmi. Uticaj ACTH je prisutan, ali nije od velikog značaja u uobičajenim uslovima kontrole aldosterona. Inhibitori sekrecije aldosterona su hipokalemija, prekomerni unos soli, dopamin i atrijalni natriureski faktor. Aldosteron deluje primarno na distalne tubule i sabirne kanaliće nefrona stimulišući reapsorpciju  $\text{Na}^+$ , a sekreciju  $\text{K}^+$  i  $\text{H}^+$ . Vezuje se za mineralokortikoidni (MK) nuklearni receptor i stimuliše ekspresiju više gena. Nakon transkripcije i translacije sintetišu se proteini koji modulišu aktivnost jonskih transportnih sistema na apikalnoj i bazolateralnoj membrani epitelijalnih ćelija, tako da favorizuju retenciju natrijuma. Na MK receptor deluje i mnogo dostupniji kortizol. Da ne bi došlo do prekomerne stimulacije renalnih MK receptora enzim 11beta-hidroksisteroid dehidrogenaza 2 ( $11\beta\text{-HSD2}$ ) konvertuje kortizol u neaktivni kortizon, bez afiniteta za MKR. Ova forma  $11\beta\text{-HSD}$  se nalazi u aldosteron senzitivnim tkivima kao što je bubreg, blizu MK receptora hormona imaju isti afinitet za mineralokortikoidne receptore, ali se glavni efekti ostvaruju vezivanjem aldosterona za receptore koji su u cirkulaciji u slobodnom obliku. Takođe, veliki afinitet, čak i veći od aldosterona za vezivanje za mineralokortikoidne receptore, ima kortizol koji, međutim, ne doprinosi mineralokortikoidnoj aktivnosti u ciljnim tkivima, zbog lokalne konverzije (preko 11-beta-hidroksi dehidrogenaze) u kortizon. Kortizol jedino može biti uzrok mineralokortikoidne hipertenzije kada postoji deficijencija ili inhibicija navedenog enzima. Osnovni fiziološki efekat mineralokortikoida je održavanje normalne koncentracije natrijuma i kalijuma i ekstracelularnog volumena. Vezivanje za steroidne receptore u citozolu sekretornih epitelijalnih ćelija (najvećim delom u tubulima bubrega) aldosteron dovodi najpre do pojačane aktivnosti Na-K ATP-azne pumpe i povećane retencije natrijuma, i posledično povećanja ekstracelularnog volumena, a potom i pojačane sekrecije kalijuma i vodonika. U slučaju mineralokortikoidnog ekscesa, dolazi do retencije natrijuma, povećanja ekstracelularnog volumena i kardijalnog volumena, što za posledicu ima hipertenziju. Nakon povećanja volumena dolazi do uspostavljanja novog ravnotežnog stanja (fenomen izmicanja), ali bez razvoja edema. Takođe, povećanje volumena, preko jukstaglomerularnog aparata i pojačanog fluksa natrijuma u makuli densi, rezultuje supresijom sekrecije renina. Sa druge strane, dolazi do pojačane ekskrecije kalijuma, hipokalijemije i razvoja metaboličke alkaloze zbog gubitka vodonika. Dominira periferna vaskularna rezistencija, delom kao posledica i pojačane senzitivnosti na kateholamine (bez povećanja nivoa kateholamina u plazmi).

#### 1.4. Renin-angiotenzin-aldosteronski sistem

Renin-angiotenzin-aldosteronski sistem (RAAS) se sastoji iz tri glavne komponente: renin, angiotenzin II i aldosteron. U fiziološkim uslovima ovaj sistem održava normalan nivo natrijuma u plazmi, arterijski krvni pritisak i volumen ekstracelularne tečnosti. Zbog tako važne uloge RAAS-a u očuvanju normalnog volumena i krvnog pritiska, poremećaj u sekreciji nekog od navedenih hormona dovodi do poremećaja rada celog sistema i razvoja patofizioloških promena. Kada postoji prekomerna aktivnost ovog sistema dolazi do pojave hipertenzije i nastanka kardiovaskularnih i bubrežnih bolesti. Mnogobrojni literaturni podaci potvrđuju da osim sistemskog, cirkulišućeg RAAS-a postoji i lokalni

/tkivni RAAS, posebno značajan u bubregu. On ima značajnu funkciju i u drugim organima vaskularni sistem, srce, mozak i nadbubrežne žlezde (Johnston CI, 1992). Značajno mesto tkivnom RAAS-u se daje i u nastanku hipertenzije, inflamacije, fibroze i ćelijske proliferacije, kao posledici disbalansa i prekomerne aktivnosti sistema (Patel S, 2017). Angiotenzin II nastaje u bubrezima uz pomoć višestrukih mehanizama. Nefron je mesto gde su prisutne komponente neophodne za stvaranje angiotenzina II. U zidovima aferentnih arteriola bubrega nalaze se jukstaglomerularne ćelije koje sadrže prorenin. Jukstaglomerularne ćelije bubrega reaguju na smanjeni volumen cirkulišuće tečnosti lučenjem renina u periferni krvotok. Renin deluje na angiotenzinogen ( $\alpha$ 2-globulin poreklom iz jetre) pri čemu nastaje dekaeptid angiotenzin I. Delovanjem enzima za konverziju (angiotenzin-konvertaza) plućnog porekla angiotenzin I se cepa u oktapeptid angiotenzin II. Angiotenzin II povećava reapsorpciju Na u proksimalnim tubulima bubrega i na taj način povećava osmolaritet krvi, dovodi do promene u volumenu krvi i ekstracelularnom prostoru i do porasta krvnog pritiska. Taj se snažan vazokonstriktor veže na adrenalne membranske receptore zone glomeruloze nakon čega kao drugi glasnici nastaju kalcijum i produkti fosfatidil-inozitola. Protein-kinaza C premešta se u plazmatsku membranu i aktivira. Zatim se pospešuju dezmolani i 18-metilkortikosteroid-oksidadni stadijum u sintezi aldosterona (Briet M, 2010). Vezivanjem aldosterona za mineralokortikoidni receptor dolazi do promene u transkripciji. Ako je RAS abnormalno aktivan, krvni pritisak će biti povišen. Delovanje angiotenzina II je brzo, za razliku od delovanja aldosterona koje može potrajati satima, čak i danima (Fountain JH, 2022). Već više od petnaest godina govori se o postojanju intracelularnog-intrakrinog RAAS-a, čije se komponente ne trebaju izlučivati u vanćelijski prostor da bi započele biološko delovanje (Engeli S, 2000). Glavni efektor aktiviranog RAAS je aldosteron, koji pokazuje važno endokrino delovanje u regulaciji količine tečnosti, natrijuma i kalijuma, a pre svega deluje na distalne tubule bubrega. Aldosteron ima genske i negenske učinke koje postiže preko mineralokortikoidnih receptora, AT1R, receptora povezanih s G-proteinom i receptora za epidermalni činioc rasta (Muller DN, 1997). Delovanjem na navedene receptore aktiviraju se različiti postreceptorski signalni putevi, kao što su MAPK (ERK1/2, p38), koji posreduju u vaskularnom remodeliranju, upali, fibrozi i tonusu krvnih sudova. Proizvodnja aldosterona pod regulacijom je angiotenzina II, angiotenzina III, hiperkalijemije, adrenokortikotropnog hormona (ACTH), te nivoa natrijuma. Ima slab učinak na negativnu povratnu spregu izlučivanja ACTH, dok gubitak lučenja ACTH smanjuje nivo aldosterona za 50%. Aldosteron povećava reapsorpciju vode i soli u bubrežnim kanalićima, a pospešuje izlučivanje kalijuma i vodonika. Deluje i na pljuvačne žlezde, znojne žlezde i na sluznicu digestivnog trakta, gde takođe povećava reapsorpciju natrijuma i vode (pasivno sledi natrijum) i sekreciju kalijuma. Aldosteron je najvažniji mineralokortikoid a glavna mu je uloga održavanje volumena vanćelijske tečnosti čuvanjem natrijuma. Vezivanjem aldosterona za mineralokortikoidni receptor dolazi do promene u transkripciji. Aldosteron u bubrezima dovodi do pojačane aktivnosti Na-K ATP-azne pumpe i povećane retencije natrijuma, što uzrokuje povećanje ekstracelularnog volumena. Sa druge strane dolazi do pojačane ekskrecije kalijuma i vodonika.





Slika2. (preuzeto i prilagođeno iz *Connell J. J. Endocrinol.*, 2005).

Učinci aldosterona:

- Delovanjem na glavne ćelije distalnog tubula i sabirnih cevi putem bazolateralne  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -pumpe reapsorbuje natrijum i vodu, a izlučuje kalijum
- Povećava propusnost apikalne ćelijske membrane preko ENaC (epitelni natrijumski kanali).
- Hlor se reapsorbuje pasivno zbog reapsorpcije natrijuma radi održavanja elektrohemijske ravnoteže.
- Delovanjem na umetnute ćelije dovodi do sekrecije  $\text{H}^+$  u zamenu za  $\text{Na}^+$ .

Klinička ispitivanja su pokazala da blokiranjem receptora aldosterona s antagonistima mineralokortikoidnih receptora, spironolakton ili eplerenon, dolazi do smanjenja krvnog pritiska, smanjuje se albuminurija i poboljšava ishod bolesnika sa insuficijencijom srca, infarktom miokarda ili kardiovaskularnim komplikacijama i šećernom bolesti (Rossi GP, Bernini G, 2006).

### 1.5. Klinička slika primarnog aldosteronizma

Na hiperaldosteronizam najčešće upućuju hipertenzija, hipokalemija, hipervolemija bez edema i metabolička alkalozna (Young WF, Klee GG., 1988). Dijagnoza PA je najčešća u pacijenata od treće do šeste decenije života. Nekoliko simptoma je specifično za ovaj sindrom i posledica su ćelijskog gubitka kalijuma: neuromuskularni simptomi (slabost, periodične paralize, grčevi), zamor, parestezije, poliurija i nokturija (zbog oštećenja tubula bubrega-nefrogeni dijabetes melitus), intolerancija glukoze ili dijabetes melitus (poremećaj sekrecije insulina), posturalna hipotenzija (poremećaj baroreceptora kod teških hipokaliemija). Biohemijske odlike PA su povišen ili normalan

serumski aldosteron uz niske ili suprimovane vrednosti renina i plazma reninske aktivnosti (PRA). Klinička slika aldosteronizma se najčešće, karakteriše rezistentnom arterijskom hipertenzijom i hipokalijemijom. Hipertenzija kod ovih bolesnika može biti umerena do izražena, često refraktarna na terapiju, dok je maligna hipertenzija retka. Hipokalijemija može biti demaskirana upotrebom diuretika. Prema podacima skorašnjih istraživanja veliki broj pacijenata sa primarnim aldosteronizmom mogu imati hipertenziju bez hipokalijemije. Rezultati studije Mosso i saradnika ukazuju da prevalenca PA raste sa težinom hipertenzije. Tačan procenat teških oblika hipertenzije među bolesnicima sa PA nije utvrđen. Prema literaturnim podacima mnoge sporadične forme malignih hipertenzija ukazuju na važnost ranog prepoznavanja PA. Dijastolna hipertenzija u pacijenata sa primarnim aldosteronizmom je češća i teža, dok je kod pacijenata sa BAH hipertenzija blažeg stepena. Analizirajući grupu od 553 pacijenta iz nemačkog Konovog registra, autori su pronašli da kod pacijenata sa hipokalijemijom koji imaju PA (56.1%), sistolni i dijastolni krvni pritisak su bili viši u odnosu na pacijente sa normokalijemijom. Za razliku od hipokalijemije, hipernatremija je retka i nastaje usled retencije natrijuma, poliurije i resetovanja osmosata. Povećava se ekstracelularni i kardijalni volumen, što za posledicu ima hipertenziju. Kada se poveća volumen za 1-2 l dolazi do uspostavljanja novog ravnotežnog stanja (fenomen izmicanja od aktivnosti aldosterona), ali bez razvoja edema. Hipernatremija nastaje kao posledica aktiviranja atrijalnog natriuretičkog peptida (Williams TA, 2018). Usled povećane količine aldosterona, dolazi do pojačane ekskrecije kalijuma, hipokalijemije i razvoja metaboličke alkaloze zbog gubitka vodonika, koja je bez značajnih posledica, uz blago povećanje serumskih bikarbonata. Povećana sekrecija aldosterona ima i druge nepoželjne efekte u bubregu kao favorizovanje zapaljenskog procesa, fibroze, proliferacije mezangijskih ćelija i oštećenje podocita uz nastanak proteinurije. Na srce deluje aritmogeno jer podstiče fibrozu miokarda koja omogućuje povoljne uslove za nastanak smetnji u sprovođenju i aritmija (Briet M, 2010). Obzirom da postoje podaci o direktnom delovanju aldosterona na srce, obično su prisutne EKG promene suspektne na hipertrofiju ventrikula ili hipokalijemiju. U PA češće postoje hipertrofija leve komore, oštećenje dijastolne i endotelne funkcije, zadebljanje intime karotidnih arterija, povećana albuminurija i snižena intrarenalna rezistencija nego u esencijalnoj hipertenziji sa istim nivoom povećanja krvnog pritiska. Hiperaldosteronizam je udružen sa većom učestalošću infarkta miokarda i moždanog udara (Born-Fronsberg E, 2009; Stier Jr CT, 2002)

Hipertenzija u zavisnosti od stepena težine se manifestuje glavoboljom i retinopatijom. Hipokalijemija doprinosi pojavi glavobolje, a daje i neuromuskularne simptome, nefrogeni dijabetes insipidus, srčane aritmije, palpitacije, mišićnu slabost, parestezije, grčeve, zamor, zatim nokturiju, poliuriju i polidipsiju bez edema. Kod teških hipokalijemija javlja se ortostatska hipotenzija zbog poremećaja funkcije baroreceptora. Postoje dokazi o povezanosti aldosteronizma i metaboličkog sindroma, odnosno hiperglikemije i insulinske rezistencije (Fallo F, 2012; Hanslik G, 2015).

Laboratorijska analize ukazuju na metaboličku alkalozu, hipovolemiju, hipokalijemiju i smanjenu sposobnost koncentracije urina.

## 1.6. Dijagnostika primarnog aldosteronizma

Nalaz spontane hipokalijemije u bolesnika sa hipertenzijom je najčešći razlog postavljanja sumnje da se radi o PA. Kao test za proveru sumnje na PA koristi se odnos aldosteron: PRA koji je ako je  $>30$  ng/dl: ng/ml/, ukazuje na mogući PA, a veći od 50 potvrđuje dijagnozu. Pri ovom testiranju osobe sa uočenim tumorom nadbubrega i hipokalemijom imaju veći rizik za PA (Ducher M, 2012). Savremene studije primenjuju odnos plazma aldosteron/plazma renin (ARR) kao skrining test sa visokom prevalencom (Stowasser M, 2003).

Kod opravdane sumnje na PA sprovode se dijagnostički testovi u koje spadaju: test opterećenja solju, kaptoprilski test, fludrokortizonski test i aldosteron u 24h urinu. Nijedan test nije zlatni standard za dijagnostiku PA, jer su im vrednosti za senzitivnost i specifičnost ispod 90%. Zbog toga su informacije dobijene poređenjem testova sa patohistološkim nalazom nakon operativnog lečenja od značaja za sagledavanje njihove pouzdanosti, kao i patofizioloških mehanizama koji utiču na nivo serumskog aldosterona u PA nakon supresije ili stimulacije njegove sekrecije. Mnogi faktori mogu da moduliraju odgovor aldosterona u testovima zbog čega je njihovo tumačenje otežano. Potencijalni uticaj lekova na RAS i aldosteron (RAAS) zahteva dvonedeljni prekid antihipertenzivne terapije, osim alfa blokera, verapamila i hidralazina. Zbog produženog efekta, spironolakton je potrebno isključiti 6 nedelja pre testiranja. Za vreme izvođenja testova pacijenti su na ishrani sa lako višim unosom soli, a serumski kalijum treba da bude normalan (Funder JW, 2016). Ovi uslovi preporučeni u vodičima za HT i PA su dosta zahtevni te se javljaju radovi koji se bave mogućim greškama u slučaju kada oni nisu ispunjeni. *Solar* i saradnici su, na primer, pokazali da pri opterećenju natrijumom u infuzionom testu nije bilo statistički značajne razlike u supresibilnosti aldosterona među pacijentima kod kojih su isključeni antihipertenzivni lekovi koji mogu da utiču na RAS i RAAS i onih koji su uzimali ove lekove, osim diuretika (Solar M, 2012).

Radi lakšeg dijagnostikovanja pacijenata sa PA u velikom broju hipertenzivnih osoba koristi se pristup sukcesivnih testova: detekcija, potvrda i klasifikacija podtipa PA. Detekcija obuhvata pretragu u grupama koje imaju visoku prevalencu PA, a prema preporukama vodiča ova ciljna grupa je široka. Testiraju se hipertenzivne osobe koje pokazuju neke prepoznatljive karakteristike hiperaldosteronizma, kao teži stepen hipertenzije i njena rezistencija na terapiju, prisustvo adrenalnih tumora ili hiperplazije, hipokalijemija, poznate komplikacije PA i udruženosti s drugim bolestima. Za detekciju mogućih slučajeva sa PA koristi se utvrđivanje aldosteron: PRA ili aldosteron: renin odnosa. Ovaj odnos nema veliku senzitivnost, specifičnost ni prediktivnu vrednost ( $<70\%$ ), te je potrebno ponoviti ga više puta, po mogućstvu u optimalnim uslovima za tumačenje nalaza. U prvom uzorkovanju najbitnije je da pacijent ne uzima spironolakton i diuretike 4 nedelje, a ukoliko je dobijeni odnos nekonkluzivan, pristupa se daljoj zameni antihipertenzivne terapije. Lekovi koji ne utiču značajno na izmereni aldosteron su verapamil, hidralazin i alfa adrenergički blokera (prazosin, doksazosin, terazosin). Uglavnom je za kontrolu hipertenzije potrebno uz verapamil do 240 mg dodati postepeno vazodilatatore. Ukoliko se spironolakton ne može isključiti, vrednosti aldosterona merene na ovom leku su korisne sve dok je PRA niska. Uticaj pojedinih lekova i stanja na aldosteron, renin /PRA i odnos aldosteron: PRA prikazan je u tabeli 2.

Najšire je prihvaćen kao sumnjiv na PA odnos aldosteron/PRA  $>30$  ng/dl: ng/ml/h i zahteva dalje testiranje, posebno ako je aldosteron u serumu  $>15$  ng/dl (Funder JW, 2016; Montori VM, 2002). Uzorci za aldosteron i PRA se uzimaju ujutru, nakon 2 sata hoda i 5-15 min sedenja.

Pokazalo se da odnos aldosteron/PRA ili aldosteron/renin (ARR) nema veliku senzitivnost, specifičnost, ni prediktivnu vrednost ( $<70\%$ ), pa se zbog toga savetuje njegovo višestruko određivanje. Prema preporukama Kliničkog vodiča za otkrivanje, dijagnostiku i lečenje primarnog aldosteronizma pre određivanja ovog odnosa potrebno je da pacijenti imaju normalan serumski kalijum i da ne budu na smanjenom unosu soli, jer bi se u suprotnom mogli očekivati nepouzdana rezultata. U mnogim slučajevima ovaj odnos ne može biti sa sigurnošću intepretiran zbog korišćenja lekova ili zbog nekih drugih suboptimalnih uslova testiranja, te ih treba izbegavati i/ili pacijenta uputiti direktno na testove za potvrdu PA. Faktori koji mogu da utiču na interpretaciju rezultata su: godine, pol, doba dana, lekovi, nivo kalijuma i kreatinina. Restrikcija unosa soli dovodi do značajnog oslobađanja aldosterona i renina, smanjenja ARR i lažno negativnih rezultata. Hipokalijemija utiče

na smanjenje aldosterona što može da bude razlog za veći broj lažno negativnih rezultata. Zbog niskog renina u starijih bolesnika (>65 godina) postoji mogućnost dobijanja lažno pozitivnih ARR, kao i kod bolesnika sa HBI (hronična bubrežnom insuficijencija) zbog visoke vrednosti kreatinina i u žena tokom lutealne faze menstrualnog ciklusa.

Ukoliko je povišen odnos aldosteron/PRA sprovodi se dalje testiranje koje treba da potvrdi prisustvo prekomerne autonomne sekrecije aldosterona (PA) ili samo neadekvano viši odnos uz očuvanu kontrolu produkcije aldosterona. Za potvrdu ili isključivanje dijagnoze PA se koristi jedan ili više standardizovanih testova (Mulatero P, 2006 i 2010). U slučaju spontane hipokalemije, suprimovane PRA (plazma renina) ispod merljivih vrednosti i jasno povišenog aldosterona u plazmi, više od 20 ng/dl (550 pmol/L), neki autori smatraju da dalje testiranje uglavnom nije neophodno za potvrdu dijagnoze. Navedene vrednosti su uglavnom gornja granica normalnog za pribore koje su autori koristili, dok se u našem centru koriste pribori čija je gornja granica za normalni posturalni nivo aldosterona oko 60 ng/dl, mereno RIA metodom.

Pre sprovođenja dijagnostičkih testova potrebno je da se zna na kojoj terapiji su pacijenti. Pojedine grupe lekova mogu na različite načine da utiču na sistem renin-angiotenzin-aldosteron, kao što su: antihipertenzivni lekovi, naročito mineralokortikoidni antagonisti (MRA), beta blokatori i centralni alfa agonisti (klonidin, metil-dopa) povećavaju mogućnost lažno pozitivnih rezultata, ACE inhibitori, diuretici koji troše kalijum (amilorid i triamteren) blokatori angiotenzinskih receptora i blokatori kalcijumskih kanala daju mogućnost lažno negativnih rezultata. Od ostalih lekova treba pomenuti antidepresive, nesteroidne antiinflamatorne lekove i preparate estrogena (oralni kontraceptivi, hormonska supstituciona terapija). Ovo saznanje zahteva potrebu njihovog izostavljanja pre i za vreme izvođenja dijagnostičkih testova. Stepent hipertenzije, često nameće upotrebu antihipertenzivnih lekova, a njihovo ukidanje je jedino moguće kod blagih oblika hipertenzije. Pojedine antihipertenzivne lekova potrebno je obustaviti dve do četiri nedelje („period ispiranja“), odnosno četiri do šest nedelja u slučaju spironalaktona, eplerenona i diuretika koji štede kalijum (Stowasser M, 2012). Lekovi koji ne utiču značajno na ARR su verapamil, hidralazin i alfa adrenergički blokeri (prazosin, doksazosin, terazosin) i hidralazin. Prema nekim istraživanjima moguća je primena fosinopriila. Nesteroidni antireumatici povećavaju vrednost ARR i broj lažno pozitivnih slučajeva PA. Inhibitori renina i oralnih kontraceptiva utiču na povećanje koncentracija renina (DRC) u plazmi ili PRA. Kada su koncentracije estrogena najviše, tokom lutealne faze, uočeno je da komponente sistema renin angiotenzin tada imaju najveće nivoe, a takođe na vrednosti aldosterona i renina imaju uticaja i bubrežna insuficijencija, renovaskularna hipertenzija, dijabetes i trudnoća (Stowasser M, 2012).

U mnogim studijama, serumski aldosteron se izražava u ng/dl i PRA u ng/ml na sat, tako da  $ARR > 20$  je suspektan na PA (95% senzitivnost i 75% specifičnost. Ukoliko je  $ARR > 30$ , kada je aldosteron  $>15\text{ng/dl}$  ( $555\text{pmol/L}$ ) ima senzitivnost 90% i specifičnost 91% za dijagnozu PA, a odnos veći od 50 potvrđuje dijagnozu. Veća učestaoost lažno pozitivnih i lažno negativnih rezultata je u opsegu 25-35 koji se naziva „siva zona“. Postoje predlozi da vrednosti od 20-100 budu referentne vrednosti, dok prema drugim autorima opseg vrednosti bi trebao da bude od 20 do 40. Pored povećanih vrednosti ARR, trebalo bi da budu povećane i vrednosti aldosterona (Papadopoulos-Marketou N, 2020).

Ne postoji usaglašenost oko dijagnostičkih protokola za merenje aldosterona i PRA, te postoji i varijabilnost referentnih vrednosti za ARR. Tri ponovljena povišena rezultata ARR zahtevaju primenu dijagnostičkih testova za potvrdu dijagnoze primarnog aldosteronizma.

**Tabela II - Lekovi i stanja koja utiču na aldosteron, renin (PRA) i odnos aldosteron/PRA (Preuzeto iz Ćirić J, 2019)**

Lekovi	aldo		PRA ili renin		Aldo : PRA Aldo : renin	
	podize	smanjuje	podize	smanjuje	podize	smanjuje
Ca <sup>2+</sup> blokera DHP tipa		+ / neutralno	+			+ LN
ACE inhibitori		+	++			+ LN
ARB		+	++			+ LN
Inhibitori renina		+	+	+	+ LP	+ LN
Diuretici koji ne štede K <sup>+</sup>	+ / neutralno		++			+ LN
Diuretici koji štede K <sup>+</sup>	+		++			+ LN
β-adrenergički blokera		+		++	+ LP	
Centralni agonisti (klonidin, metildopa)		+		++	+ LP	
NSAID		+		++	+ LP	
Hipokalemija		+	+ / neutralno			+ LN
Hiperkalemija	+			+ / neutralno	+	
Opterećenje Na		+		++	+ LP	
Restrikcija Na	+		++		+	LN
Renovaskularna HT	+		++			+ LN
Maligna HT	+		++			+ LN
Renalna insuficijencija	neutralno			+	+ LP	
Starenje		+		++	+ LP	
Trudnoća	+		++			+ LN
Lutealna faza	++		+		+ LP	
Spironolakton	+		+		+ LP	

LP - lažno pozitivno; LN - lažno negativno

### **1.6.1. Testovi za potvrdu primarnog aldosteronizma**

Tri ponovljena povišena rezultata ARR zahtevaju dalju potvrdu ili isključivanje autonomne sekrecije aldosterona primenom jednog od četiri testa: oralno opterećenje solju, akutna intravaskularna ekspanzija volumena izotoničnim slanim rastvorom, kaptoprilski i fludrokortizonski test (Mullatero P, 2010; Nanba K., 2012).

U Kliničkom vodiču Endokrinološkog društva za otkrivanje, dijagnostiku i tretman primarnog aldosteronizma preporučuju se sledeći testovi za potvrdu dijagnoze primarnog aldosteronizma (Funder JW, 2008):

### **1.6.2. Parenteralno opterećenje solju (infuzioni test fiziološkim rastvorom)**

Pacijent se pripremi da će provesti 4 sata tokom testa i minimum 1 sat pre testa u mirnom, ravnom položaju ležeći. Tokom testa se aplikuje 2 litara 0.9% slanog rastvora i.v. tokom 4 h, počev od 8-9.30 ujutru. Uzorci krvi se uzimaju 0, 60, 120 i 240 minuta za određivanje PRA (renin), aldosterona i kortizola. Adekvatnost serumskog kalijuma (normalan, najbolje oko 4 mmol/L) se proverava na početku i na kraju testa. Imajući u vidu da hipokalemija dovodi do smanjenja aldosterona neophodno je korigovati hipokalemiju. Tokom testa prati se krvni pritisak i frekvencija zbog većeg i brzog opterećenja volumena. Radi povećanja senzitivnosti testa, neki autori nalaze da prethodno angažovanje RAAS hodanjem pre ležanja ili sedenjem tokom testa i bar 30 minuta ranije.

Test je dosta bezbedan i pored direktnog intravaskularnog opterećenja. Ipak, preporuke su da se test ne izvodi ako pacijent ima izraženu i nekontrolisanu hipertenziju, renalnu insuficijenciju, srčanu aritmiju ili insuficijenciju, i nekorektibilnu izraženu hipokalijemiju. Obzirom da je ovo ključan test za biohemijsku potvrdu PA, neophodno je rano pristupanje dijagnostici pre pojave ovakvih komplikacija.

Aldosteron u 240. minutu  $<5$  ng/dl (140 pmol/L) isključuje PA u velikoj meri. Ima autora koji kao prosečne koriste i nešto niže vrednosti, te je uvek poželjno imati i sopstvenu procenu testa prema korišćenom priboru za aldosteron. Aldosteron  $>10$  ng/dl (280 nmol/L) ukazuje na vrlo verovatan PA. U intermedijarnoj zoni 5 -10 ng/dl test nije sasvim pouzdan za diferenciranje. Test se može ponoviti tokom daljeg praćenja pacijenta ako ni drugi testovi nisu konkluzivni. Postoji predlog da vrednost 6.8 ng/dl (190 pmol/L) bude presečna za dijagnozu, zbog dobrog odnosa senzitivnosti i specifičnosti. Tumačenje testa u sedećem položaju podrazumeva niži prag za aldosteron,  $>6$  ng/dl (170 pmol/L), mada se uzima u obzir i kortizol koji treba da opada u odnosu na baznu jutarnju vrednost.

### **1.6.3. Oralno opterećenje solju**

Pacijent uzima so  $>200$  mmol (oko 6 g)/d tri dana. Adekvatnost unosa se proverava merenjem 24h ekskrecije natrijuma urinom. Povećan unos soli može dodatno smanjiti serumski kalijum pa ga treba kontrolisati merenjem i koristiti sporo-oslobađajuće formulacije kalijum hlorida. Test je standardizovan na određivanje aldosterona u 24h urinu tokom trećeg dana. Oni koji koriste isključivo određivanje serumskog aldosterone, za tumačenje odgovora uglavnom uzimaju kao presečne vrednosti paralelne infuzionom testu. Urinarni aldosteron meren RIA metodom je manje pouzdan nego HPLC metodom. Kontraindikacije i mere opreza: su iste kao za infuzioni test.

PA nije verovatan ako je urinarni aldosteron  $<10$  mcg/24 h (28 nmol/d). Bubrežna bolest može uticati na ekskreciju aldosterona čineći je lažno nižom. Vrednost  $>12$  mcg/24 h ( $>33$  nmol/d) ili  $>14$  mcg/24 h (39 nmol/d) prema različitim izvorima, je vrlo verovatni PA.

#### 1.6.4.Kaptoprilski test

Pacijent treba da je bar 1 sat u uspravnom položaju koji angažuje RAAS i sedi tokom testa. Koriste se tablete u dozi 25–50 mg, izbor se može napraviti prema visini krvnog pritiska i iskustvu. Uzorci krvi se uzimaju na početku i nakon 1 ili 2 sata za merenje PRA, aldosterona i kortizola.

Test nema veliku pouzdanost, ima dosta lažno negativnih ili nekonkluzivnih odgovora. Koristi se kao dodatni test kome je prednost lako izvođenje i nikakve posebne kontraindikacije.

Normalan odgovor je pad aldosterona za >30% i porast PRA. U PA nema pada aldosterona i može izostati porast suprimirane PRA. Odgovor je ubedljiviji u APA, a u BAH se češće mogu videti granični odgovori.

#### 1.6.5.Fludrokortizonski test

Fludrokortizon acetat tablete se daju na 6 sati po 0.1 mg tokom 4 dana (04.00/10.00/16.00/22.00 h). Uz obroke u kojima je unos soli slobodan dodaje se i 3x20-30mg NaCl (poželjno u tabletama sporooslobađajućeg NaCl<sub>a</sub>). Natriureza je adekvatna ako je postignuta ekskrecija 3 mmol/kg težine. Takođe se na 6h uz fludrokortizon dodaje i KCl (poželjno u tabletama sporooslobađajućeg KCl<sub>a</sub>) koliko je potrebno da se održi normokalemija. Radi lakše procene, kalijum u serumu se određuje u 08.00, 10.00, 15.00 i 19.00 h. Aldosteron i PRA se mere u serumu u sedećem položaju pre testa, trećeg i četvrtog dana testa u 10h. Kortizol se meri pre podne u 7h i 10h.

Test je dosta komplikovan i obično se obavlja u bolnici da bi se obezbedilo pravilno izvođenje i sprečili neželjeni efekti. Test se smatra pouzdanim, čak najsenzitivnijim u potvrđivanju PA. Obezbeđuje stabilnu, manje invazivnu ekspanziju volumena koja u svim drugim stanjima osim PA dovodi do potpune supresije renina i aldosterona. Bezbedan je i izvodi se u vrlo kontrolisanim uslovima. Kao i kod prethodnih testova baziranih na efektu povećanja volumena, kontraindikacije za izvođenje su značajna HTA, srčana i bubrežna insuficijencija.

Posturalni aldosteron >6 ng/dL (170 nmol/L) 4. dana testa potvrđuje izostanak supresije u PA. PRA treba da je <1 ng/mL/h, a kortizol niži nego vrednosti izmerene u 7h ujutru (isključivanje mogućeg uticaja ACTH na nivo aldosterona).

#### **Ostali testovi koji se koriste za dijagnostiku i detekciju PA su:**

- Posturalni odgovor aldosterona i PRA: zdrave osobe i bolesnici sa esecijalnom hipertenzijom imaju posturalni porast plazma aldosterona od najmanje 50% u odnosu na početni.
- Deksametazonski supresoni test: njime se isključuje aldosteronizam supresibilan glukokortikoidima.
- Kod ranog nastanka, pre 20. godine života, potvrđenog PA ili sa porodičnom istorijom za PA i/ili moždane udare u ranim godinama života, preporučuje se genetsko testiranje na GKA.

Kada je biohemijska dijagnoza PA potvrđena, neophodno je dalje ispitivanje u cilju otkrivanja etiologije ovog poremećaja. U utvrđivanju etiologije značajno mesto imaju radiološka ispitivanja i vizuelizacione metode.

## 1.7. Diferencijalna dijagnostika primarnog aldosteronizma - metode za utvrđivanje podtipova

Nakon biohemijske potvrde PA, neophodno je lokalizovati izvor hipersekrecije, odnosno odrediti podtip PA i samim tim izbor optimalnog lečenja. Unilateralne promene se leče operativno a bilateralne medikamentno.

Za lokalizaciju strukturnih promena na nadbubrezima koriste se kompjuterizovana tomografija (CT) i magnetna rezonanca (MR), adrenokortikalna scintigrafija, ali za dokazivanje sekretorne aktivnosti uočene promene savetuje se adrenenalna venska kateterizacija sa uzimanjem uzoraka aldosterona (AVS). (Rossi GP, 2014). Ova metoda zahteva rad iskusnog interventnog radiologa, zbog čega se u mnogim centrima sprovodi ograničeno. U studiji *Marlies* i saradnika pokazano je da postoje neslaganja u 37.8% slučajeva kada se koristi samo CT za lateralizaciju PA u odnosu na potvrdu "zlatnim standardom" AVS-om (Rossi GP, 2001; Young WF, 2004). U 14.6% se može učiniti nepotrebna adrenalektomija korišćenjem samo CT pregleda, u 19.1% bi se uskratila operacija, a u 3.9% bi se operisala pogrešna strana (Kempers MJ, 2009). Operativno se leče unilateralna hiperplazija, adenomi i karcinomi sporadični ili familijarni, dok se bilateralna IHA leči medikamentno. Dakle, adekvatna dijagnoza i diferencijalna dijagnoza su neophodne u cilju koristi od pravilnog izbora lečenja, hiruškog ili medikamentnog. Sa druge strane, podaci dobijeni nakon operativnog lečenja unilateralnog PA daju mogućnost boljeg sagledavanja ovog složenog poremećaja sa ozbiljnim posledicama za koje za sada ne postoji optimalna klinička dijagnostika (Kuo LE, 2015).

Multislajsna kompjuterizovana tomografija (CT) sa serijskim presecima na 3mm, omogućava prepoznavanje tumora u nadbubregu veličine svega 5mm. Solitarni hipodenzni adrenalni nodusi, su obično manji od 2 cm i upućuju na dijagnozu APA (Doppman JL, 1992). Magnetna rezonanca nadbubrega nema dodatnih prednosti u dijagnostici PA. Adrenokortikalna scintigrafija se može koristiti za diferenciranje APA od IHA, međutim nema veliku senzitivnost.

Najsnezitivnija metoda za dijagnostikovanje APA ili IHA je uzorkovanje adrenalnih vena-AVS (adrenalno vensko semplovanje) i primenjuje se gde biohemijska i radiološka ispitivanja nisu donela konkluzivne rezultate. Koristi se za: a) lateralizaciju hipersekrecije aldosterona i b) diferentovanje unilateralne od bilateralne varijante PA.

Uzorc se uzimaju simultano iz leve i desne adrenalne vene. Da bi se povećala senzitivnost metode određuju se i vrednosti kortizola, čime se potvrđuje ulazak u obe adrenalne vene. Odnos kortizol korigovanog aldosterona, između dve strane, za vreme kontinuirane ACTH stimulacije, koji je veći od 4:1 ukazuje na unilateralni eksces aldosterona, dok odnos manji od 3:1 odgovara bilateralnoj hiperplaziji (senzitivnost 95% i specifičnost 100% u dijagnostici unilateralnog ekscesa aldosterona). Odnos 2:1 bez ACTH stimulacije ukazuje na dijagnozu unilateralnog ekscesa aldosterona.

### 1.7.1. Kompjuterizovana tomografija

U svrhu lateralizacije promene, najbolje početno ispitivanje je adrenalna kompjuterizovana tomografija (CT). Bilo da se koristi spiralni CT ili multislajсни CT, poželjni su preseki na 3mm. Tumori koji se nalaze u PA su obično <2 cm, solitarni hipodenzni nodusi. Tumor >4 cm može odgovarati adrenokortikalnom karcinomu. Tumori mešane sekrecije, kortizol produkujući APA, su takođe veći u prečniku, slično adrenalnom *Cushing-ovom* sindromu. Benigni adrenalni tumori sadrže dosta masti, niskog su radiodenziteta na *Hounsfield* skali (<10 HU) na CT skenu. Takođe imaju >50% ispiranja kontrasta nakon 10-15 minuta. Međutim, u PA se mogu videti nodozne promene na obe nadbubrežne žlezde ili ni u jednoj. Samo prisustvo tumora takođe ne znači da je promena izvor prekomerne aldosteronske sekrecije. Zbog učestalog javljanja nefunkcionalnih tumora u nadbubrezima nakon 45. godine, incidentaloma, može doći do ozbiljnih grešaka zbog neslaganja radiološkog i funkcionalnog ispitivanja. Jedna od studija koja se time bavila pokazala je da su neslaganja CT nalaza i nalaza dobijenog adrenalnim venskim semplovanjem (AVS) čak 37.8%.



Takođe, u 14.6% slučajeva bi se uradila nepotrebna adrenalektomija, u 19.1% bi se uskratila operacija i u 3.9% bi se operisala pogrešna strana. Nefunkcioni incidentalomi mogu postojati sa iste ili kontralateralne strane APA ili u kombinaciji sa BAH. Veoma su retki bilateralni aldosteronomi. Adrenalni CT dakle, ima za cilj da olakša dijagnostiku, hirušku intervenciju i lateralizaciju hipersekrecije interventnom radiologu pre AVS.

### 1.7.2. Adrenalno vensko semplovanje

Obzirom na veliku zahtevnost AVS koju mnogi centri za hipertenziju ne mogu adekvatno da isprate, postoje u literaturi iskustvene preporuke kako u nekim situacijama laboratorijske analize mogu koristiti u diferencijaciji podtipova PA. One su bazirane na velikoj učestalosti pojedinih karakteristika PA da se jave u APA, a skoro nikada u BAH. U prilog APA govori izražena hipokalijemija ( $<3.0$  mmol/L), kod osoba mlađih od 50 godina, sa visokim aldosteronom u serumu ( $>25$  ng/dl) i visokom urinarnom ekskrecijom aldosterona ( $>30$   $\mu$ g/24hr). Vrednosti koje su date u literaturi odgovaraju priborima za merenje aldosterona koje autori koriste, te svako precizno postavljanje takvih prosečnih vrednosti zahteva da svaka laboratorija i centar urade svoja istraživanja. Generalno se uvek radi o vrednostima koje su u gornjim opsezima normalnog i povišene. Vrednosti kalemije  $<3.5$  mmol/L uz eGFR  $>100$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup> takođe ukazuju na APA, kao i kalemija  $<3.0$  mmol/L uz kaliuriju  $>30$  mmol/24h. Preporuke vodiča za dijagnostikovanje PA su da se AVS obavlja samo kada pacijent želi da se leči operativno i to je izvodljivo. AVS izvodi iskusan interventni radiolog radi potvrde sekretorne aktivnosti viđenog tumora. (Young WF, 1996; Riester A, 2014).

Najveća mogućnost podudaranja da je APA opisana unilateralna promena u korteksu adrenalne žlezde, benignih CT karakteristika je kod mladih ( $<35$  godina) sa spontanom hipoklemijom i značajno povišenim aldosteronom. U tom slučaju nije neophodno obaviti AVS pre unilateralne adrenalektomije (Lim V, 2014; Zarnegar R, 2008).

AVS se smatra najpouzdanijom tehnikom lokalizacije uzroka PA koja omogućava razlikovanje unilateralne od bilateralne sekrecije aldosterona (Young WF, 2004; Nwariaku FE, 2006). AVS se kao invazivna metoda dijagnostike primenjuje kod osoba sa biohemijski dokazanim PA koji žele i mogu da se leče operativno. Analizira se krv uzorkovana u desnoj i levoj adrenalnoj veni i u veni kavi inferior (VCI). Iz uzetog uzorka se određuje kortizol da bi se potvrdio pristup adrenalnim venama i aldosteron da bi se utvrdilo postojanje gradijenta koji sugeriše hiperfunkcionu stranu. Kortizol koji označava uspešan pristup u obe adrenalne vene treba da bude tri puta viši nego na periferiji (VCI). Potvrda unilateralnog PA je prisustvo 4 puta većeg odnosa kortizol: aldosterone (K:A) na strani sekretorne promene. Specifičnost AVS je 100%, a senzitivnost 95%. Tehničko izvođenje AVS nije jednostavno jer se radi o malim krvnim sudovima. Ulaz u levu adrenalnu venu preko leve renalne vene je lakši, a ulaz u desnu adrenalnu venu je manje pristupačan iz VCI. Za uspešno izvođenje AVS neophodan je iskusan interventni radiolog posvećen ovoj metodi. AVS se može izvoditi uz primenu sintetskog ACTH datog u bolusu ili kontinuirano. Svrha primene je dvostruka. Stimulišući kortizol, ACTH smanjuje mogućnost njegovih spontanijih variranja usled stresa i pogrešnog tumačenja da li se pristupilo adrenalnim venama. To je posebno značajno kada se pristupanje obavlja sukcesivno a ne istovremeno. ACTH može da smanji i fluktuacije aldosterona tokom procedure i maksimizuje sekreciju iz APA. Za razliku od BAH, tumorska sekrecija aldosterona je sklona porastu na ACTH stimulus. Kontinuirano davanje ACTH je tehnički zahtevnije, ali omogućava stabilniji tok stimulacije u slučaju produžavanja procedure iz tehničkih razloga. Postoje i suprotni stavovi, da ACTH primena ne poboljšava pouzdanost AVS. Tumačenje ovog stava je da stimulacija može dovesti do porasta sekrecije aldosterona u većoj meri iz kontralateralne žlezde nego iz samog tumora, i time smanjiti gradijent aldosterona ispod kritičnog za tumačenje. Dakle, ACTH stimulacija može maksimalno povećati kortizol u adrenalnim venama i poboljšati "indeks selektivnosti", procenu adekvatnosti pozicije katetera. "Indeks lateralizacije" je gradijent odnosa K : A između desne i leve adrenalne vene. Uticaj ACTH na ovaj indeks nije značajan, a može biti nepovoljan čineći da se unilateralni slučajevi (APA) prikazuju kao bilateralni.

## **1.8. Testiranje familijarnih formi primarnog aldosteronizma**

Kod osoba sa potvrđenim PA koje su mlađe od 20 godina ili imaju porodičnu anamnezu PA ili CVI sa <40 godina potrebno je genetsko testiranje za FH-I odnosno glukokortikoidima izlečiv aldosteronizam. Takođe, kod dece sa PA je potrebno testiranje na germinativnu mutaciju u KCJ5 koja dovodi do FH-III (So A, 2005; Boulkroun S, 2012).

### **1.8.1. Familijarni hiperaldosteronizam tip 1 (FH-I) ili aldosteronizam izlečiv glukokortikoidima**

Nasleđuje se autozomno dominantno sa učestalošću oko 1%. Mutacija predstavlja formiranje hibridnog gena, nosioca genetskog materijala dva blisko locirana gena koji kodiraju završne etape produkcije aldosterona i kortizola. Fuzija promoterskog regiona gena za CYP11B1 i kodirajuće sekvence CYP11B2 rezultira u prisustvu CYP11B1/CYP11B2 gena. Ono dovodi do ektopične ekspresije sinteze aldosterona u zoni fascikulati pod kontrolom ACTH i povećane produkcije aldosterona i hibridnih steroida, 18-oksokortizola i 18-OH-kortizola. Klinička prezentacija može biti od slabo uočljive do izražene. Kod izražene u dijagnostici su od značaja anamneza (rana pojava izražene i refraktorne hipertenzije) i porodična anamneza rane hipertenzije i često fatalnih CVI. Genetskim testiranjem u DNA leukocita periferne krvi može se naći himerični gen metodom Southern blot ili PCR tehnikom. Indirektno dokazivanje FH-I je na osnovu kliničkog i hormonskog odgovora na deksametazonsku supresiju ili merenjem urinarnih hibridnih steroida, što nije uvek pouzdan način. Kao i druge familijarne forme kandidati za testiranje su osobe sa PA mlađe od 20 godina ili sa porodičnim pojavljivanjem PA ili ranih CVI.

Deksametazonski supresioni test se izvodi davanjem deksametazona 0.5 mg na 6 sati (04.00/10.00/16.00/22.00h) tokom 4 dana, na normalnom unosu soli. Normokalemija se održava davanjem KCl na osnovu izmerenih vrednosti u serumu u 8 i 10h. Uzorci za određivanje aldosterona i PRA u miru i naporu (8 i 10h) se uzimaju pre testa i 3. i 4. dana testa. Kod osoba sa FH-I aldosteron je i posturalno nemerljiv 3. i 4. dana. Da bi se izbegao tranzitorni supresorni efekat deksametazona i na zdrave osobe, neophodno je da se uzorci uzimaju tek nakon 48h trajanja testa. Produženo davanje deksametazona čak i u manjim dozama koriguje HTA i hipokalemiju održavajući niske vrednosti serumskog aldosterona.

### **1.8.2. Familijarni hiperaldosteronizam tip 2 (FH-II)**

Nasleđuje se autozomno dominantno sa verovatnom učestalošću oko 6%. Klinički je to PA sa familijarnom distribucijom kao APA, BAH ili oba. Uzrok FH-II nije sasvim jasan, verovatno je kompleksan jer pokazuje genetsku heterogenost. Moguća je veza sa 7p22 hromozomskim regionom, a kod nekih osoba klinički svrstanih u FH-II nađena je KCJ mutacija.

### **1.8.3. Familijarni hiperaldosteronizam tip 3 (FH-III)**

Opisano je više porodica sa ovom uglavnom veoma teškom formom PA koja se javlja u ranom detinjstvu i zahteva lečenje bilateralnom adrenalektomijom. Uzrok je mutacija KCW5 gena koji kodira kalijumski kanal Kir3,4. Mutacija menja selektivnost ovih kanala da postanu propusni i za natrijum koji ulazeći u ćeliju dovodi do depolarizacije. Taj proces otvara naponom kontrolisane kalcijumske kanale, povećava se ulazak kalcijuma i signalizacija za produkciju aldosterona i proliferaciju ćelija zone glomeruloze.

### **1.8.4. Genetske promene u sporadičnom aldosteron produkujućem adenomu**

Do sada je uočeno postojanje četiri somatske mutacije u ključnim proteinima ćelija zone glomeruloze u APA. One menjaju funkciju kalijumskih i kalcijumskih kanala i jonskih pumpi na način koji favorizuje hiperprodukciju aldosterona. Postoje prepoznatljiva grupisanja u kliničkoj i biohemijskoj prezentaciji APA u odnosu na genotip, ali bez dovoljnog značaja da bi se rutinski određivala vrsta mutacije (Boukroun S, 2012)

### **KCJ5 gen**

Ovaj gen kodira  $K^+$ -kanal preko koga se u toku ćelijskog mirovanja izbacuje kalijum iz ćelije i postoji hiperpolarizacija membranskog potencijala ćelije. Time se inhibiraju naponom kontrolisani kalcijumski kanali i sprečava ulazak kalcijuma u ćeliju (Slika 1). Tokom stimulacije angiotenzinom II preko receptora AT1 dolazi do depolarizacije ćelije u kojoj se  $K^+$ -kanal zatvara za izlazak kalijuma, a ulazi natrijum i posledično kalcijum. Time se aktivira kalcijum-signalni put za porast ekspresije aldosteron sintetaze i produkcija aldosterona. KCJ5 mutacija menja selektivnost  $K^+$ -kanala koji pušta natrijum u ćeliju, depolarizuje je i bez angažovanja AT1R i pokreće sintezu aldosterona.

Ova mutacija je prisutna u 10-68% APA, uglavnom se viđa kod žena i mladih. PA je izražen, a tumor veliki. Nema razlike u stepenu hipertenzije, ni hipokalemije u odnosu na one bez mutacije.

### **ATP1A1 i ATP2B3 geni**

Ove mutacije su vezane za gubitak pumpne aktivnosti. Značajna redukcija afiniteta pumpe prema jonu kalijuma i natrijuma dovodi do porasta ćelijskog natrijuma (ATP1A1). Slično je sa mutacijom ATP2B3 gena koja smanjuje pumpnu aktivnost  $Ca^{2+}$ /ATP-aze i dovodi do zadržavanja kalcijuma u ćeliji ATP1A1 mutacija je prisutna u 5.2%, a ATP2B3 u 1.6% APA slučajeva.

### **CACNA1D gen**

Ova mutacija olakšava ulaz kalcijuma u ćeliju preko naponom kontrolisanih kalcijumskih kanala Cav1.3. Učestalost je 5-11%.

## **1.9. TERAPIJA PRIMARNOG ALDOSTERONIZMA**

Terapijski izbor kod bolesnika sa adenomom je totalna adrenalektomija na strani tumora (Muth A, 2015). Dobar prediktor uspeha hirurškog lečenja je dobar terapijski odgovor na preoperativnu pripremu spironolaktone tokom najmanje dve nedelje. Indikacija za operativno lečenje: tumori koji prekomerno sekretuju aldosteron (adenom, karcinom) i PA zbog unilateralne hiperplazije koja je dokazana AVS metodom. Hirurško lečenje najefikasnije kontroliše hipertenziju i hipokalemiju u APA. Step en redukcije hipertenzije nakon adrenalektomije zavisi od dužine trajanja PA, preoperativnog stepena hipertenzije i nastalih oštećenja organa (Espiner EA, 2003).

Kod pacijenata sa IHA predlaže se medikamentno lečenje, koje se može dugotrajno primeniti i u operabilnom PA (Young WF, 2016). Indikacija za medikamentno lečenje: bilateralna adrenalna hiperplazija. Bilateralna adrenalektomija je agresivna metoda, a ne donosi bolju korekciju HT nego medikamentna terapija, osim u FH-III. Specifično medikamentno lečenje je antagonistima mineralokortikoidnih (MK) receptora, spironolaktonom, ili kao druga linija eplerenonom. Retka FH-1 se leči glukokortikoidima (Arlt W, 2017).

Spironolakton se koristi 50 godina (Ghose RP, 1999; Fourkiotis V, 2013). To je sintetički steroid koji blokira dejstvo hormona aldosterona na nivou bubrega, usled čega dolazi do povećanog izbacivanja vode i soli (natrijuma), zadržavanja kalijuma i smanjenja krvnog pritiska. Daje se startno 12.5-25 mg, sa postepenim povećanjem do maksimum 100 mg jednom dnevno. Ranije se davao u velikim dozama do 400 mg, a poslednjih 20-ak godina se koriste najmanje doze koje normalizuju kalijum u serumu i kontrolišu krvni pritisak uz druge antihipertenzive. Kod pacijenata sa brzinom

glomerulske filtracije (GFR) manjom od 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>, spironolakton i eplerenon se daju oprezno zbog moguće hiperkalemije i pogoršanja GFR, dok se kod IV stadijuma bubrežne insuficijencije sasvim izbegava. Amilorid je poznat kao lek koji štedi kalijum i snižava krvni pritisak, bez neželjenih efekata kao spirinolakton. Neželjena dejstva spironolaktona su ginekomastija, smanjenje libida, mišićna slabost, poremećaj menstrualnog ciklusa i gubitak aksilarne maljavosti.

Eplerenon se koristi kod osoba koje razviju ginekomastiju kao neželjeni efekat spironolaktona. Ovaj lek novije generacije ima selektivni efekat na steroidni receptor, ne blokira dejstvo testosterona, ali je skuplji i manje efikasan. Startna doza je 25 mg dva puta dnevno. U jednoj maloj studiji kod pacijenata sa bilateralnom IHA eplerenon dat u dozi od 50-400 mg dnevno pokazuje isti efekat kao i spironolakton. Ima minimalni afinitet za androgene, estrogene i progesteronske receptore i ne dovodi do značajnih androgenih efekata kao što je ginekomastija koja se javlja kod upotrebe spironolaktona (Parthasarathy HK, 2011).

Osnovno povoljno dejstvo spironolaktona na hipertenziju u BAH ili APA je normalizacija krvnog pritiska u 39% slučajeva kao i adrenalektomijom, a u 61% krvni pritisak pada za više od 20% i manje antihipertenzivne terapije je potrebno za normalizaciju pritiska. U normalizaciji kalijuma je veoma efikasan sa lakom zadržkom pri započinjanju. Zbog toga je potrebno postepeno, strpljivo uvođenje.

Nezavisno od krvnog pritiska, spironolakton deluje protektivno i podstiče oporavak aldosteronom oštećenih organa. Dugotrajno lečenje spironolaktonom je opisano da slično adrenalektomiji smanjuje miokardnu i vaskularnu fibrozu, poboljšava endotelnu funkciju, smanjuje insulinemiju i insulinsku rezistenciju, slobodne masne kiseline i leptin, nepovoljne efekte TNF- $\alpha$ , MCP-1, PAI-1, a povećava protektivni adiponektin i PPAR- $\gamma$ . Takođe, smanjuje mikroalbuminuriju, poboljšava lipidogram i hepaticku steatozu. To potvrđuje da su sprečavanjem dejstva aldosterona spironolaktonom smanjeni mnogi njegovi direktni nepovoljni efekti, a ne samo preko hipertenzije. Višegodišnje studije praćenja su pokazale da čak i osobe sa lošim profilom rizika u PA na spironolaktonu popravljaju svoj kardiovaskularni rizik do ranga onog u EHT. Osobe sa PA je nađeno da imaju značajno češća oštećenja bubrežne funkcije, nižu GFR i porast kreatinina u serumu češći i veći nego u EHT. Nivo aldosterona i prisustvo hipokalemije su potvrđeni nezavisni prediktori opadanja bubrežne funkcije. Efekti spironolaktona na korekciju bubrežnih promena su se pokazali slični kao kod adrenalektomije. Treba imati u vidu da produženo trajanje nelečenog aldosteronizma dovodi do trajnih ili delimično reverznih promena, te je od najvećeg značaja rana dijagnoza i primena adekvatnog izbora lečenja.

Kod bolesnika sa APA, koji nemaju kontraindikacije za hirurški tretman, preporučuje se unilateralna laparoskopska adrenalektomija je metod izbora za lečenje pacijenata sa potvrđenim PA, bilo APA ili UAH. Medikamentna terapija mineralokortikoidnim antagonistima savetuje se za pacijente koji ne mogu antagonistima savetuje se za pacijente koji ne mogu ili odbijaju da budu operisani (Karginiannis A, 2008). Ona je terapija izbora u slučajevima IHA, bilateralnih APA i GKA. Moguća je i primena standardnih antihipertenzivnih lekova.

Pacijenti sa PA imaju veću incidencu kardiovaskularnih, cerebrovaskularnih i renalnih komplikacija. PA predstavlja najčešći specifično lečen i potencijalno izlečiv uzrok sekundarne hipertenzije.

## Hirurško lečenje primarnog aldosteronizma

Hirurško lečenje tumora nadbubrežne žlezde se obavlja klasičnim pristupom koji obuhvata laparotomiju dorzalnim pristupom po Jungu (Young) i minimalno invazivnim, laparoskopskim pristupom. Klasični pristup je bio operacija izbora do 1992. godine kada je Mišel Ganje (*Michael Gagner*) publikovao rezultate prve tri uspešne laparoskopske adrenalektomije feohromocitoma. Laparoskopska adrenalektomija (LTA) se koristi kao rutinska procedura u Centru za endokrinu hirurgiju od 2012. godine.

U indikacije za laparoskopsku adrenalektomiju spadaju mali funkcioni tumori, feohromocitom, Konov sindrom, Kušingov sindrom i mali virilizirajući adenom. U relativne indikacije spadaju bilateralni tumori nadbubrežne žlezde. Pre hirurškog lečenja neophodno je na osnovu preoperativnog ispitivanja isključiti sa visokom sigurnošću mogućnost prisustva maligniteta u uočenoj leziji. Laparoskopska adrenalektomija ima relativne i apsolutne kontraindikacije. Relativne kontraindikacije su povišeni kardiopulmonalni rizik i perzistentna koagulopatija, dok su apsolutne kontraindikacije tumor veći od 15 cm, prisutna lokalna invazija, suspektni adrenokortikalni karcinom i metastatski feohromocitom (Paunović I, 2018).

### 1.10. KOMPLIKACIJE PRIMARNOG ALDOSTERONIZMA

Nedavno objavljena istraživanja donose nova saznanja o renin-angiotenzin-aldosteron sastavu (RAAS) i njegovoj ulozi u metaboličkom sindromu budući da se sve komponente RAAS sintetišu u visceralnim adipocitima. To je naročito važno jer pojačana aktivnost RAAS, cirkulacijska ali i tkivna, značajno pridonosi povećanom ukupnom KV riziku i utiče na hroničnu bubrežnu bolest (HBI). Pored KVB i bubrežnih bolesti u ovim studijama pokazan je i štetan efekat na pojavu metaboličkog sindroma, oboljenja kostiju, CVI, atrijske fibrilacije i kognitivne funkcije. Udružena pojava Konovog sindroma i šećerne bolesti je zabeležena ubrzo nakon otkrivanja ovog sindroma 1955. godine. Metabolički organ-specifični efekti hipersekrecije aldosterona uključuju oštećenje funkcije beta ćelija pankreasa, porast hepatičke glukoneogeneze, slabiji unos glukoze i oštećenje ćelija adipocita, smanjenje ulaska glukoze u skeletne mišiće i porast vaskularnog oksidativnog stresa u glatkim mišićima i remodelovanje endotela. Dodatno komplikovanje je potencijalna metabolička veza u vidu otkrića da aldosteron produkujući adenomi često, takođe, sekretuju kortizol.

Dodatni komorbiditet kod PA uključuje i porast verovatno i opstruktivne snopne apneje (OSA).

Međutim razvoj OSA je multifaktorski proces, izazvan mehanizmima koji uključuju zastoj gasova zbog održive hipertenzije kao rezultat parafaringealnog edema i kroz mehanizam opstrukcije.

U studiji preseka PA od strane *Wang-a* i saradnika pokazano je da lečenje PA u ovoj populaciji vodi do redukcije mogućnosti nastanka simptoma OSA nakon adrenalektomije. Kao rezultat ove studije date su preporuke da pacijenti sa OSA i HTA budu na skriningu za PA.

PA je takođe često udružen i sa psihijatrijskim bolestima poput anksioznosti i depresije u malom broju studija.

Prema podacima iz literature prevalencija primarnog aldosteronizma (PA) kreće se između 2 i 11% u osoba s povišenim arterijskim pritiskom PA do 20% u osoba s rezistentnom hipertenzijom.

Klinički posmatrano, faktori rizika su abdominalna gojaznost, dislipidemija, glikozna intolerancija imaju puta veći rizik za nastanak DM2 (Ford ES, 2005; Athyros VG, 2005). Prisustvo i MetS i IR povećava rizik za nastanak DM2 6 do 7 puta. Postoji više definicija MetS, koje su odraz menjanja istorijskih stavova vezanih za sam koncept sindroma (tabela 3).

**Tabela III - Pregled kriterijuma za dijagnozu MS (Preuzeto iz Micić D, 2010)**

WHO 1988	EGIR 1999	NCEP/ATP III 2001	AACE 2003	IDF 2005
IGT, IGF, DM2 ili smanjena insulinska senzitivnost + 2 kriterijuma	Plazma insulin > 75 percentila + 2 kriterijuma	3 faktora od ponuđenih 5	IGT ili IFG + 2 od ponuđenih	OS - etnički specifičan + 2 sledeća
Odnos struk/kuk M ≥ 0.9 Ž ≥ 0.85 i/ili ITM ≥ 30 kg/m <sup>2</sup>	OS M ≥ 94 cm Ž ≥ 80 cm ITM ≥ 30 kg/m <sup>2</sup>	OS M ≥ 102 cm Ž ≥ 88 cm	ITM ≥ 25 kg/m <sup>2</sup>	OS - M ≥ 94cm Ž ≥ 80cm
TG ≥ 1.7mmol/l i/ili HDL: M < 0.9 mmol/l Ž < 1.0mmol/L	TG ≥ 2.0 mmol/l i/ili HDL: M < 1.0 mmol/l Ž < 1.0 mmol/l	TG ≥ 1.7mmol/l HDL: M ≤ 1.0 mmol/l Ž ≤ 1.3 mmol/l	TG ≥ 1.7mmol/l HDL: M ≤ 1.0 mmol/l Ž ≤ 1.3 mmol/l	TG ≥ 1.7mmol/l HDL: M < 1.0 mmol/l Ž < 1.3 mmol/l
≥140/90 mmHg Terapija HTA	≥140/90 mmHg Terapija HTA	≥130/85 mmHg Terapija HTA	≥130/85 mmHg Terapija HTA	≥130/85 mmHg Terapija HTA
Mikroalbuminurija > 20mcg/min	Glc > 6.1mmol/l Terapija DM2	Glc > 6.1mmol/l Terapija DM2	Glc ≥ 5.6 mmol/l Terapija DM2	Glc ≥ 5.6mmol/l Terapija DM2

Aktuelni koncept definicije MetS je revidiran 2009 god. od strane *International Diabetes Federation (IDF)* i *National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI)* i *American Heart Association (AHA)* i dijagnoza MetS se postavlja kada pacijent ima najmanje 3 od 5 kriterijuma navedenih u tabeli (Nakazone MA, 2007).

**Tabela IV - Kriterijumi za dijagnozu MS prema IDF (2005)**

Abdominalna gojaznost Obim struka prema etičkoj pripadnosti +dva od četiri dole navedena kriterijuma	Muškarci ≥ 94cm*; Žene ≥ 80cm*
Trigliceridi	≥ 150mg/dl ili ≥ 1.7mmol/L ili prethodno lečenje hipertrigliceridemije
Snižen HDL holesterol	Muškarci < 40mg/dl ili 1.0mmol/L; Žene < 50mg/dl ili <1.3mmol/L
Hipertenzija	≥130/85 mmHg ili prethodno lečenje hipertenzije
Glikemija	FPG > 100mg/dl ili ≥ 5.6mmol/L ili prethodno dijagnostikovani T2DM FPG > 100 mg/dl, (5,6mmol/L), OGTT se preporučuje ali nije neophodan za definisanje MS

\*Etnički specifične vrednosti za evropsku populaciju \*Ako je indeks telesne mase (ITM) > 30 kg/m<sup>2</sup>, obim struka nije neophodan

Kriterijumi za dijagnozu MetS prema IDF iz 2005.godine dati su u tabeli 4. Pregled drugih definicija MetS dat je u tabeli 3. Prema IDF abdominalna (centralna, visceralna) gojaznost je najznačajnija komponenta metaboličkog sindroma i povezana je sa insulinskom rezistencijom (IR),

smanjenom tolerancijom glukoze, hipertenzijom i dislipidemijom. Dislipidemija se karakteriše prekomernim stvaranjem aterogenih lipida i lipoproteina. Postoji snižena vrednost HDL-holesterola i povišen nivo triglicerida, što kod osoba sa metaboličkim sindromom uz IR i dijabetes melitus tip 2 (T2DM) predstavlja rizik za nastanak kardiovaskularnih bolesti (KVB).

## KARDIOVASKULARNE I BUBREŽNE KOMPLIKACIJE

Nakon objavljivanja izveštaja *Bruner-a* i sar. u časopisu *New England Journal of Medicine*, praćenog i drugim izveštajima da je arterijska hipertenzija sa visokim reninom povezana sa vaskularnim oštećenjima i kardiovaskularnim događajima, smatralo se da je renin glavni uzrok za nastanak kardiovaskularnih bolesti kod pacijenata sa arterijskom hipertenzijom.

Trebalo je nekoliko decenija i više randomiziranih kliničkih ispitivanja kao što su RALES (*Randomised Aldactone Evaluation Study*), EPHEUS (*Eplerenone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study*) i EMPHASIS (*Eplerenone in Mild Patients Hospitalization and Survival Study in Heart Failure*) da se stekne uvid u ulogu aldosterona u nastanku kardiovaskularnih bolesti.

PA nosi veći rizik za nastanak hiperterofije leve komore (LK) u odnosu na pacijente sa esencijalnom hipertenzijom. Pored toga, utvrđeno je da je veći rizik povezan sa promenama u teksturi (LK) što ukazuje na fibrozu i promene u dijastolnom punjenju), što je uzrokovano adenomom koji proizvodi aldosterone.

Ove studije poput PAPPY (*PA Prevalence in Hypertensives*) pokazale su i znatno veću stopu atrijalne fibrilacije. Štetni efekti povišenog aldosterona su brojni nezavisno od uticaja HT. Pacijenti sa PA imaju dva puta veću prevalencu uvećanja leve komore srca i značajno veću prevalencu koronarne bolesti, nefatalnih infarkta miokarda, srčane insuficijencije i atrijalne fibrilacije (Rossi GP, 2006). *Mulatero* i sar. navode veću učestalost aritmija, moždanog udara i drugih kardiovaskularnih događaja kod osoba sa IHA i APA u odnosu na esencijalnu HT (Milliez P, 2005), a *Fisher* i sar. opisuju veću pojavu dijabetesa tip 2 u PA tokom godina praćenja.

Kardiovaskularna i bubrežna oštećenja su uglavnom uzrokovana visokim krvnim pritiskom. Hipertenzija, hipokalijemija mogu u velikoj meri doprineti oštećenju organa u PA. Analizirajući grupu od 553 pacijenata iz nemačkog Konovog registra, autori su pronašli da kod pacijenata sa hipokalijemijom koji imaju PA (56.1%), sistolni i dijastolni krvni pritisak su bili viši u odnosu na pacijente sa normokalijemijom. Prevalenca svih komorbiditeta je bila značajnije viša u hipokalijemičnim pacijenata. Male studije poput *Catena* i sar. su našli da je 24h klirens kreatinina  $<60\text{ml/min}/1.73\text{m}^2$  u 7% pacijenata sa PA. U velikoj nemačkoj studiji nivo plazmatskog kreatinina je bio povišen u 29%, značajno više u odnosu na kontrolu (10%). Takođe, regresionom analizom pokazano je da godine, pol, nizak kalijum i visok nivo koncentracije aldosterona je bio nezavisan prediktor za nisku GFR. U ovoj studiji, 20% pacijenata je imalo nisku u odnosu na normalnu GFR i tendenciju ka visokom stepenu proteinurije i mikroalbuminurije poredeći obe grupe.

### 1.11. Histologija i patohistologija nadbubrežnih žlezda

#### 1.11.1. Značaj patohistološkog pregleda u potvrdi primarnog aldosteronizma

Indikacija za operativno lečenje primarnog aldosteronizma je nalaz unilateralne sekretorne promene, u najvećoj meri aldosteron produkujućeg adenoma, a mnogo ređe karcinoma ili unilateralne hiperplazije. Zbog toga su iskustva i značaj patohistološkog pregleda u PA prvenstveno vezani za karakteristike nalaza u adenomima. Između ostalog, potvrda prisustva adenoma nakon adrenalektomije čini suštinu značaja koji patologija ima u dijagnostici APA. Patohistološki nalaz u slučaju APA, za razliku od mnogih drugih vrsta tumora, nema apsolutno odlučujući značaj u dijagnostici.

Dijagnoza APA se prema savremenim vodičima bazira na biohemijskom dokazu primarnog aldosteronizma kao i na lateralizaciji hipersekrecije primenom AVS. Međutim, zbog brojnih otežavajućih činilaca oko primene i tumačenja AVS i dobijenih hormonskih analiza, patohistološki nalaz i postoperativni tok bolesti imaju veliki i krucijalni udeo u potvrdi ispravnosti preoperativno postavljene dijagnoze (Funder, 2016).

Makroskopski, adenomi kore nadbubrežne žlezde su na preseku prepoznatljive žute boje, homogene građe, veličine 2-4 cm. Jasno su ograničeni, ali retko potpuno inkapsulirani (Tatić, 2019). Prečnik tumora koji prekomerno sekretuju aldosteron je prosečno manji od onih koji luče kortizol.

Rutinsko bojenje preparata dobijenih nakon adrenalektomije se vrši hematoksilinom i eozinom (HE). HE bojenje omogućava detekciju bar jednog nodusa, što značajno ukazuje na APA. Takođe, omogućuje identifikaciju ćelija koje su predominantno prisutne u nodusu, odnosno tumoru koji je obično male veličine. Četiri tipa ćelija se mogu naći u aldosteronizmu: male svetle ćelije koje liče na ćelije zone glomeruloze, velike svetle ćelije penastog izgleda i bogate lipidima nalik zoni fascikulati, male kompaktne ćelije kao u zoni retikularis i najzad atipične, takozvane hibridne ćelije, nalik zoni fascikulati i glomerulozi. Hibridne ćelije se karakterišu nuklearnim uvećanjem, nukleolima i hiperhromazijom. One su dosta specifične za APA i mogu biti u predominaciji ako se nalaze uz druge vrste ćelija. Prisustvo kombinacije različitih vrsta ćelija takođe se često uočava u APA (Gioco, 2015).

Bojenje hematoksilinom i eozinom prikazuje morfologiju uočenih adrenalnih ćelija, ali ne može da obezbedi dokaz o vrsti njihove sekretorne aktivnosti. Zato je fenotipizacija uočenog, ekstimpiranog i analiziranog tumora pripremljenog na klasičan način praktično nemoguća. Prepoznavanje ćelija koje luče specifično aldosteron u nađenom nodusu ili tumoru je poslednjih godina značajno napredovalo zbog primene drugih metoda potvrde funkcionalnog kapaciteta adrenalnih ćelija. Dve metode omogućavaju funkcionalnu karakterizaciju adrenalnih ćelija. In situ hibridizacija se bazira na korišćenju specifičnih oligonukleotita za CYP11B2, čime se omogućava potvrda da ćelije nađene u tumoru sekretuju aldosteron. Ova metoda je zahtevna i zato se ne koristi u rutinskoj dijagnostici (Lenzini, 2007). Imunohistohemija (IHH) je brže izvodljiva i manje skupa metoda koja se može izvesti i rutinski. Koristi antitela na humani CYP11B2 i 11 beta-hidroksilazu (CYP11B1). Ipak, za sada nije komercijalno dostupna i ograničena je samo na veće istraživačke centre (Gomez-Sanchez, 2014).

Otkriće ovih antitela, specijalno monoklonskih, omogućilo je da se bolje sagleda histologija normalne adrenalne kore, posebno ćelijska organizacija ZG, i izmene koje se nalaze u APA. Na osnovu detekcije mogućnosti aldosteronske ili kortizolske sekrecije, ovom metodom je pokazano da čak i u normalnom adrenalnom korteksu postoji dva tipa ćelijske distribucije. U konvencionalnom tipu su prisutne tri klasične zone sa sporadičnom detekcijom CYP11B2 u trakama ćelija ZG odmah ispod kapsule (sekrecija aldosterona). U iregularnom tipu distribucije prisutni su klasteri CYP11B2 pozitivnih ćelija u subkapsularnoj zoni, često izmešani sa CYP11B1 pozitivnim ćelijama (sekrecija kortizola) koje se prostiru do kapsule (Nishimoto, 2010; Gomez-Sanchez, 2014). Sa starenjem zona glomeruloza se smanjuje, PA se kod odraslih često i ne vidi u kompletnom subkapsularnom sloju, već proređeno kao pojedinične grupe ćelija (Aiba, 2011). Veći broj ćelija i veća produkcija aldosterona je potrebna kod dece i u skladu je sa delimičnom rezistencijom na njegovo delovanje i manjim brojem MK receptora (Aiba, 2011; Nishimoto, 2010; Gomey-Sanchez, 2014). Redukcija broja ZG ćelija sa starenjem (moguće i zbog ishrane bogate solju) praćena je pojavom ćelija u gornjem delu korteksa koje ne eksprimiraju ni CYP11B1 ni CYP11B2 (zona progenitorskih ćelija). Zato je značaj imunohistohemije veći za osobe starije od 40 godina, jer može da detektuje prisustvo i ovih dominirajućih ćelija, a koje HE bojenje ne označava kao funkcionalno neopredeljene već kao ćelije nalik ZG ili ZF (Aiba, 2011; Gioco, 2015) (Slika 1).

Korišćenjem antitela za identifikaciju funkcionalnosti ćelija, jedna od metoda je pokazala da se u APA mogu naći tri tipa ćelija (Nishimoto, 2010). To su ćelije pozitivne za CYP11B2, ćelije pozitivne za CYP11B1 i ćelije negativne i za CYP11B1 i za CYP11B2 (Slika 1. B). Dakle, nisu identifikovane ćelije koje su dvostruko pozitivne, za CYP11B1 i CYP11B2. Druga metoda je naprotiv pokazala da aldosteron produkujući tumor sadrži ne samo kombinaciju CYP11B2 i CYP11B1



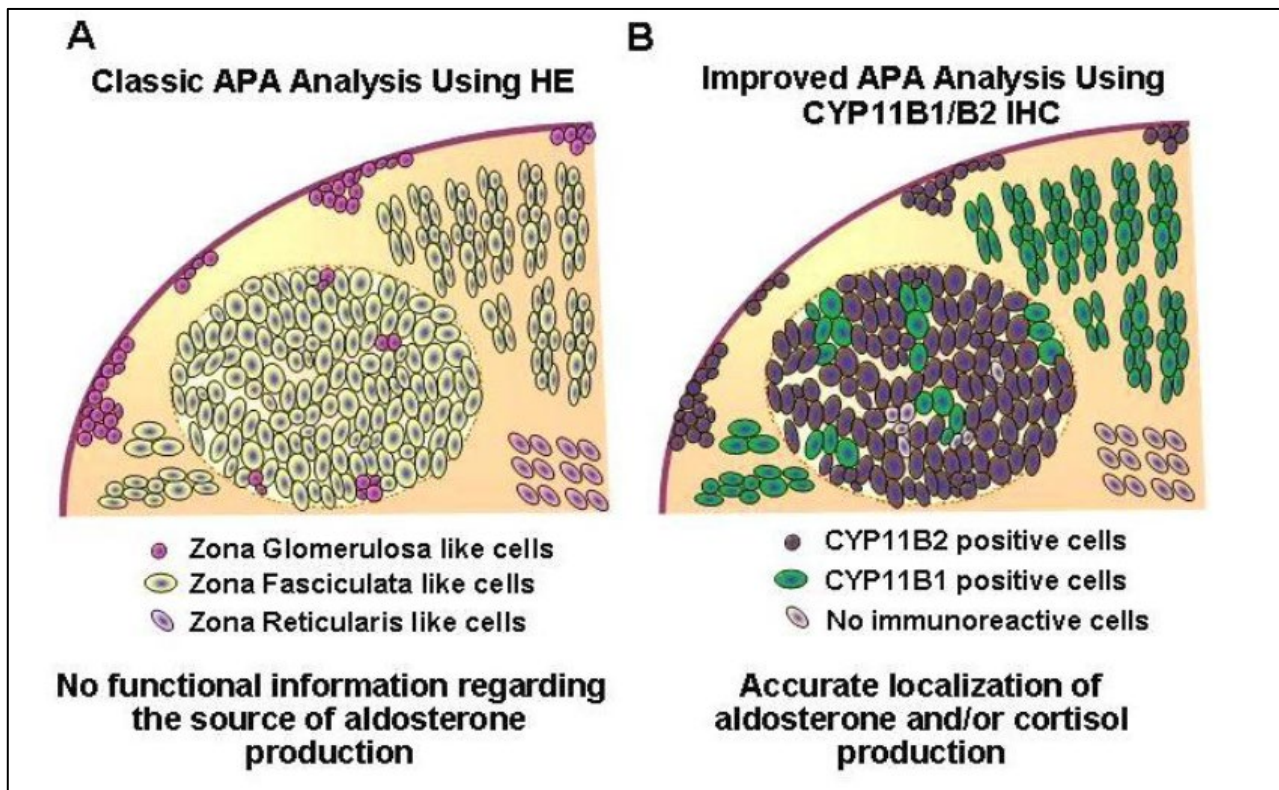
pozitivnih ćelija, već i ćelije koje imaju oba CYP11B enzima (Nakamura, 2014). Raspored imunoreaktivnosti za CYP11B1 je uglavnom difuzni, a za CYP11B2 heterogen i tačkast. U okolnom tkivu postoji snažna ekspresija CYP11B1, a vrlo niska CYP11B2 (Nakamura, 2014).

### **1.11.2. Histologija peritumorskog adrenalnog tkiva**

Tkivo oko APA može da izgleda na patohistološkom nalazu uobičajeno za normalno adrenalno tkivo korteksa (Gioco, 2015). U tom smislu, imunoreaktivnost nam daje dodatnu informaciju o difuznoj ekspresiji CYP11B1 u ZF i ZR i sporadičnoj CYP11B2 u ZG (Slika 3). Tkivo oko tumora može da bude hiperplastično, takozvana "paradoksalna hiperplazija", za razliku od nalaza u Kušingovom sindromu (Boukroun, 2010). Naime, u hiperkorticizmu je prisutna atrofija tkiva oko tumora i supresija njegove funkcije sekretovanja kortizola. Kortizol sekretujući tumor, kao forma ACTH-nezavisnog Kušingovog sindroma, dovodi do supresije ACTH i posledičnog izostanka bilo kakve stimulacije ćelija zdravog peritumorskog adrenalnog korteksa da održi funkciju i morfologiju. Imajući u vidu da je zona glomeruloza mala i smanjuje se dalje sa starenjem, uticaj na volumen adrenalnog korteksa imaju prvenstveno izmene u zonama retikularis i fascikulata. Sekretija aldosterona nije značajno regulisana preko ACTH, a poznato je i da sistem renin-angiotenzin takođe nema velikog uticaja pri prekomernom unosu soli. I u slučaju APA su renin i angiotenzin niski ili suprimovani. Uticaj sporednih regulatora aldosteronske sekrecije na peritumorsko tkivo je verovatno kompleksnog zbirnog efekta. Takođe, moguće je učešće i novih faktora na broj i funkcionalnost peritumorskih ćelija ZG u sklopu PA zbog APA.

Imunohistohemijom se može uočiti da se u tkivu oko tumora može naći i prisustvo samo CYP11B2, što odgovara klasterima ćelija koje proizvode aldosteron, nalik prezentaciji APA (Nishimoto, 2009). U peritumorskom tkivu se mogu videti mikronodusi ili makronodusi sa ekspresijom CYP11B2, ukazujući na očuvanu funkcionalnost ove zone. Sa kliničkog aspekta, ovako organizovana funkcija ćelija ZG može biti korisna za brzu procenu efekata hirurškog lečenja, jer neposredni efekat adrenalektomije nije maskiran dužim periodom oporavka hipofunkcije drugog nadbubrega kao u Kušingovom sindromu. Sa druge strane, ovakva procena nije pouzdana jer nepostojanje supresije okolnog tkiva može teorijski da ukazuje i na mogućnost nepotpunog funkcionalnog razdvajanja APA i okolnog peritumorskog tkiva. To se prvenstveno odnosi na situaciju kada su prisutni mikro ili makronodusi u peritumorskom tkivu, jer postoje dokazi da oni mogu imati potencijal aldosteronske produkcije. Njihov značaj kao moguća dodatna mesta razvoja novih APA ili kao slika funkcionalnosti kontralateralne žlezde nije sasvim jasan (Gioco, 2015).

**Slika 3.** Identifikacija APA HE bojenjem (A) i korišćenjem antitela na CYP11B1 i CYP11B2 (B)



**Slika 3.** HE bojenjem se uočava identifikacija klasičnog nalaza ćelija sličnih ZG, sličnih ZF i sličnih ZR prikazanih šematski u boji radi lakše identifikacije. HE bojenjem ćelije ZG se vide kao male i značajno obojene eozinom zbog prisustva mitohondrija, a ćelije ZF su velike i svetle zbog lipidnog sadržaja. Ćelije ZR su male, tamno ružičaste. Ćelije su razvrstane prema veličini, izgledu nakon bojenja i lokalizaciji, a bez uvida u funkcioni kapacitet. U samom tumoru većina ćelija liči na ZF ćelije, a mali broj na ZG ćelije. Okolna ZG je prisutna u vidu klastera ćelija. B: IHH identifikuje aldosteron i kortizol produkujuće ćelije koje se mogu naći u tumoru, sa uvidom da i ćelije slične ZF mogu proizvoditi aldosteron, dok ćelije slične ZR nemaju sekretorni kapacitet za steroide (Gioco, 2015).

## **2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

1. Ispitaće se validnost testova korišćenih u preoperativnoj dijagnostici i diferencijalnoj dijagnostici PA i ustanoviti optimalan dijagnostički protokol.
2. Proceniće se značaj dijagnostičkih i diferencijalno dijagnostičkih testova za dalju prognozu PA korelacijom sa patohistološkim nalazom operisanih tumora kore nadbubrežnih žlezda i postoperativnim praćenjem toka bolesti.
3. Ispitaće se odnos između stepena i autonomnosti sekretorne aktivnosti aldosterona i karakteristika kliničkog ispoljavanja.
4. Praćenjem pacijenata operisanih zbog PA utvrdiće se dugotrajni ishod lečenja i stepen regresije hipertenzije.

### **3. MATERIJAL I METODE**

#### **3.1. Tip studije, mesto i period istraživanja**

U retrospektivnoj studiji analizirana je medicinska dokumentacija pacijenata primljenih u Centar za endokrinu hirurgiju Klinike za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma Kliničkog centra Srbije u periodu 2007-2017. godina, kao i dokumentacija vezana za endokrinološko internističko ispitivanje obavljeno u ovoj klinici.

#### **3.2. Selekcija ispitanika**

Selekcija ispitanika za studijsku grupu je urađena prema uputnoj dijagnozi primarni aldosteronizam, adrenokortikalni adenom i arterijska hipertenzija. Korišćena je baza podataka koja je formirana u CEH za operisane pacijente, a koji su osim iz KCS upućivani i iz drugih većih medicinskih centara u Srbiji. Za analizu i poređenje pojedinih parametara, kao kontrolna grupa su iz iste baze i praćenog perioda korišćeni podaci pacijenata sa adrenokortikotropin (ACTH) -nezavisnim tumorom i hiperkortizolizmom. Drugu kontrolnu grupu su činili pacijenti sa afunkcionim adrenokortikalnim tumorom i arterijskom hipertenzijom. Pacijenti koji su bili u ovim grupama su testirani isključivo u Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma KCS uobičajenim protokolom za adrenalne tumore koji su potvrdili pripadnost grupama (Žarković M, 2019). Kriterijumi za isključenje iz studije bili su: nepotpuna dokumentacija o analiziranim parametrima, nedostatak dijagnostičkih testova nakon nalaza povišenog odnosa aldosteron:PRA ukoliko je aldosteron bio normalan i analize obavljene u laboratorijama koje koriste metode i referentne vrednosti nekompatibilne sa RIA metodom.

#### **3.3. Protokol studije i instrumenti merenja**

Razmatrani antropometrijski parametri obuhvataju starost, pol, merenje telesne težine (TT), telesne visine (TV), obima struka (OS) i obima kuka (OK). Vrednosti  $OS \geq 94$  cm za muškarce i  $\geq 80$  cm za žene su smatrane abdominalnim tipom gojaznosti. Indeks telesne mase (*Body mass index*, BMI) je izračunat prema formuli  $[TT \text{ (kg)}/TV^2 \text{ (m}^2)]$ . Pacijenti sa  $BMI > 25 \text{ kg/m}^2$  su okarakterisani kao prekomerno uhranjeni, a sa  $BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$  kao gojazni.

##### **3.3.1. Procena krvnog pritiska**

Za analizu krvnog pritiska izabrane su srednje vrednosti tri merenja koja su bila u najvišim opsezima na tekućoj antihipertenzivnoj terapiji u vreme prezentacije pacijenata za obavljanje endokrinoloških dijagnostičkih testova. Krvni pritisak je meren od strane obučenog medicinskog osoblja u standardnim uslovima mirovanja korišćenjem manuelnog sfigmomanometra. Osobe sa sistolnim krvnim pritiskom  $\geq 130$  mmHg i/ili dijastolnim krvnim pritiskom  $\geq 85$  mmHg ili upotrebom antihipertenzivne terapije su definisane kao hipertenzivne. Analizirane su vrednosti sistolnog krvnog pritiska (sKP), dijastolnog (dKP), pulsni pritisak (s-d KP), srednji arterijski pritisak (MAP)  $[sKP + (2 \times dKP)] / 3$  i srčana frekvencija u minuti. Takođe je analizirano vreme trajanja hipertenzije. Krvni pritisak je analiziran i u postoperativnom praćenju grupe primarni aldosteronizam, uz broj antihipertenzivnih lekova potrebnih za njegovu korekciju.

##### **3.3.2. Metaboličke karakteristike**

Za procenu lipidnog metabolizma analizirani su sledeći parametri: holesterol, LDL holesterol, HDL holesterol, trigliceridi i totalni akumulacioni produkti lipida (LAP) (*Total-body lipid accumulation products*). LAP je izračunat prema formuli  $[(\text{obim struka (cm)} - 65) \times (\text{koncentracija triglicerida (mmol/l)})]$  za muškarce i  $[(\text{obim struka (cm)} - 58) \times (\text{koncentracija triglicerida (mmol/l)})]$  za žene. Dislipidemija je definisana kao nivo triglicerida (TG) u serumu  $\geq 1.7$  mmol/l, ili nivo holesterola visoke gustine (HDL)  $< 1.0$  mmol/l kod muškaraca i  $< 1.3$  mmol/l kod žena. Za procenu

metabolizma glukoze analizirane su jutarnje glikemije, postojanje dijagnostikovanog ili lečenog dijabetes melitusa i intolerancije na glukozu u skladu sa preporukama nacionalnog i svetskih vodiča. Metabolički sindrom je definisan kao prisustvo centralne gojaznosti sa OS  $\geq 80$  cm za žene i  $\geq 94$  cm za muškarce (OS  $\geq 90$ -tog percentila za godine i pol) i još dve od sledećih komponenti: (1) ranije dijagnostikovana i lečena hipertenzija (sistolni i/ili dijasistolni krvni pritisak  $\geq 95$ -tog percentila); (2) hipertrigliceridemija (TG  $\geq 1.7$  mmol/L); (3) nizak HDL definisan kao  $\leq 1.03$  mmol/L; (4) poremećaj tolerancije na glukozu, glikemija našte  $\geq 5.6$  mmol/L (IDF consensus).

### 3.3.3. Procena prisustva komplikacija

Za procenu bubrežne funkcije su analizirani sledeći biohemijski parametri: urea, kreatinin, kalijum, klirens kreatinina, proteinurija, mikroalbuminurija i procenjena brzina glomerulske filtracije (eGFR). Hronična bubrežna insuficijencija je definisana kao eGFR  $< 60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> duže od 3 meseca. Sve biohemijske analize su rađene indirektnom potencijometrijom (ISE), spektrofotometrijom i imunoturbidimetrijom (*Cobas 6000-Roche*). Notirano je postojanje renalnih cisti opisanih CT pregledom. Na osnovu podataka iz anamneze i izveštaja specijalizovanih pregleda skupljeni su podaci o većim kardiovaskularnim događajima (akutni infarkt miokarda, koronarna bolest, aneurizma aorte, atrijalna fibrilacija, hronična srčana insuficijencija, cerebrovaskularni insult) i težim kliničkim ispoljavanjima hipokalemije.

### 3.3.4. Hormonske analize

Analizirane su vrednosti serumskog aldosterona, plazma reninske aktivnosti (PRA) i kortizola. Za određivanje aldosterona u serumu korišćen je radioimunoesej (RIA) ALDO-RIACT kit. Referentne vrednosti za normalnu populaciju sa normalnim unosom soli su: 5. percentil 97, srednja vrednost 201, 95. percentil 626 ng/L u uspravnom položaju (posturalno). Normalne vrednosti u ležećem položaju su 42-201.5 ng/L. Za analizu PRA korišćen je REN-CT2 radioimunoesej kit za kvantitativno određivanje angiotenzina I u humanoj plazmi. Ovim esejem indirektno se meri plazma reninska aktivnost koja se izražava u ng angiotenzina koji nastane u ml za jedan sat. Referentne vrednosti za ovaj esej pri unosu soli 100-150 mmol/24h su: u mirovanju 0,2-2,8 ng/ml/h, u naporu (posturalno) 1,5-5,7 ng/ml/h. Za određivanje kortizola u serumu korišćen je radioimunoesej CORT-CT2. Vrednosti kortizola za normalnu populaciju u periodu od 08-10h su 131-642 nmol/L i 104-146 nmol/L u periodu od 15-17h. Hormonska merenja su obavljena u uslovima normokalemije (posle korekcije hipokalemije) na normalnom unosu soli koji je procenjen merenjem 24-h urinarne ekskrecije natrijuma.

### 3.3.5. Analiza endokrinoloških testova

Osim baznih vrednosti posturalnog aldosterona u serumu i PRA, u ovoj studiji su analizirani testovi primenjeni za potvrdu definitivne dijagnoze primarnog aldosteronizma. Od četiri testa koja su preporučena vodičima (Funder JW, 2016), dva nisu bila u upotrebi: test oralnog opterećenja solju i fludrokortizonski test. Kaptoprilski test (50 mg) sa određivanjem posturalnog aldosterona u serumu i PRA je analiziran upoređivanjem vrednosti aldosterona na početku testa (0 minuta) i na kraju testa (120 minuta). Kao normalan odgovor na supresiju kaptoprilom uzet je pad koncentracije aldosterona veći od 30%. Test intravenske infuzije slanog rastvora (infuzioni test) sa određivanjem aldosterona u serumu i PRA je analiziran upoređivanjem vrednosti aldosterona na početku testa (0 minuta) i na kraju testa (240 minuta). Kao normalan odgovor na opterećenje natrijumom uzet je pad koncentracije aldosterona na kraju testa na manje od 5 ng/dl (50 ng/L). Vrednosti veće od 10 ng/dl (100 ng/L) ukazuju na primarni aldosteronizam, pa su uzete kao dijagnostičke (Funder JW, 2016). Merenja aldosterona u testovima su obavljena u hospitalnim uslovima uz maksimalno moguće izbegavanje antihipertenzivne terapije koja utiče na njegovu sekreciju. Analiziran je i nivo kortizola u deksametazon supresionom testu sa 1mg (DST-1mg). Deksametazon je dat oralno u 23.00h, a kortizol meren narednog jutra u 08.00h. Kao adekvatna supresija kortizola uzeta je vrednost manja od 50 nmol/L. Za vrednosti više od 138 nmol/L smatrano je da postoji autonomna kortizolska sekrecija

(Fassnacht M 2016). Za dokazivanje subkliničkog hiperkortizolizma u primarnom aldosteronizmu korišćen je još jedan pozitivan kriterijum (Fassnacht M 2016).

### **3.3.6. Analize podataka vezane za adrenokortikalne tumorske promene**

Za analizu slikovnog pregleda nadbubrežnih žlezda korišćen je nalaz dobijen visoko-rezolutivnom kompjuterizovanom tomografijom (CT) sa kontrastom i magnetnom rezonancom (MR) koja je korišćena u malom procentu, uglavnom kao dodatna metoda. Analizirana je veličina i lokalizacija solidnih promena i izgled kontralateralne nadbubrežne žlezde.

Za analizu podataka o primenjenoj operativnoj tehnici adrenalektomije i lokaciji žlezde korišćeni su hiruški izveštaji. Patohistološki izveštaji su korišćeni za analizu podataka o makroskopskom i mikroskopskom izgledu adrenalnog tkiva pripremljenog klasičnim bojenjem sa hematoksilinom i eozinom (HE). Postoperativno praćenje je obuhvatilo analizu vrednosti krvnog pritiska, korekcije hipokalemije, broj antihipertenzivnih lekova u ranom periodu kod svih ispitanika sa primarnim aldosteronizmom. Dugotrajno praćenje pojave recidiva je obavljeno uvidom u medicinsku dokumentaciju i telefonskom anketom.

### **3.4. Statističke metode**

Podaci su analizirani metodama deskriptivne i analitičke statistike. Od metoda deskriptivne statistike korišćeni su aritmetička sredina  $\pm$  sd, medijana (opseg) kao i apsolutni i relativni brojevi. Normalnost raspodele je ispitana matematičkim i grafičkim metodama. Za poređenje statistički značajne razlike između numeričkih varijabli korišćena je ANOVA (ili Kruskal-Wallis) u zavisnosti od raspodele podataka. Za poređenje statistički značajne razlike između ispitivanih grupa korišćen  $\chi^2$  test (ili Fisherov test) za nominalne podatke. Za izračunavanje senzitivnosti i specifičnosti korišćena je ROC kriva (receiver operating curve). Povezanost je ispitivana Pirsonovim ili Spearmanovim koeficijentom korelacije u zavisnosti od raspodele podataka. Statistička značajnost je prihvaćena na nivou 0.05. Rezultati su prikazani tabelarno i grafički. Za obradu podataka korišćen je softverski paket SPSS 21.0..

## 4. REZULTATI

U ovoj retrospektivnoj studiji analizirani su podaci za pacijente koji su u periodu od 2007-2017. godine upućivani u Centar za endokrinu hirurgiju (CEH) Klinike za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, KCS, sa dijagnozom primarni aldosteronizam, adrenokortikalni adenom i arterijska hipertenzija. Korišćena je baza podataka koja je formirana u CEH za operisane pacijente sa tumorom nadbubrega, a koji su osim iz KCS upućivani i iz drugih većih medicinskih centara u Srbiji. Identifikovane su 52 osobe, od kojih je isključeno 17 zbog nepotpune dokumentacije o analiziranim parametrima, nedostatku dijagnostičkih testova nakon nalaza povišenog odnosa aldosteron:PRA ukoliko je aldosteron bio normalan i analiza obavljenim u laboratorijama koje koriste metode sa referentnim vrednostima teško usaglasivim sa RIA metodom. U preostaloj grupi sa dokazanim primarnim aldosteronizmom, adrenokortikalni adenom je naveden u 31 opisu patohistološkog nalaza, u 2 nalaza nodularna hiperplazija i u 2 slučaja difuzna i delom nodularna hiperplazija. Grupi operisanih pacijenata je priključeno je još pet osoba sa dokazanim PA i unilateralnim adenomom koje nisu operisane do kraja perioda regrutacije ispitanika za ovu studiju, iz ličnih razloga ili zbog komorbiditeta. Kod jedne od neoperisanih osoba je nakon dve godine od postavljanja dijagnoze PA registrovana pojava tumora i na drugoj žlezdi (bilateralni). Ukupno je u grupi ispitanika sa primarnim aldosteronizmom analizirano 40 pacijenata. Kao kontrolne grupe za analizu i poređenje pojedinih parametara, iz praćenog perioda su nasumično izabrani pacijenti sa adrenokortikotropin (ACTH) - nezavisnim tumorom i hiperkortizolemijom (n=20; 10 s Kušingovim sindromom i 10 sa subkliničkim Kušingovim sindromom) i pacijenti sa afunkcionim tumorom i arterijskom hipertenzijom (n=40) testirani u KCS.

Za postavljenje dijagnoze primarnog aldosteronizma u grupi PA određivane su vrednosti aldosterona u serumu i plazma reninske aktivnosti (PRA) posturalno, odnos nivoa aldosteron: PRA, odgovor aldosterona u infuzionom testu i/ili kaptoprilskom testu. Od 40 pacijenata, višekратно povišen aldosteron posturalno (>626 ng/L) nađen je kod 34 ispitanika (669.5-1937.8 ng/L). Vrednosti aldosterona su najčešće bile značajno povišene, >1000 u 50% slučajeva, 900-1000 u 5.9% slučajeva, 800-900 u 17.6% slučajeva, 700-800 kod 20.6% osoba i povišene do 700 ng/L u 5.9% slučajeva. Samo je šest osoba (15%) imalo posturalni aldosteron u referentnim opsezima. Kod svih ispitanika je PRA bila niska ili suprimovana. Od definitivnih testova za potvrdu PA, infuzioni test je izveden kod 20, a kaptoprilski test kod 19 ispitanika. Infuzioni test je uzet kao definitivni potvrdni dijagnostički test za osobe za normalnim posturalnim aldosteronom izmerenim u baznim uslovima kod tri pacijenta, ali je nađen izostanak supresije aldosterona i u svim ostalim slučajevima (>100 ng/L). Kaptoprilski test je uzet kao dijagnostički test za osobe za normalnim aldosteronom takođe kod tri pacijenta. Vrednosti aldosterona u infuzionom i kaptoprilskom testu su prikazane u Tabeli 1.

**Tabela 1.** Vrednosti aldosterona u infuzionom i kaptoprilskom testu

Test med (min-max)	ALDOSTERON ng/L	
	vreme	
Infuzioni	0 min	240 min
	677,8 (225,7-1952,7)	477,2 (160,0-1853,6)
Kaptoprilski	0 min	120 min
	583,3 (191,0-1400,0)	573,0 (135,5-1400,0)

Ukupno je bilo 4 ispitanika (21% od svih) kod kojih su postojale vrednosti za kaptoprilski test sa padom aldosterona >30%, kao kod zdravih bez aldosteronizma. Primenom kriterijuma pad aldosterona za >50% i dalje je jedan pacijent sa baznim aldosteronom 1356 ng/L bio neobuhvaćen. Primenom kriterijuma pad koncentracije aldosterona na manje od 120 ng/L svi testirani kaptoprilskim testom su imali adekvatan odgovor za primarni aldosteronizam.

U cilju lateralizacije hipersekrecije aldosterona, podatak da je urađeno adrenalno vensko uzorkovanje (AVS) sa merenjem aldosterona i komentar za hirurga nađen je kao dostupan u 3 slučaja. U jednom slučaju je AVS rađeno kao rutinska metoda potvrde da je CT-om otkriveni tumor APA. Iako nije bila uspešna obostrana kanulacija adrenalnih vena, PH nalaz je potvrdio aldosteronom. U drugom slučaju je zbog voluminoznije kontralateralne nadbubrežne žlezde učinjeno uspešno AVS uz PH potvrdu viđenog adenoma. Treće AVS je indikovano zbog opisa dva manja tumora u istoj žlezdi CT i MR pregledom. Nalaz je interpretiran kao veoma verovatna unilateralna hipersekrecija, ali je PH nalaz potvrdio difuzno-nodularnu hiperplaziju. Nalazi dobijeni AVS metodom su tumačeni od strane ordinirajućih lekara koji su organizovali ovu invazivnu proceduru, na osnovu standardizovanih preporuka za svakog pacijenta pojedinačno. Ostali pacijenti su upućivani za hiruško lečenje viđenih tumora. Korišćenjem deksametazonskog testa sa 1mg kao skrining, kod dve osobe sa PA je potvrđeno istovremeno prisustvo SCS.

Osnovne socio-demografske karakteristike svih ispitanika i poređenja po grupama su prikazane u Tabeli 2. Ispitivane podgrupe se nisu statistički značajno razlikovale prema starosti i polnoj strukturi (p=0,147 i p=0,099, respektivno), grafik 1.

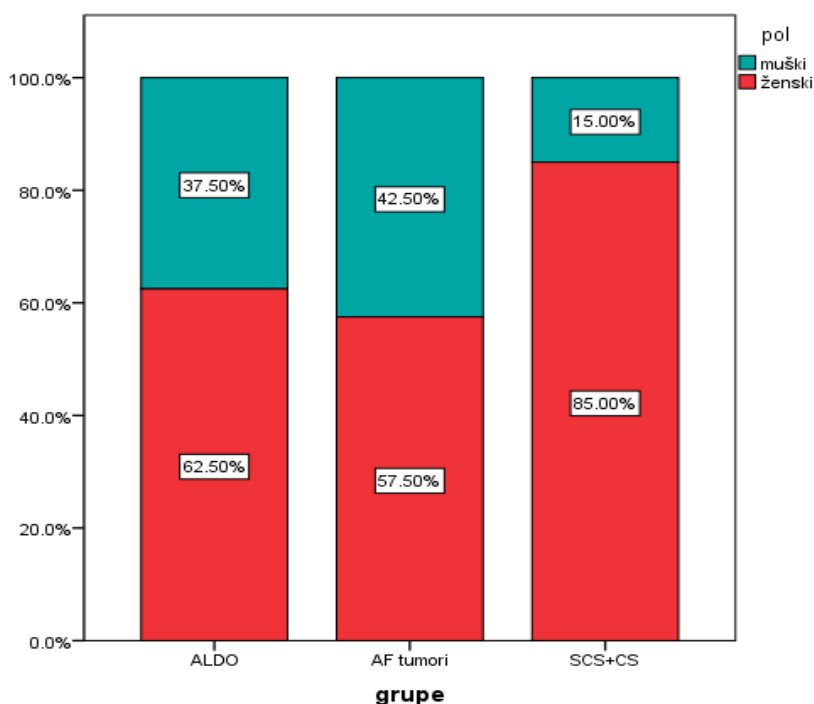
**Tabela 2.** Demografske karakteristike ispitanika i poređenje po grupama

Karakteristike	Ukupno	Grupe			p*
		PA	Af tu	SCS+CS	
Starost, godine SV±SD	52,86±11,79	50,50±11,93	55,60±10,54	52,10±13,29	0,147 <sup>§</sup>
Pol, n (%)					
muški	35 (35,0)	15 (37,5)	17 (42,5)	3 (15,0)	0,099 <sup>¥</sup>
ženski	65 (65,0)	25 (62,5)	23 (57,5)	17 (85,0)	

\*za statističku značajnost od 0,05 <sup>§</sup>Jednofaktoska ANOVA <sup>¥</sup>Hi kvadrat test

Polna distribucija u grupi PA izražena u procentima od ukupnog broja žena u odnosu na muškarce u starosnoj dobi 20-40 godina bila je 24:6.7%, 40-50 godina 36:20%, 50-60 godina 32:13.3%, a preko 60 godina 8:60%.





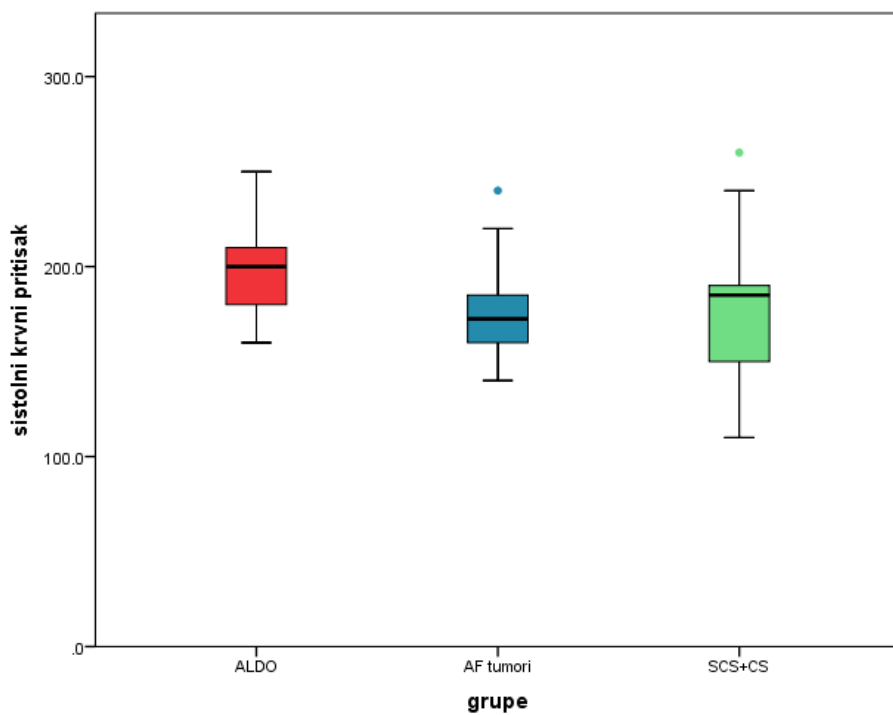
**Grafik 1.** Polna distribucija ispitanika po grupama

Karakteristike arterijske hipertenzije i srčane frekvence za celu studijsku grupu, kao i poređenje analiziranih parametara među grupama prikazani su u Tabeli 3. Nađena je statistički značajna razlika među grupama za srednju vrednost sistolnog krvnog pritiska ( $p < 0,001$ ), dijastolnog krvnog pritiska ( $p = 0,002$ ), MAP ( $p = 0,001$ ) i za vreme trajanja hipertenzije ( $p = 0,010$ ). Sistolni, dijastolni i srednji arterijski pritisak su bili statistički značajno viši u grupi primarni aldosteronizam (Grafik 2, 3, 4). U ovoj grupi uočeno je i najduže trajanje hipertenzije. Nije bilo značajne razlike među grupama vezano za pulsni pritisak i srčanu frekvencu, Tabela 3.

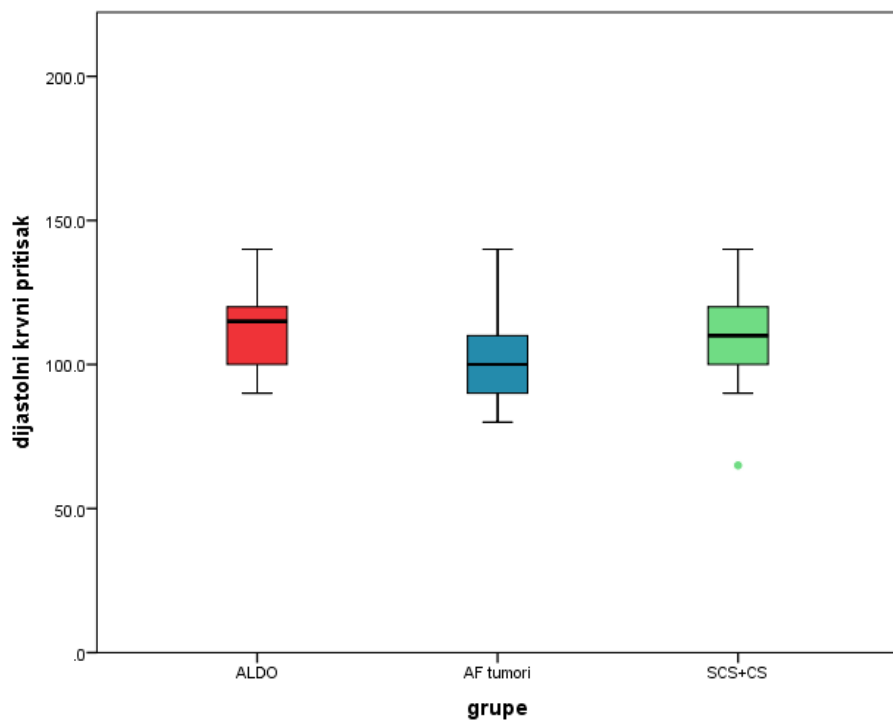
**Tabela 3.** Karakteristike arterijske hipertenzije i srčane frekvence, poređenje po grupama

Parametar	Ukupno	Grupe			p*
		PA	Af tu	SCS+CS	
SKP, mmHg	185,35±27,74	196,00±23,51	176,50±23,32	181,75±36,61	<0,001 <sup>§</sup>
DKP, mmHg	109,60±17,65	116,75±19,24	103,50±13,83	107,50±16,74	0,002 <sup>§</sup>
SKP-DKP	75,75±19,72	79,25±19,10	73,00±15,88	74,25±26,77	0,344 <sup>§</sup>
MAP	134,85±19,43	143,17±18,70	127,83±15,90	132,25±21,78	0,001 <sup>§</sup>
HT meseci med (Q1-Q3)	96 (48-171)	120 (84-180)	96 (15-189)	60 (18-114)	0,010 <sup>€</sup>
Frekvencu srca/min	73,99±9,63	74,05±11,09	73,60±8,27	74,65±9,44	0,924 <sup>§</sup>

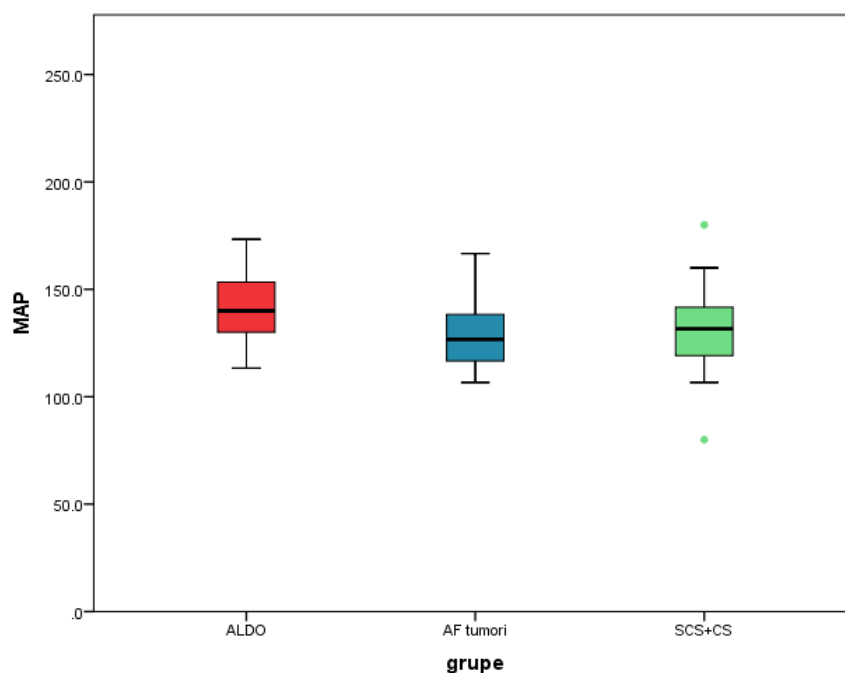
\*za statističku značajnost od 0,05 <sup>§</sup> Jednofaktoska ANOVA <sup>€</sup>Kruskal-Wallis test



**Grafik 2.** *Sistolni krvni pritisak prema grupama*



**Grafik 3.** *Dijastolni krvni pritisak prema grupama*



**Grafik 4.** MAP prema grupama

Međugrupna poređenja sistolnog, dijastolnog i srednjeg arterijskog pritiska su prikazana u Tabeli 4. Nađeno je da su srednje vrednosti sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska, kao i MAP bile statistički značajno više u grupi primarni aldosteronizam u odnosu na grupu afunkcionih tumora ( $p=0,004$ ;  $p=0,002$ ;  $p=0,001$ , redom). Nije bilo značajnih razlika poređenjem drugih grupa.

**Tabela 4.** Međugrupno poređenje SKP, DKP i MAP

Parametar	Medugrupno poređenje*		
	PA vs. Af tu	PA vs. SCS+CS	Af tu vs. SCS+CS
SKP, mmHg	0,004	0,127	0,751
DKP, mmHg	0,002	0,114	0,659
MAP	0,001	0,080	0,654

\*međugrupno poređenje izvedeno Tuckey posthoc metodom (prikazane su p vrednosti)

Međugrupno poređenje za varijablu trajanje hipertenzije prikazano je u Tabeli 5. Nađeno je da je hipertenzija statistički značajno duže trajala u grupi primarni aldosteronizam nego kod osoba sa hiperkortizolizmom, grupa SCS+CS (med 120 vs 60 meseci) ( $p=0,001$ ).

**Tabela 5.** Međugrupno poređenje trajanja hipertenzije

Medugrupno poređenje za trajanje hipertenzije*		
PA vs. Af tu	PA vs. SCS+CS	Af tu vs. SCS+CS
0,120	0,001	0,205

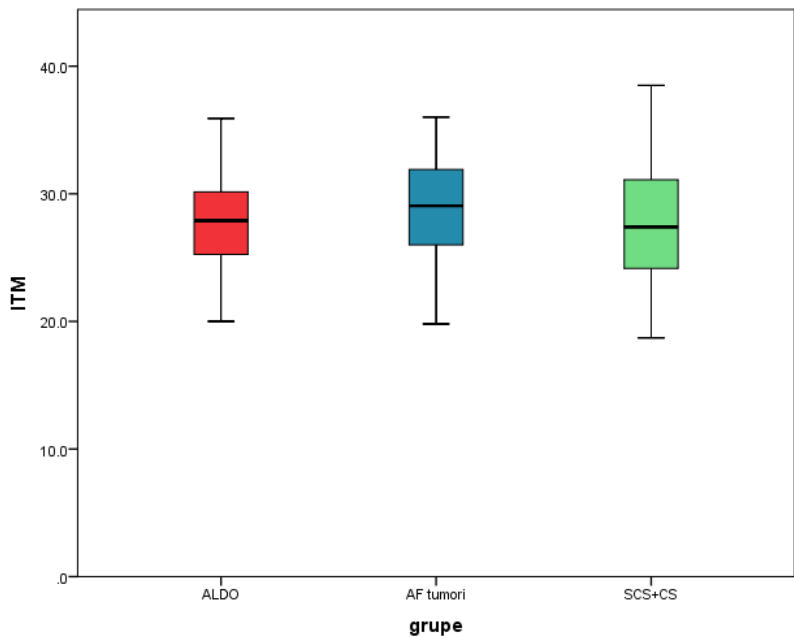
\*za statističku značajnost od 0,05 Mann Whitney test

Antropometrijski podaci ispitanika prikazani su u Tabeli 6. Nije bilo značajnih razlika u srednjim vrednostima izmerene telesne mase, telesne visine, indeksa telesne mase (ITM) i obima struka, Grafik 5 i 6.

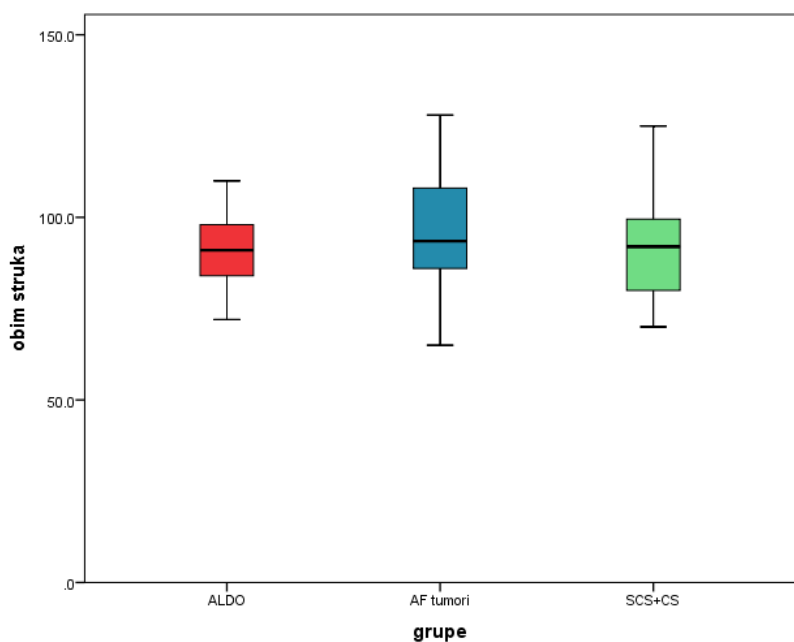
**Tabela 6.** Antropometrijski podaci ispitanika

Pokazatelj	Ukupno	Grupe			p*
		PA	Af tu	SCS+CS	
TM, kg	80,61±17,63	79,88±15,86	83,57±20,57	75,53±12,26	0,255 <sup>§</sup>
TV, cm	167,02±13,86	169,65±9,81	165,81±18,41	165,42±5,64	0,446 <sup>§</sup>
ITM, kg/m <sup>2</sup>	28,07±4,48	27,72±4,57	28,53±4,04	27,68±5,30	0,690 <sup>§</sup>
Obim struka, cm	92,88±13,47	90,73±10,61	94,72±13,95	92,37±16,38	0,468 <sup>§</sup>

\*za statističku značajnost od 0,05 <sup>§</sup>Jednofaktoska ANOVA



**Grafik 5.** Indeks telesne mase prema grupama



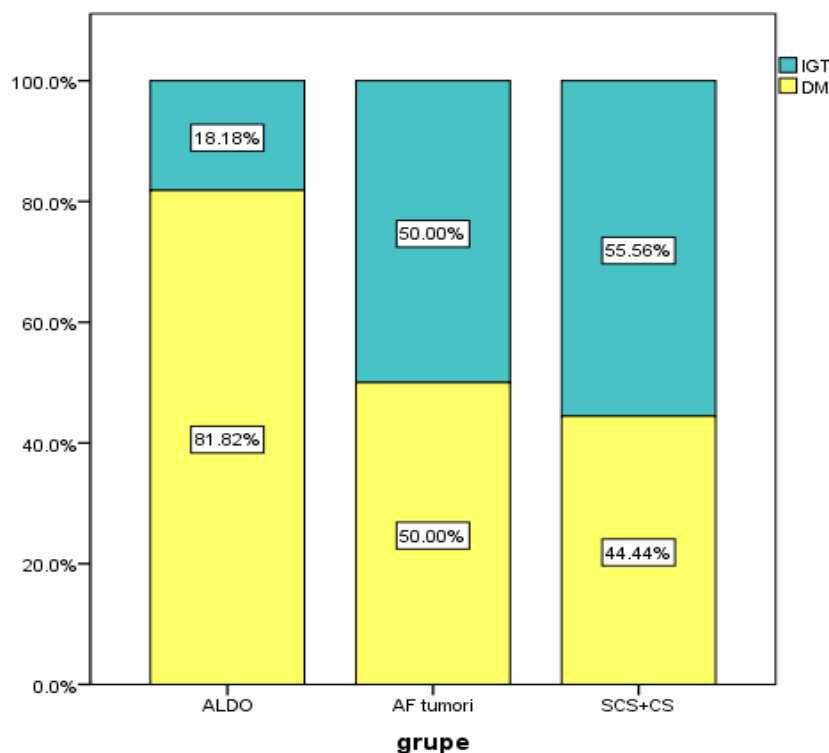
**Grafik 6.** Obim struka prema grupama

Karakteristike glikoregulacije su procenjivane na osnovu jutarnjih glikemija i postojanja poremećaja tipa intolerancija glukoze i dijabetes melitus, Tabela 7. Nisu nađene statistički značajne razlike među grupama u srednjim vrednostima glikemije, niti u zastupljenosti posmatranih poremećaja glikoregulacije (Grafik 7).

**Tabela 7.** Karakteristike glikoregulacije

Parametar	Ukupno	Grupe			p*
		PA	Af tu	SCS+CS	
Glikemija, mmol/L	5,33±1,11	5,32±1,18	5,25±1,02	5,48±1,17	0,745 <sup>§</sup>
Intolerancija glukoze, n (%)	17 (60,7)	9 (81,8)	4 (50,0)	4 (44,4)	0,179 <sup>£</sup>
Diabetes mellitus, n (%)	11 (39,3)	2 (18,2)	4 (50,0)	5 (55,6)	

\*za statističku značajnost od 0,05 <sup>§</sup>Jednofaktoska ANOVA <sup>£</sup>Fišerov test tačne verovatnoće



**Grafik 7.** Zastupljenost intolerancije na glukozu i dijabetes melitusa prema grupama

Parametri metabolizma masti su prikazani u Tabeli 8. Ispitivane grupe se nisu statistički značajno razlikovale ni prema jednom od ispitivanih parametara metabolizma masti (ukupan holesterol, LDL holesterol, HDL holesterol, trigliceridi i LAP).

**Tabela 8. Parametri metabolizma masti**

Parametar SV±SD ili med (min-max)	Ukupno	Grupe			p*
		PA	Af tu	SCS+CS	
Holesterol, mmol/l	5,94±1,22	5,65±1,11	6,04±1,12	6,20±1,51	0,460 <sup>§</sup>
LDL, mmol/l	3,78±1,03	3,62±0,91	3,91±0,97	3,83±1,32	0,547 <sup>§</sup>
HDL, mmol/l	1,37±0,39	1,34±0,38	1,32±0,39	1,51±0,39	0,166 <sup>§</sup>
Trigliceridi, mmol/l	1,80 (0,5-8,9)	1,60 (0,5-8,9)	1,70 (0,8-5,6)	2 (0,7-3,0)	0,310 <sup>€</sup>
LAP	48,10 (9,1-240,8)	41,6 (15,5-159,1)	52,75 (9,1-240,8)	55,1 (9,6-201,0)	0,638 <sup>€</sup>

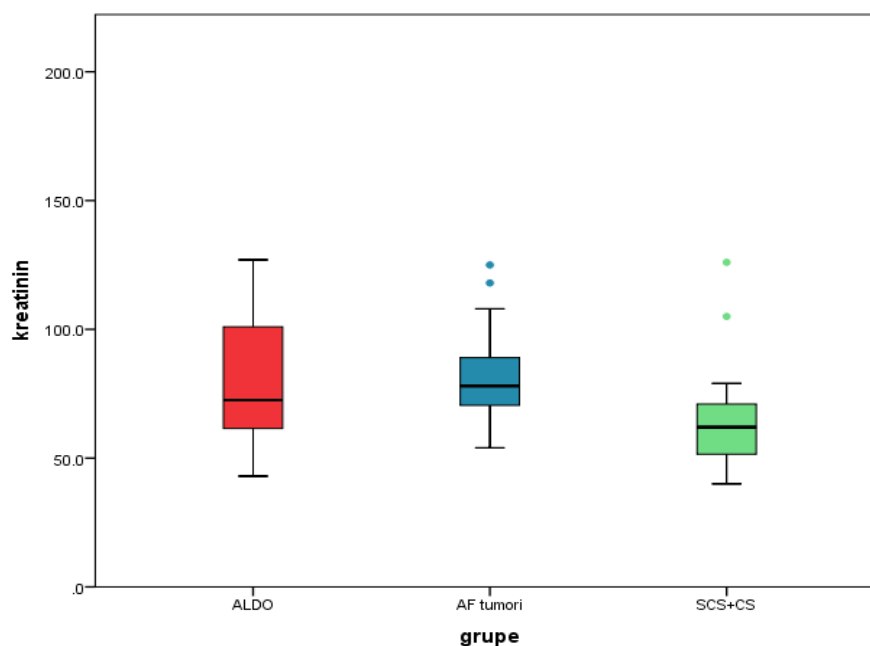
\*za statističku značajnost od 0,05 <sup>§</sup>Jednofaktoska ANOVA <sup>€</sup>Kruskal-Wallis test

Pokazatelji bubrežne funkcije su prikazani u Tabeli 9. Nađena je statistički značajna razlika među grupama u srednjim vrednostima serumskog kreatinina (p=0,027). Najviše vrednosti su bile u grupi primarni aldosteronizam, najniže u grupi sa Kušingovim sindromom, Grafik 8.

**Tabela 9. Pokazatelji bubrežne funkcije**

Pokazatelj	Ukupno	Grupe			p*
		PA	Af tu	SCS+CS	
Urea, mmol/l (SV±SD)	5,37±1,71	5,33±1,91	5,37±1,60	5,44±1,58	0,973 <sup>§</sup>
Kreatinin, mmol/l (SV±SD)	78,05±24,96	81,87±31,70	80,87±16,08	64,75±20,47	<b>0,027<sup>§</sup></b>
Klirens kreatinina (SV±SD)	89,65±25,25	91,38±29,33	86,77±20,42	92,01±26,10	0,650 <sup>§</sup>
Proteinurija, g/24h med (min-max)	0,116 (0,005- 1,633)	0,161 (0,005- 1,633)	0,084 (0,005- 0,672)	0,124 (0,046- 0,276)	0,107 <sup>€</sup>
Mikroalbuminurija, g/24h - med (min-max)	0,030 (0,001- 0,789)	0,041 (0,001- 0,789)	0,009 (0,002- 0,498)	0,004 (0,003- 0,006)	0,060 <sup>€</sup>

\*za statističku značajnost od 0,05 <sup>§</sup>Jednofaktoska ANOVA <sup>€</sup>Kruskal-Wallis test



**Grafik 8.** Kreatinin u serumu prema grupama

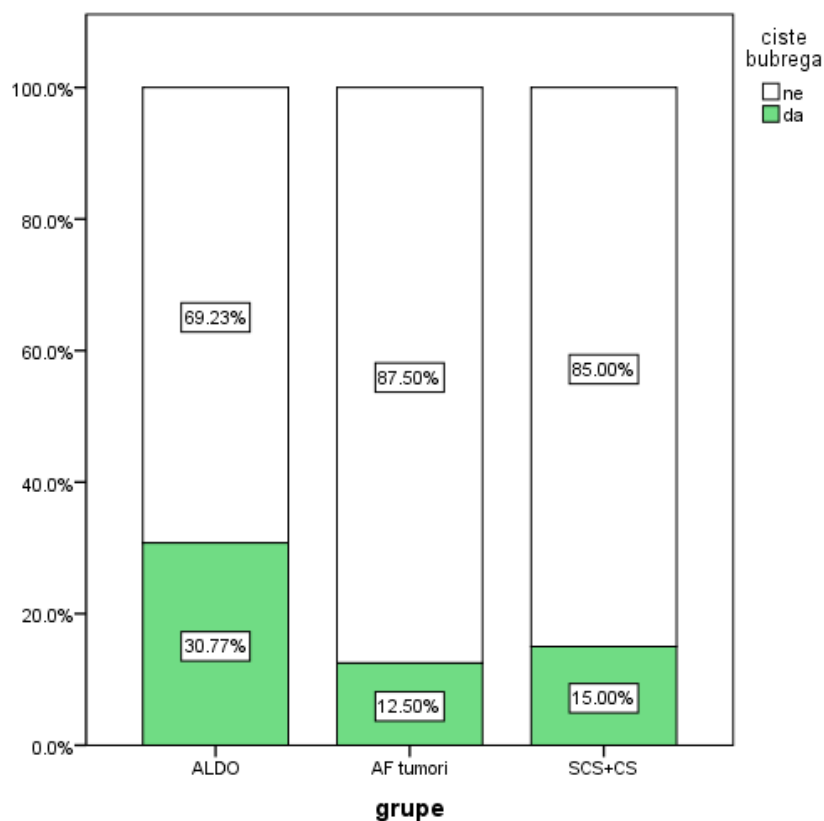
Međugrupno poređenje za varijablu vrednost kreatinina prikazano u Tabeli 10 pokazalo je da je statistička značajnost razlika u srednjim vrednostima prisutna između grupa primarni aldosteronizam i SCS+CS, kao i između grupa afunkcioni tumori i SCS+CS. Dakle, u grupi pacijenata sa hiperkortizolizmom nađene su značajno niže vrednosti kreatinina u odnosu na ostale dve grupe.

**Tabela 10.** Međugrupno poređenje vrednosti serumskog kreatinina

Međugrupno poređenje za vrednost kreatinina*		
PA vs. Af tu	PA vs. SCS+CS	Af tu vs. SCS+CS
0,982	0,031	0,045

\*međugrupno poređenje izvedeno Tuckey posthoc metodom (prikazane su p vrednosti)

Procenat ispitanika koji su imali renalne ciste viđene CT pregledom za svaku od analiziranih grupa prikazan je na Grafiku 10. Renalne ciste su bile najčešće u grupi PA (30,8%), zatim u grupi SCS+CS (15%), a najređe u grupi afunkcioni tumori (12,5%). Iako nije nađena značajna razlika među grupama ( $p=0,105$ ), međugrupnim poređenjem su osobe iz PA grupe imale značajno češće renalne ciste nego iz grupe afunkcioni tumori (PA vs Af tu  $p=0.048$ ; PA vs SCS+CS  $p=0.188$ ; Af tu vs SCS+CS  $p=0.788$ ). Takođe, međugrupnim poređenjem je nađeno da je stepen mikroalbuminurije značajno veći samo u grupi PA u odnosu na SCS+CS ( $p=0.028$ ); (Af tu vs SCS+CS  $p=0.066$ ; PA vs Af tu  $p=0.335$ ).



**Grafik 10.** Prisustvo renalnih cisti u grupama

Nije bilo statistički značajne razlike među grupama u pojedinačno posmatranim parametrima prisustva većih kardiovaskularnih događaja i renalne insuficijencije. Nađena je samo veća tendencija za atrijalnu fibrilaciju u grupi PA (PA 15%, Af tu 5%, CS+SCS 0% redom,  $p=0.087$ ). Takođe neznatno više pojave cerebrovaskularnog insulta (PA 7.5%, Af tu 2.5%, CS+SCS 5%,  $p=0.591$ ) i akutnog miokardnog infarkta (PA 7.5%, Af tu 5%, CS+SCS 0%,  $p=0.454$ ). Hronična renalna insuficijencija je bila česta u sve tri grupe hipertenzivnih (PA 20%, Af tu 17.5%, CS+SCS 15%,  $p=0.808$ ). Drugi parametri kao angina pectoris, hronična srčana insuficijencija i aortna aneurizma nisu imale specifičnu distribuciju u grupama. Nije rađena analiza zastupljenosti grupisanih kardiovaskularnih događaja. U PA su sve kardiovaskularne bolesti bile prisutne kod osoba  $\geq 45$  godina (22 osobe). Ishod tri trudnoće sa PA su mrtvorodeni blizanci i 2 zdrava novorođenčeta, sve završene pre termina zbog preeklapsije (27-38 nedelja).

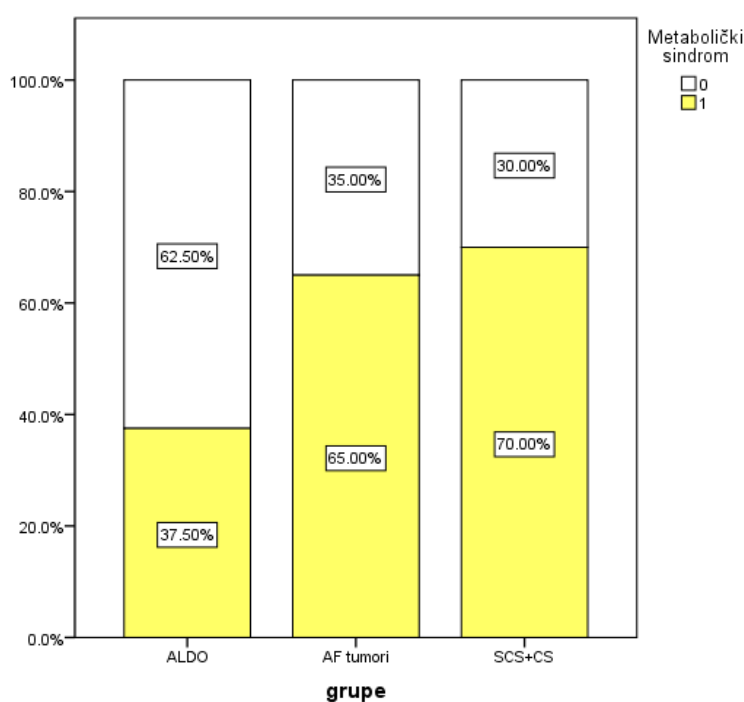
Analiza prisustva metaboličkog sindroma prikazana je u Tabeli 11. Metabolički sindrom je bio prisutan kod 55% od svih slučajeva sa adrenokortikalnim tumorom. Najčešći je bio u grupi tumora sa hiperkortizolizmom (70%), zatim slično u grupi afunkcionih tumora (65%), a najređi u grupi PA (37.5%) ( $p=0,015$ ), Grafik 11. Međugrupnim poređenjem je potvrđeno značajno ređe prisustvo metaboličkog sindroma u PA (PA vs SCS+CS  $p=0.018$ ; PA vs Af tu  $p=0.014$ ), dok između grupa Af vs SCS+CS nije bilo značajne razlike ( $p=0.699$ ). Za razliku od zastupljenosti metaboličkog sindroma, broj komponenti koji je prisutan u studijskim grupama se nije statistički značajno razlikovao ( $p=0,157$ ). U grupi primarni aldosteronizam je srednji broj komponenti iznosio 2 (1-5), u grupi afunkcionih tumora 3 (1-5), i u grupi Kušingov sindrom 3 (1-5).



**Tabela 11.** Prisustvo metaboličkog sindroma u studijskim grupama

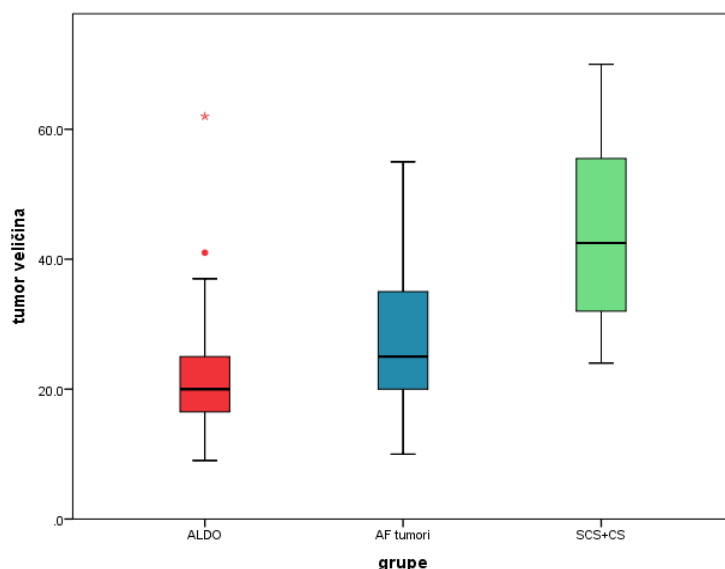
Prisustvo metaboličkog sindroma	Ukupno	Grupe			p*
		PA	Af tu	SCS+CS	
Da	55 (55.0)	15 (37.5)	26 (65.0)	14 (70.0)	0.015
Ne	45 (45.0)	25 (62.5)	14 (35.0)	6 (30.0)	

\*za statističku značajnost od 0,05 - Hi kvadrat test



**Grafik 11.** Zastupljenost metaboličkog sindroma prema grupama

Veličina tumora kod ispitanika u sve tri studijske grupe prikazana je na Grafiku 12. Pokazano je da najveće tumore imaju ispitanici u grupi sa Kušingovim sindromom ( $SV \pm SD$ )  $44,75 \pm 14,04$  mm, zatim sa afunkcionim tumorom  $27,92 \pm 9,52$  mm, a najmanje tumore su imali ispitanici sa primarnim aldosteronizmom  $22,15 \pm 9,70$  mm. Ova razlika je ujedno bila i statistički značajna  $p < 0,001$ . Međugrupnim poređenjem je potvrđeno da je ova razlika bila statistički značajna unutar svakog para tj. PA vs Af tu  $p = 0,044$ , PA vs SCS+CS  $p < 0,001$ , kao i Af tu vs SCS+CS  $p < 0,001$ . Isključivanjem iz analize dve osobe sa tumorima mešane sekrecije kao najvećim iz grupe PA značajnost razlika se nije menjala. CT pregled je u 11.4% ispitanika pokazao prisustvo adenoma a da je PH nalaz bio nodularna hiperplazija. U jednom od tih slučajeva je rađeno AVS, ali je tumačenje nalaza ka bilateralnoj sekreciji bilo otežano nejednakim pristupom katetera mestu za uzorkovanje. Nakon ponovljenog CT i MR pregleda učinjena je adrenalektomija na strani viđenog tumora.



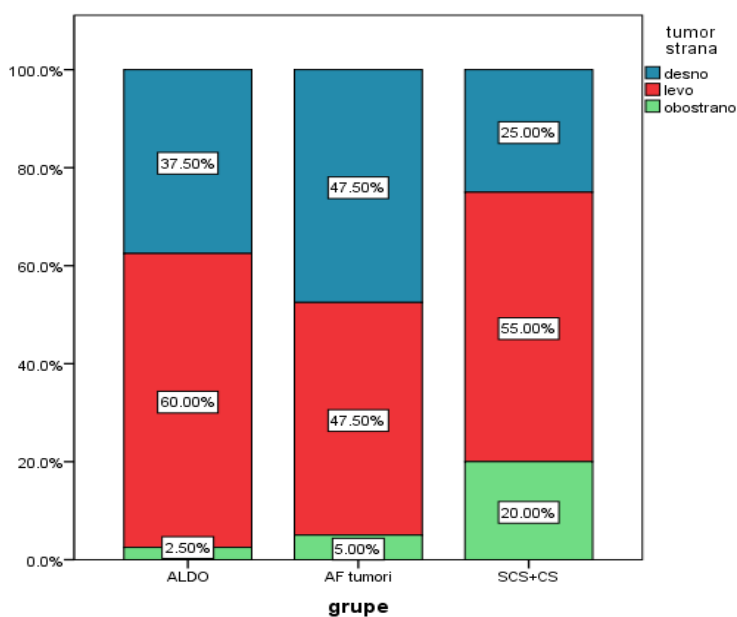
**Grafik 12.** Veličina tumora prema grupama

Na osnovu CT (MR) pregleda nadbubrežnih žlezda, tumori su češće nađeni levo u grupama PA i SCS+CS, ali je razlika bez statističkog značaja, dok su leva i desna strana ravnomerno bile zastupljene u grupi afunkcionih tumora. Distribucija strane na kojoj je tumor bio prisutan prikazana je u Tabeli 12 i na Grafiku 13.

**Tabela 12.** Strana na kojoj je tumor bio lokalizovan

Položaj tumora n (%)	Ukupno	Grupe			p*
		PA	Af tu	SCS+CS	
Levo	54 (54,0)	24 (60,0)	19 (47,5)	11 (55,0)	0,073
Desno	39 (39,0)	15 (37,5)	19 (47,5)	5 (25,0)	
Obostrano	7 (7,0)	1 (2,5)	2 (5,0)	4 (25,0)	

\*za statističku značajnost od 0,05 Hi kvadrat test



**Grafik 13.** Lokalizacija tumora nadbubrega prema grupama

Poređenje posturalnog nivoa aldosterona u serumu, PRA i kortizola nakon deksametazonskog testa sa 1 mg prikazano je u Tabeli 13. Posthoc analiza sa međugrupnim poređenjem je prikazana u Tabeli 14. Nivo aldosterona je bio statistički značajno viši, a nivo PRA značajno najniži u grupi pacijenata sa primarnim aldosteronizmom ( $p < 0,001$ ), Grafik 14, 15. Međugrupnim poređenjem je potvrđeno da je razlika u nivou aldosterona bila statistički značajna među grupama PA i Af tu  $p < 0,001$ , PA i SCS+CS  $p < 0,001$ . Međugrupnim poređenjem je takođe nađena statistički značajna razlika u nivou PRA između navedenih grupa ( $p < 0,001$  za oba poređenja). Nivo kortizola nakon deksametazonskog testa je bio statistički značajno viši u grupi sa Kušingovim sindromom ( $p < 0,001$ ), Grafik 16. Međugrupnim poređenjem je pokazano da je ova razlika bila statistički značajna među grupama PA i SCS+CS  $p < 0,001$ , kao i grupama afunkcioni tumori i SCS+CS ( $p < 0,001$ ).

**Tabela 13.** Nivoi hormona prema grupama

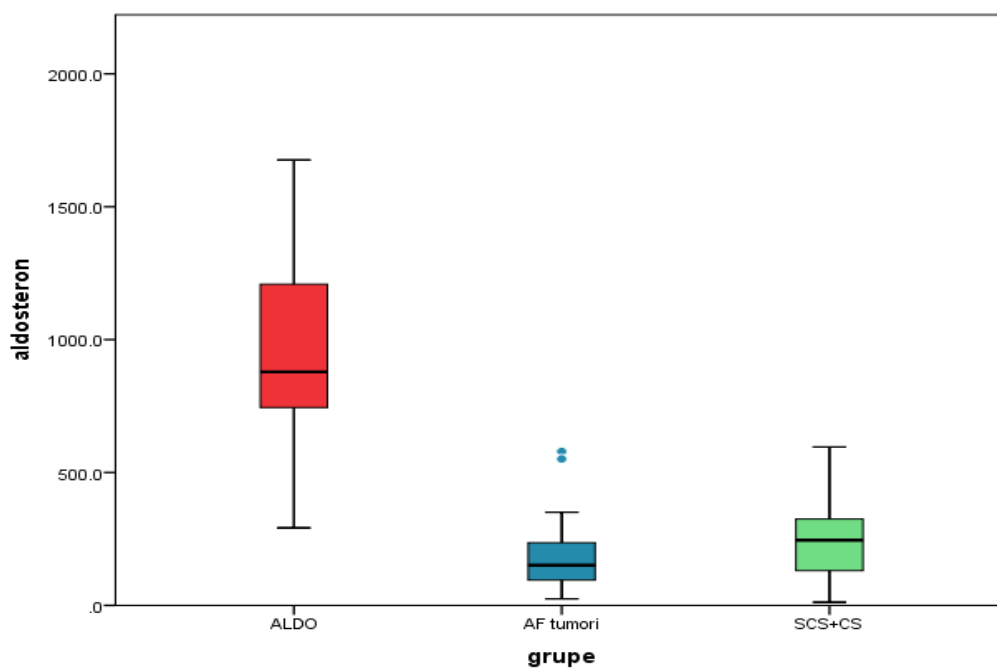
Med (Q1-Q3)	Ukupno	Grupe			p
		PA	Af tu	SCS+CS	
Aldosteron (ng/L)	307,5 (134,0-808,0)	878,65 (743,87-1225,25)	151,35 (93,0-239)	245,1 (128,5-329,7)	<0,001 <sup>‡</sup>
PRA ng/ml/h	0,49 (0,275-1,685)	0,28 (0,2-0,39)	1,35 (0,5-2,37)	1,57 (0,57-2,89)	<0,001 <sup>‡</sup>
Kortizol nakon 1mg of Dex (nmol/L)	44,5 (31,7-80,9)	42,75 (34,4-51,7)	35,60 (22,5-48,0)	418,30 (211,9-629)	<0,001 <sup>‡</sup>

\*za statističku značajnost od 0,05 <sup>‡</sup>Kruskal-Wallis test

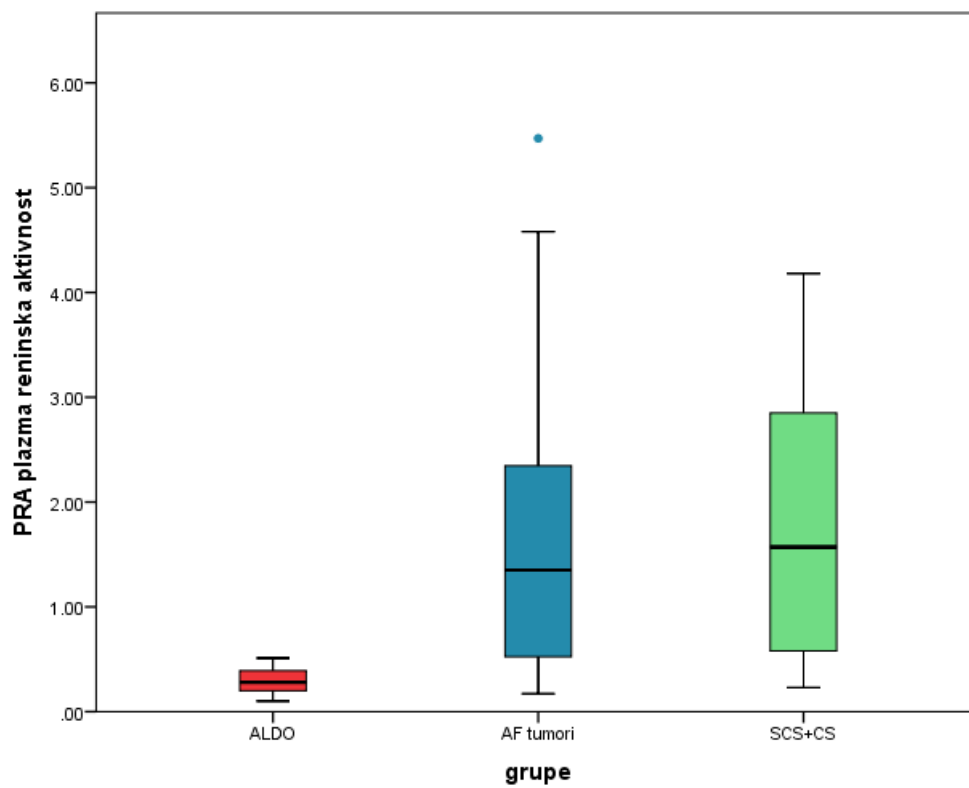
**Tabela 14.** Međugrupno poređenje nivoa aldosterona, PRA i kortizola prema grupama

	PA vs Af tu	PA vs SCS+CS	Af tu vs SCS+CS
Aldosteron (ng/L)	<0,001	<0,001	0,094
Kortizol nakon 1mg dekso (nmol/L)	0,084	<0,001	<0,001
PRA ng/ml/h	<0,001	<0,001	0,574

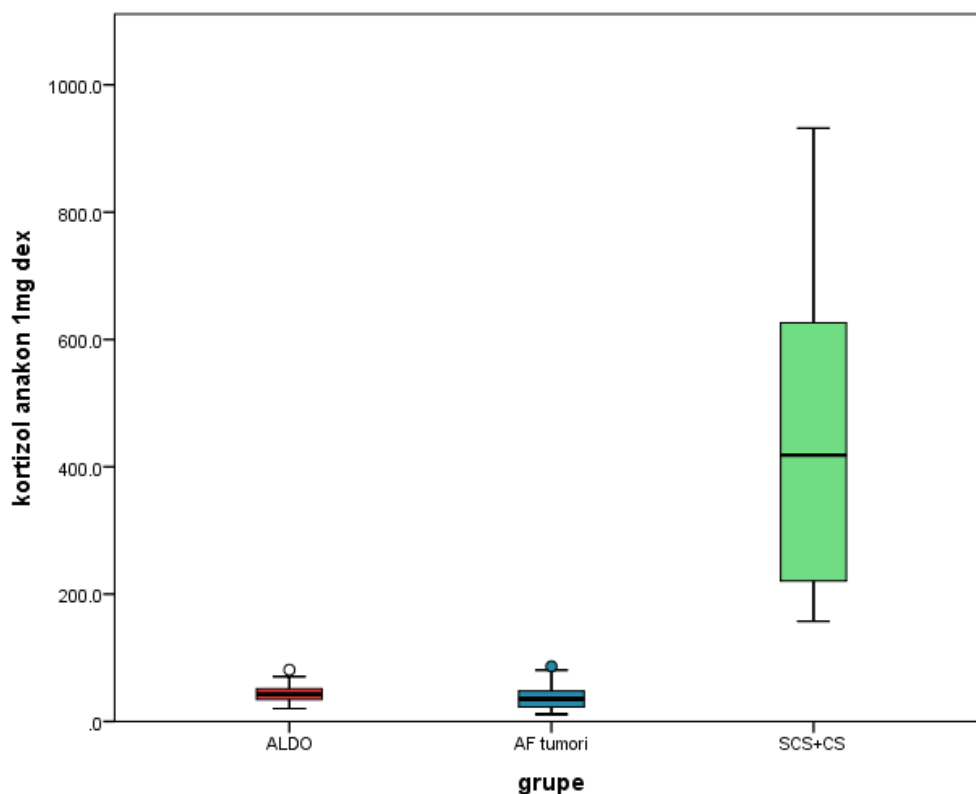
\*za statističku značajnost od 0,05 Mann Whitney test



**Grafik 14.** Nivo aldosterona prema grupama



**Grafik 15.** Nivo PRA prema grupama



**Grafik 16.** Nivo kortizola nakon deksametazonskog testa

Poređenje vrednosti kalijuma i trajanja hipokalemije je prikazano u Tabeli 15, a međugrupna poređenja su prikazana u Tabeli 16. Srednje vrednosti serumskog kalijuma su bile statistički značajno najniže u grupi pacijenata sa primarnim aldosteronizmom. Međugrupnim poređenjem je potvrđeno da je razlika u nivoima kalijuma bila statistički značajna među grupama PA vs Af tu ( $p < 0,001$ ) i PA vs SCS+CS ( $p < 0,001$ ). U grupama sa afunkcionim tumorima i Kušingovim sindromom je bilo po tri ispitanika sa hipokalemijom. Nije bilo statistički značajne razlike u trajanju hipokalemije među grupama. U grupi PA se hipokalemija prezentovala u jednom slučaju starije osobe akutnim respiratornim arestom, a kod četvero mlađih kvadriparezom (2) i paraparezom (2).

**Tabela 15.** Vrednosti kalijuma i trajanje hipokalemije u grupama

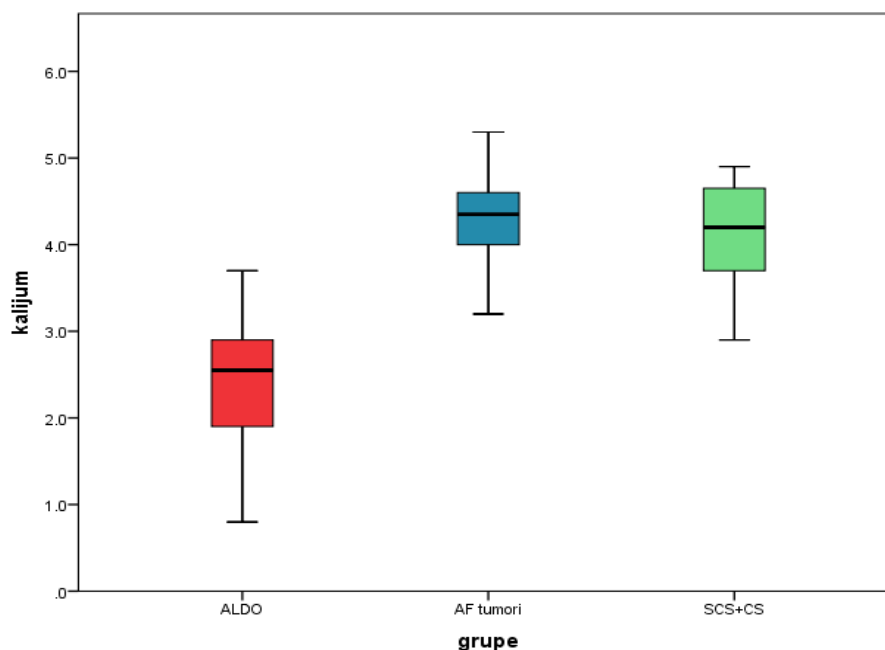
SV±SD i med (Q1-Q3)	Ukupno	Grupe			P*
		PA	Af tu	SCS+CS	
K (mmol/L)	3,48 (1,09)	2,41 (0,77)	4,24 (0,51)	4,11 (0,60)	<0,001 <sup>§</sup>
Trajanje hipokalemije (meseci)	12 (6-39)	12 (6-48)	6 (6-15)	6 (4,5-9)	0,391 <sup>‡</sup>

\* za statističku značajnost od 0,05 <sup>§</sup>ANOVA test <sup>‡</sup>Kruskal-Wallis test

**Tabela 16.** Međugrupno poređenje vrednosti kalijuma

	PA vs Af tu	PA vs SCS+CS	Af tu vs SCS+CS
K (mmol/L)	<0,001	<0,001	0,760

\* međugrupno poređenje izvedeno Tuckey posthoc metodom (prikazane su p vrednosti)



**Grafik 17.** Vrednosti kalijuma u grupama

Od ukupnog broja analiziranih učesnika u ovoj studiji operisano je 57 (57%). U grupi sa primarnim aldosteronizmom je urađena adrenalektomija kod 35 pacijenata (87.5%), klasičnom operacijom kod 14 i laparoskopski kod 21 pacijenta. Pet osoba je nastavilo lečenje antagonistima mineralokortikoidnih receptora. Razlozi neoperisanja do vremena formiranja analizirane grupe ispitanika su bili uglavnom vezani za komorbiditete, ređe lični. U kontrolnoj grupi sa hiperkorticizmom je operisano 19 osoba, tri klasičnom operacijom i 16 laparoskopski. U grupi afunkcionih tumora operisana su samo tri pacijenta (klasično). U Tabeli 17 prikazana je učestalost primene operativnog lečenja u celoj grupi i u pojedinim grupama, kao i prosečan vremenski period (u mesecima) od potvrde prisustva adrenalnog tumora do operativnog lečenja za pacijente koji su lečeni hiruški. Međugrupna poređenja koja se odnose na učestalost operativnog lečenja i perioda prisustva tumora pre operacije prikazana u Tabeli 18. Statistički značajno češće su tumori nadbubrega operisani u grupi pacijenata sa primarnim aldosteronizmom i grupi sa kliničkim i subkliničkim Kušingovim sindromom ( $p < 0,001$ ). Međugrupno poređenje je pokazalo da je razlika u učestalosti operativnog lečenja bila statistički značajna između grupa sa hipersekretornim tumorima (PA i SCS+CS) u odnosu na grupu afunkcionih tumora ( $p < 0,001$ ). Prirustvo tumora pre operacije je bilo najkraće u grupi pacijenata sa kliničkim i subkliničkim Kušingovim sindrom ( $p = 0,042$ ). Međugrupnim poređenjem pokazano je da je razlika bila statistički značajna samo između grupa Af tu vs. SCS+CS ( $p = 0,004$ ), ali ne i u odnosu na PA grupu. Prosečan period prisustva adrenalnog tumora do operacije u pojedinim grupama prikazan je na Grafiku 18.

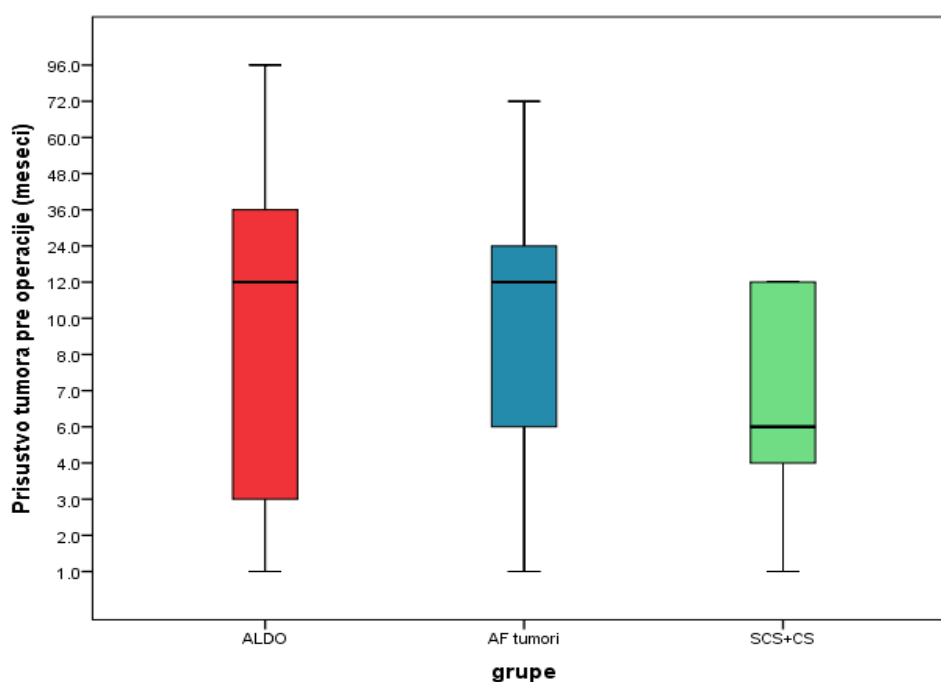
**Tabela 17.** Učestalost operativnog lečenja i period prisustva tumora pre operacije u grupama

med (Q1-Q3)	Ukupno	Grupa			p
		PA	Af tu	SCS+CS	
Operacija, n (%)	57 (57,0)	35 (87,5)	3 (7,5)	19 (95,0)	<0,001 <sup>£</sup>
Bez operacije, n (%)	43 (43,0)	5 (12,5)	37 (92,5)	1 SCS (5,0)	
Prisustvo tumora pre operacije (meseci)	12 (4-24)	12 (3-36)	12 (6-24)	7 (3,25-12)	0,042 <sup>¥</sup>

\*za statističku značajnost od 0,05 <sup>£</sup>Hi kvadrat test <sup>¥</sup>Kruskal-Wallis test

**Tabela 18.** *Međugrupno poređenje učestalosti operativnog lečenja i perioda prisustva tumora*

	PA vs. Af tu	PA vs. SCS+CS	Af tu vs. SCS+CS
Broj operisanih pacijenata	<b>&lt;0,001</b>	0,825	<b>&lt;0,001</b>
Prisustvo tumora pre operacije (mesece)	0,635	0,113	<b>0,004</b>



**Grafik 18.** *Period prisustva tumora pre operacije u grupama*

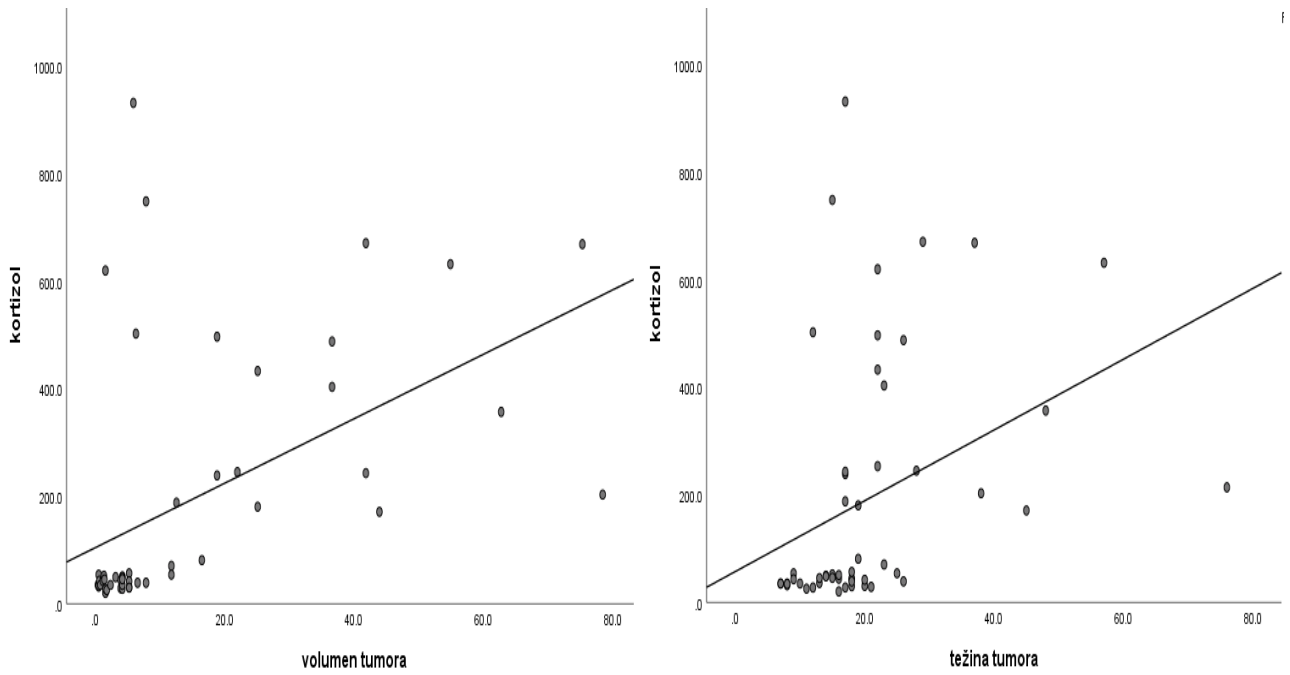
Na Tabeli 19. prikazane su najvažnije kliničke i laboratorijske karakteristike operisanih pacijenata iz grupe hipersekretornih adrenalnih tumora sa primarnim aldosteronizmom i hiperkortizolizmom. Učestalost oboljevanja žena je statistički značajnija samo u grupi SCS+CS. Dužina trajanja hipertenzije od dijagnostikovanja do operativnog lečenja je bila značajno kraća u grupi SCS+CS pacijenata. MAP i dijastolni krvni pritisak su bili značajno viši u grupi PA. Razlika u visini sistolnog krvnog pritiska je bila bliska konvencionalnom nivou statističke značajnosti. Nivo serumskog kalijuma je bio statistički značajno niži u grupi PA. Nije bilo značajne razlike u vrednostima srčane frekvence među grupama. Takođe, nije uočena statistički značajna razlika među grupama što se tiče BMI, obima struka i starosne distribucije.

**Tabela 19.** Kliničke karakteristike operisanih pacijenata sa hipersekretornim adrenalnim tumorima

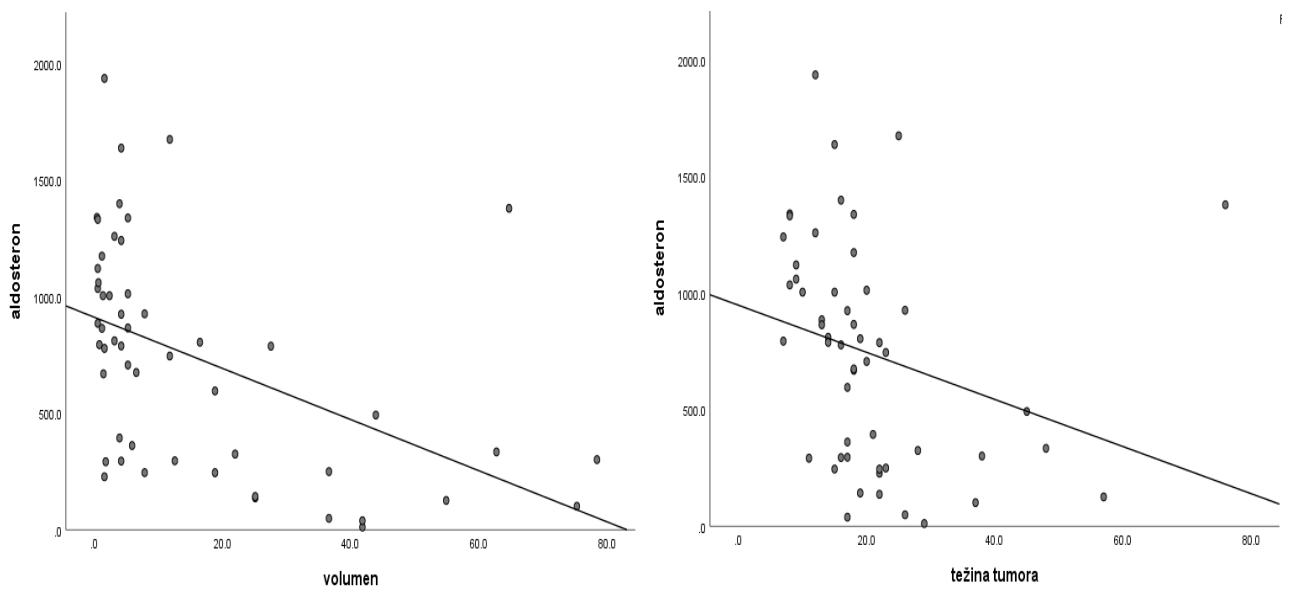
		PA (n=35) mean±sd	SCS+CS (n=19) mean±sd	P
Starost (godine)		49,3 ± 11,8	51,3 ± 13,2	0,576
Pol, n (%)	muškarci	13 (37,1)	2 (10,5)	0,037
	žene	22 (62,9)	17 (89,5)	
Dijagnoza, n (%)	PA	33 (94,3)	0 (0)	NA
	PA i SCS	2 (5,7)	0 (0)	
	CS	0 (0)	10 (52,6)	
	SCS	0 (0)	9 (47,4)	
Trajanje hipertenzije, mean±sd		11,6 ± 6,2	6,5 ± 6,7	0,007
MAP, mean±sd		145,6 ± 18,5	133,2 ± 21,9	0,032
Sistolni krvni pritisak, mean±sd		198,6 ± 23,2	182,9 ± 37,2	0,062
Diastolni krvni pritisak, mean±sd		119,1 ± 19,3	108,4 ± 16,7	0,046
Srčana frekvencija, mean±sd		73,9 ± 9,5	74,4 ± 9,6	0,876
BMI, mean±sd		27 ± 4,8	27,9 ± 5,2	0,538
Obim struka, mean±sd		88,8 ± 11,4	93,2 ± 16,5	0,277
Serumski kalijum, mean±sd		2,4 ± 0,8	4,1 ± 0,6	<0,001

U grupi operisanih pacijenata analiziran je odnos volumena tumora izračunatog na osnovu formule  $(a \times b \times c):2$  i nivoa adrenalnih hormona, serumskog aldosterona izmerenog posturalno i kortizola izmerenog u deksametazonskom testu sa 1mg. Odnos između težine tumora i volumena tumora sa adrenalnim hormonima pokazuje pozitivnu, umerenu korelaciju između nivoa kortizola i tumorskog volumena ( $r=0.684$ ,  $p<0.001$ ), kao i tumorske težine ( $r=0.543$ ,  $p<0.001$ ), Grafik 19. Kada su isključeni iz analize podaci za dva pacijenta sa PA i subkliničkim hiperkorticismom, odnosno sa tumorima koji sekretuju aldosteron i kortizol, ove korelacije ostaju značajne ( $r=0.502$ ,  $p<0.001$ ;  $r=0.442$ ,  $p<0.001$ ). Negativna, umerena korelacija je uočena između nivoa aldosterona i volumena tumora ( $r=-0.568$ ,  $p<0.001$ ), kao i težine tumora ( $r=-0.482$ ,  $p<0.001$ ), Grafik 20. Kada su isključeni iz analize podaci za dva pacijenta sa PA i subkliničkim hiperkorticismom, odnosno sa tumorima koji sekretuju aldosteron i kortizol, ove korelacije ostaju značajne ( $r=-0.585$ ,  $p<0.001$ ;  $r=-0.492$ ,  $p<0.001$ ).





**Grafik 19.** Korelacija težine i volumena tumora sa serumskim kortizolom



**Grafik 20.** Korelacija težine i volumena tumora sa serumskim aldosteronom

Na osnovu vrednosti serumskog aldosterona, PRA, kalijuma, minimalne i maksimalne veličine tumora na CT-u formiran je skor za preoperativnu predikciju primarnog aldosteronizma, rezultati su prikazani u Tabeli 20.

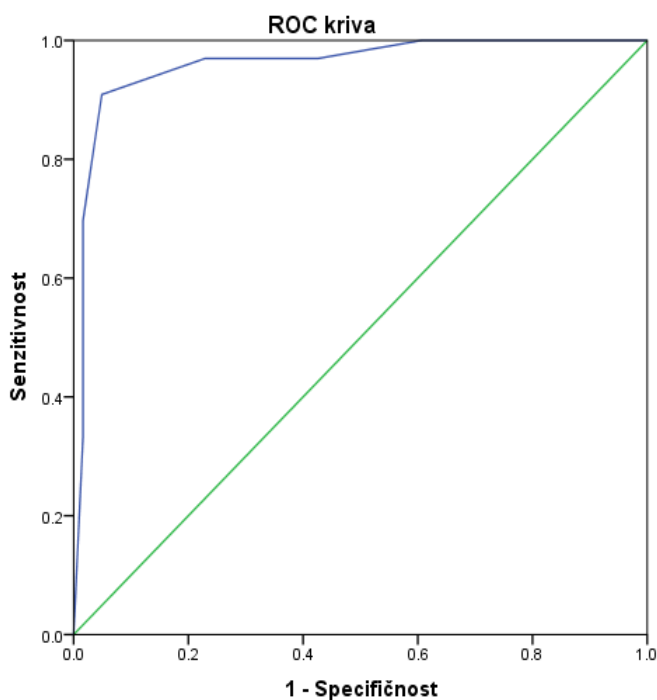
**Tabela 20.** Preoperativni skor za predikciju primarnog aldosteronizma

Poeni	1	2	3
<b>Aldosteron</b>	Donji opseg normalnog (97-273), donja 1/3	Srednji opseg normalnog (274-449), srednja 1/3	Gornji opseg i povišen (450 i više), gornja 1/3
<b>PRA</b>	Više od 1	0,1-1	0.1 (<0,1)
<b>K</b>	> 3,5	3-3,5	< 3
<b>Tu CT min</b>	> 2,5	1,5-2,5	<1,5
<b>Tu CT max</b>	> 3,5	2,5-3,5	< 2,5

Ispitivana je površina ispod krive preoperativnog skora u predikciji primarnog aldosteronizma, rezultati su prikazani u Tabeli 21. Skor je statistički značajan (površina ispod krive=0,960; p<0,001) za predikciju primarnog aldosteronizma (Grafik 21). *Cut off* vrednost (presečna vrednost) skora od 10 poena je imala senzitivnost 97% i specifičnost 77% za dijagnozu aldosteronizma.

**Tabela 21.** Površina ispod krive za preoperativni skor

	Površina ispod krive	P	95% CI	
			Donja granica	Gornja granica
Preoperativni skor	0.960	<0.001	0.918	1.000



**Grafik 21.** ROC kriva za preoperativni skor za predikciju primarnog aldosteronizma

Parametri vezani za patohistološki makroskopski i mikroskopski pregled tumora prezentovani su u Tabeli 22. Elementi opisa standardnog patohistološkog izveštaja vezanog za tumore nadbubrežne žlezde su izdvojeni i analizirani kao parametri od značaja, a predstavljeni su kao prisutni u opisu ili da nisu navedeni kao prisutni.

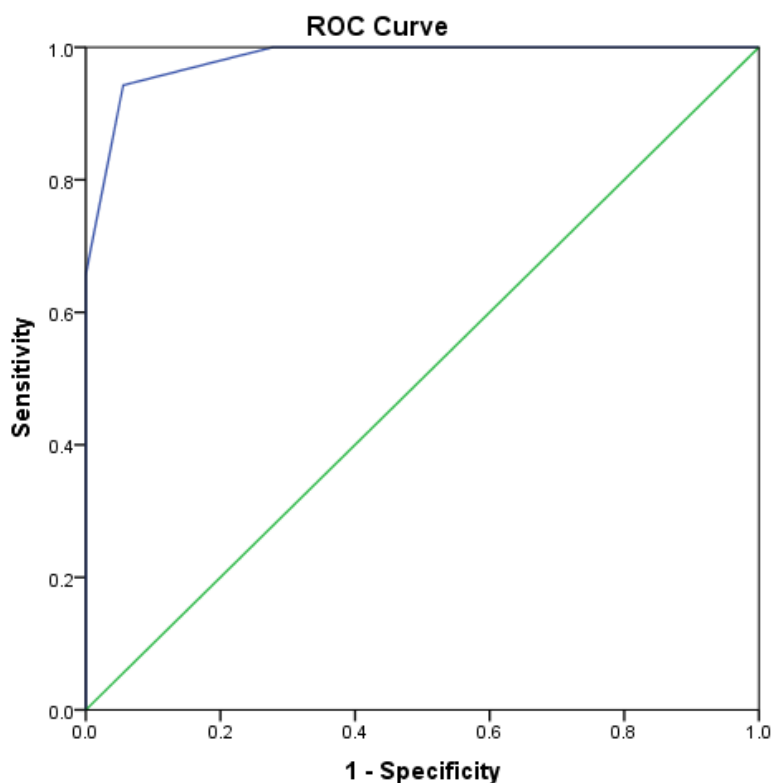
**Tabela 22.** Makroskopske i histopatološke karakteristike tumora

Odlike tumora i okolnog adrenalnog tkiva		PA (n=35) n (%)	SCS+CS (n=19) n (%)	p
Inkapsulacija tumora	nije naznačeno	10 (28,6)	1 (5,3)	0,042
	da	25 (71,4)	18 (94,7)	
Trabekularna građa	nije naznačeno	16 (45,7)	12 (63,2)	0,221
	da	19 (54,3)	7 (36,8)	
Alveolarna građa	nije naznačeno	7 (20)	11 (57,9)	0,005
	da	28 (80)	8 (42,1)	
Ćelije nalik zoni fascikulati	ne	9 (25,7)	0 (0)	0,025
	svetle	26 (74,3)	18 (94,7)	
	tamne	0 (0)	1 (5,3)	
Ćelije nalik zoni glomerulozi	ne	32 (91,4)	18 (94,7)	0,658
	da	3 (8,6)	1 (5,3)	
Kompaktne ćelije	ne	30 (85,7)	15 (78,9)	0,524
	da	5 (14,3)	4 (21,1)	
Hibridne ćelije	ne	14 (40)	15 (78,9)	0,006
	da	21 (60)	4 (21,1)	
Boja tumora	nije opisana	21 (60)	3 (15,8)	0,003
	žuta	14 (40)	15 (78,9)	
	tamno žuta	0 (0)	1 (5,3)	
Okolno tkivo	nije opisano	27 (77,1)	17 (89,5)	0,328
	hiperplazija	7 (20)	1 (5,3)	
	atrofija	1 (2,9)	1 (5,3)	
Prisustvo ćelijske atipije	ne	30 (85,7)	18 (94,7)	0,314
	da	5 (14,3)	1 (5,3)	
Prisustvo mitozu u ćelijama	ne	30 (85,7)	17 (89,5)	0,694
	da	5 (14,3)	2 (10,5)	
Elastičnost tumora	nije opisano	26 (74,3)	17 (89,5)	0,309
	elastičan	6 (17,1)	2 (10,5)	
	mek	3 (8,6)	0 (0)	
Prisustvo nodusa u okolnom tkivu	ne	33 (94,3)	17 (89,5)	0,519
	da	2 (5,7)	2 (10,5)	

Podaci vezani za naznaku postojanja inkapsulacije tumora su bili značajno češće prisutni u SCS+CS grupi. Ćelijska organizacija koja se opisuje kao karakteristična u adrenalnim tumorima je trabekularna i alveolarna. Prisustvo trabekularne organizacije se nije značajno razlikovalo među grupama, a alveolarni tip je bio značajno češće prisutan u opisu tumora PA grupe. Ćelije nalik zoni fascikulati su opisane kao dominantno prisutne i značajno zastupljenije u tumorima SCS i CS grupe.

Nije bilo značajne razlike u učestalosti prisustva ćelija nalik ZG i kompaktnih ćelija nalik ZR među grupama. Hibridne ćelije su bile značajno češće opisane kao prisutne u PA grupi. Boja tumora (žuta) je značajno češće navedena u opisu SCS i CS grupe. Analiziran je i upoređen opis okolnog, peritumorskog tkiva, prisustva eozinofilije, ćelijske atipije i mitoza. Nije nađeno da su postojale značajne razlike među grupama u pojavi peritumorske hiperplazije ili atrofije u nalazima gde je izgled opisan. Nije bilo značajne razlike u pojavi eozinofilije ispoljene u niskom procentu, kao ni u ćelijskoj atipiji i prisustvu mitoza, takođe oskudno zastupljenih i u niskom procentu opisa. Prisustvo nodusa u okolnom tkivu je registrovano u većem procentu u grupi SCS i CS, ali bez statističke značajnosti među grupama, Tabela 22.

Koristeći parametre dobijene patohistološkom analizom (volumen tumora i prisustvo hibridnih ćelija) i kombinovanjem sa izmerenim vrednostima aldosterona u serumu formiran je postoperativni klinički skor za primarni aldosteronizam. Prema volumenu tumora dodeljeno je 3 poena tumorima sa volumenom <10 ml, 2 poena tumorima sa volumenom 10-20 ml i 1 poen tumorima >20 ml. Prema nivou aldosterona, za nivo <500 ng/L dodeljen je 1 poen, za nivo 500-1000 ng/L dodeljeno je 2 poena i za nivo >1000 ng/L dodeljeno je 3 poena. Prisustvo hibridnih ćelija je bodovano sa 1 poenom, a odsustvo sa 0 poena. Skor je bio u rasponu između 0 i 6, sa značajnom ROC krivom (površina ispod krive=0.973,  $p<0.001$ ). *Cut off* vrednost (presečna vrednost) od 3.5 je imala senzitivnost 94.3% i specifičnost 94.4% za dijagnozu aldosteronizma, Grafik 22.



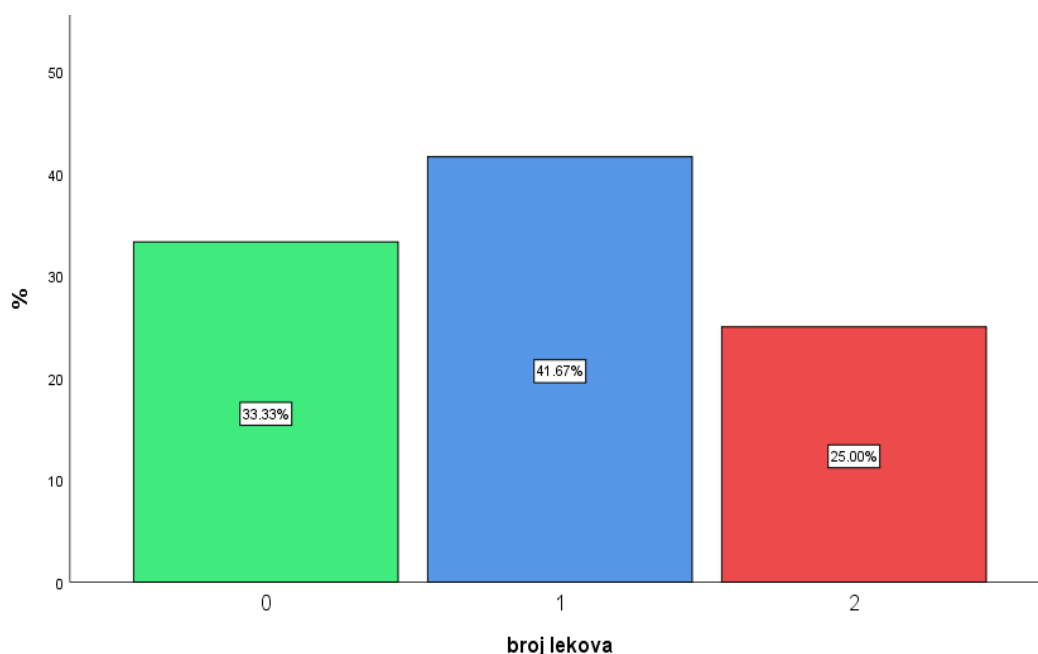
**Grafik 22.** ROC kriva postoperativnog skora za dijagnozu primarnog aldosteronizma

U Tabeli 23 prikazani su podaci vezani za praćenje pacijenata sa primarnim aldosteronizmom, krvni pritisak i serumski kalijum pre i u ranom postoperativnom periodu do mesec dana. Došlo je do statistički značajnog smanjenja u vrednostima sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska, kao i MAP nakon operacije. Nije bilo statistički značajne razlike u vrednostima srčane frekvence pre i nakon operacije. Nakon operacije, kod svih pacijenata je registrovan spontani oporavak serumskog kalijuma i dalje stabilno održavanje normokalemije bez terapijske intervencije. Razlika u srednjim vrednostima kalijuma pre i nakon operacije bila je statistički značajna. Broj lekova korišćenih za normalizaciju krvnog pritiska u postoperativnom periodu prikazan na Grafiku 23.

**Tabela 23.** Parametri vezani za praćenje grupe pacijenata operisanih zbog PA

Parametar	Pre operacije	Posle operacije	p*
SKP, mmHg	196,00 ± 23,51	135.1 ± 10	<0,001
DKP, mmHg	116,75 ± 19,24	83.2 ± 5.9	<0,001
MAP	143,17 ± 18,70	100.5 ± 6.9	<0,001
Frekvencu u min	74,05 ± 11,09	76.7 ± 5.9	0.077
Kalijum, mmol/L	2.37 ± 0.82	4.09 ± 0.31	<0,001

\*t test za vezane uzorke



**Grafik 23.** Broj lekova korišćenih za normalizaciju krvnog pritiska u postoperativnom periodu

Kasni postoperativni tok kod pacijenata operisanih zbog PA je praćen uvidom u medicinsku dokumentaciju (lekarski izveštaji za ambulantne kontrolne preglede i istorije bolesti za retestiranja u hospitalnim uslovima). Podaci vezani za održavanje normokalemije i dobru kontrolu krvnog pritiska uobičajenom antihipertenzivnom terapijom bili su dostupni za 24 osobe, dok je aldosteron kontrolisan kod samo 20 od njih, uglavnom u periodu 1-3 godine od operativnog lečenja. Kod jedne osobe se nakon dve godine od postignutog hirušskog izlečenja aldosteronizma ponovo javila hipertenzija i hipokalemija. Uz biohemijsku potvrdu aldosteronizma, CT pregledom je nađen tumor 25 mm u kontralateralnoj žlezdi. Operisani tumor iste veličine je patohistološki opisan kao nodularna hiperplazija, s maksimalnim nodusom 20 mm, AVS nije rađeno. Kod jedne neoperisane osobe registrovana je pojava tumora u kontralateralnoj žlezdi nakon dve godine od dijagnoze.

## 5. DISKUSIJA

U ovoj retrospektivnoj studiji analizirani su testovi korišćeni u dijagnostici primarnog aldosteronizma i karakteristike kliničke i biohemijske prezentacije koje su upoređene sa karakteristikama prezentovanja adrenokortikalnih tumora sa hiperkortizolizmom i afunkcionih praćenih esencijalnom hipertenzijom. Za odabir grupe sa primarnim aldosteronizmom korišćena je baza podataka Centra za endokrinu hirurgiju (CEH), KCS iz perioda 2007-2017. godine. U ovom najvećem centru u Srbiji godišnje se operiše oko 60 slučajeva tumora nadbubrežne žlezde, od čega je oko 10% PA, oko 30% Kušingov sindrom, oko 25% feohromocitom, a ostalo su afunkcioni tumori. Od 52 identifikovana pacijenta sa uputnom dijagnozom primarni aldosteronizam, 17 je isključeno zbog nedostatka podataka koji potvrđuju dijagnozu.

Za postavljenje dijagnoze primarnog aldosteronizma u grupi PA određivane su vrednosti aldosterona u serumu i plazma reninske aktivnosti (PRA) posturalno, odnos nivoa aldosteron: PRA, odgovor aldosterona u infuzionom testu i/ili kaptoprilskom testu. Iako se u prošlosti kod nas dosta koristio test oralnog opterećenja solju kao potencijalno manje rizičan za osobe sa značajnom hipertenzijom kakva se nalazi u PA, u posmatranom periodu nije korišćen ni u jednom slučaju. Uglavnom je napušten zbog dužine njegovog izvođenja. S druge strane, poštujući kontraindikacije, pokazalo se da je intravensko aplikovanje (infuzioni test) dosta bezbedno iako predstavlja akutno volumensko opterećenje (Rossi GP, PAPY 2007). Fludrokortizonski test je kod nas u prošlosti primenjivan sporadično, ne i kod ispitanika u ovoj studiji. Iako se ova četiri testa predlažu kao validna za potvrdu dijagnoze PA (Funder JW, 2008; Funder JW, 2016), skoro svaki centar koristi samo jedan do dva testa prema svom iskustvu i laboratorijskoj podršci.

Od 40 pacijenata koji su analizirani u ovoj studiji, povišen aldosteron posturalno ( $>626$  ng/L) je nađen kod 34 ispitanika (669.5-1937.8 ng/L). Na osnovu preporuka koje su date evropskim vodičima, nalaz povišenog aldosterona u serumu uz nisku ili suprimovanu PRA (renin) i hipokalemiju mogu biti dovoljni za postavljanje dijagnoze PA (Funder JW, 2008; Funder JW, 2016). Vrednosti aldosterona su najčešće bile značajno povišene kod naših ispitanika,  $>1000$  u 50% slučajeva, 900-1000 u 5.9% slučajeva, 800-900 u 17.6% slučajeva, 700-800 kod 20.6% osoba i povišene do 700 ng/L u 5.9% slučajeva. Samo šest osoba (15%) je imalo posturalni aldosteron u referentnim opsezima. Kod svih ispitanika je PRA bila dosta niska ili suprimovana ( $<0.1$  ng/ml/h). Osim što bi ovakav nalaz i za našu populaciju potvrdio opšte poznato gledište da je u APA (većinom zastupljen u grupi) aldosteron najčešće značajno povišen, moguće je da on odražava i kašnjenje u prepoznavanju, dijagnostikovanju i lečenju primarnog aldosteronizma. Češće ambulantno korišćenje skrininga za PA u hipertenzivnoj populaciji, za koji su date široke indikacije (Funder JW, 2016), bilo bi značajno za redukovanje komplikacija usled dužeg trajanja bolesti. Na ovako izražen potencijal autonomne sekrecije aldosterona retko mogu da utiču uobičajeni supresori, pa skrining može biti validan i na antihipertenzivnoj terapiji. Osim za ovaj skrining (Gallay BJ, 2001), pokazano je da čak i kompleksniji potvrdni testovi za PA zadržavaju dobru reproducibilnost nalaza na većini antihipertenzivnih lekova (Solar M, 2012).

Od definitivnih testova za potvrdu PA, infuzioni test je izveden kod 20, a kaptoprilski test kod 19 ispitanika. Infuzioni test je uzet kao jedini potvrdni dijagnostički test za tri osobe sa povišenim odnosom aldosteron:PRA i normalnim aldosteronom, a izostanak supresije aldosterona je nađen i u svim ostalim slučajevima povišenog aldosterona. Kaptoprilski test je uzet kao jedini potvrdni dijagnostički test takođe za tri osobe, a kod osoba sa povišenim aldosteronom pokazao je lažno negativan nalaz, prisustvo pada koncentracije aldosterona za  $>30\%$  u 4 slučaja (21%). U poređenju sa infuzionim testom, kaptoprilski test nije imao optimalnu senzitivnost za detekciju PA slučajeva. Kroz literaturna saopštenja se sporadično može uočiti da su u nekim centrima korišćeni lokalno prilagođeni kriterijumi za definisanje PA na osnovu kaptoprilskog testa, kao pad aldosterona za  $<50\%$ , ili aldosteron: PRA  $>30-50$ . Međutim, zbog sve ređeg korišćenja PRA, uglavnom se kao značajan procenjuje odnos aldosteron: renin (Zhu K, 2019, Wada N, 2021). Westerdahl i saradnici su pokazali da odnos aldosteron: renin nakon kaptoprila ima neznatno veću senzitivnost i specifičnost nego bazni, te da nije koristan kao potvrdni test za PA (Westerdahl C, 2011). Nezavisno od toga

koliko i po kojim kriterijumima je pouzdan kao dijagnostički, kaptoprilski test se svakako može koristiti kao skrining test. Lako se izvodi u ambulantnim uslovima, ne predstavlja rizik za pogoršanje hipertenzije i može se ponavljati u bolje kontrolisanim uslovima. Zbog tih značajnih prednosti, kao i postojanja malog broja potvrđnih testova od kojih ni jedan nije idealan, ne odustaje se od njegovog korišćenja i nalaženja optimalnog tumačenja. Wada i saradnici nalaze da bi kombinovanje postkaptoprilskog odnosa aldosteron: renin  $>200$  pg/mL/ng/mL/h i postkaptoprilskog aldosterona  $>120$  ng/L bilo najbolje za potvrdu PA (Wada N, 2021). Jedna novija studija je takođe analizirala pouzdanost tri tumačenja kaptoprilskog testa u dijagnostici PA. Nađeno je da je test najpouzdaniji u potvrdi PA za odnos aldosteron: renin  $>200$ , bolji nego za postkaptoprilski aldosteron  $>120$  ng/L ili za supresiju aldosterona manju od 30% (Kidoguchi S, 2019). Za našu populaciju i korišćeni esej (PRA), aldosteron  $>120$  ng/L bi bio optimalniji jer pokriva sve slučajeve PA dijagnostikovane infuzionim testom (najniži postkaptoprilski aldosteron je 135.5 ng/L). Od najvećeg značaja bi bilo formiranje sopstvenog laboratorijskog i nacionalnog kriterijuma za tumačenje ovog testa nakon validacije nalaza, sa dijagnostičkim nivom aldosterona izraženom u jedinicama. U skorašnjoj kineskoj studiji je pokazano da su optimalni kriterijumi za tumačenje infuzionog i kaptoprilskog testa nešto viši nego evropski, a primenom ROC krive da je vrednost aldosterona, a ne stepen njegove supresije pouzdaniji parametar za dijagnozu PA (Meng X, 2018). Infuzioni test se opisuje kao bezbedan, ali da ima osrednju senzitivnost i specifičnost (Rossi GP, 2007). Rossi i saradnici su upoređivanjem ova dva testa pokazali da su po senzitivnosti, specifičnosti i umerenoj prediktivnoj vrednosti sličnih kvaliteta na unosu soli  $>7.6$  g/d (130 mEq/d). Pri nižem unosu soli je infuzioni test nešto pouzdaniji kao so-nezavistan. Takođe, kao optimalna presečna vrednost plazma aldosterona iznad koje se potvrđuje PA je 139 ng/L u kaptoprilskom testu. Ona je viša nego u infuzionom zbog manjeg stepena supresije koju kaptopril ostvaruje u odnosu na volumensko opterećenje slanim rastvorom (Rossi GP, 2007). Zbog toga se preporučuje da kaptoprilski test kao slično pouzdan, a nezahtevan i bezbedan test i dalje ima svoje značajno mesto među dijagnostičkim testovima. U našoj studiji se infuzioni test potvrdio kao kvalitetan na osnovu korišćenja kod osoba koje imaju već i bazno značajno ili umereno visoke vrednosti aldosterona. Slična potreba za nižim dijagnostičkim *cut-off* vrednostima u infuzionom testu i sličan stepen preklapanja nalaza PA i zdravih uočen je upoređivanjem infuzionog sa fludrokortizonskim testom (Willenberg HS, 2012). Slani infuzioni test se smatra da ima senzitivnost 83% za *cut-off* od  $<6.8$  ng/dL (188 pmol/L) (Rossi GP, PAPY 2007) i 88% koristeći *cut-off* od  $<5.0$  ng/dL ( $<139$  pmol/L) (Mulatero P, 2006), što potvrđuje da za sada nema idealnog potvrđnog testa.

Među testovima bitnim za dijagnozu primarnog aldosteronizma neophodno je da se nađe i skrining deksametazon supresioni test sa 1mg. Njime se mogu uočiti neretki tumori sa mešanom sekrecijom aldosterona i kortizola, i daljim testiranjem potvrditi istovremeno prisustvo SCS. Specifičnosti ovakvih tumora kao veličina i kliničko biohemijske karakteristike mogu imati uticaja na dijagnostiku PA i njegovo praćenje (Spath M, 2011, Pradhan R, 2019; Tang L, 2018, Vujačić N, 2020). U našoj studiji su takođe otkrivena dva tumora sa potvrđenim PA i SCS.

Adrenokortikalni tumori nezavisno od histološke građe se češće nalaze kod žena, za razliku od bilateralne hiperplazije za koju se predpostavlja da ima ravnomernu polnu distribuciju (Alesina PF, 2020; Audenet F, 2013). I u ovoj studiji, prema podacima dobijenim iz CEH-a nađeno je da u svim grupama, a naročito hipersekretornih tumora, prevlađuju žene. Međutim, ni u jednoj grupi nije nađena značajna razlika u polnoj zastupljenosti, moguće i zbog malog broja ispitanika (Tabela 2). Zapaženo je da u primarnom aldosteronizmu zbog adenoma ipak postoji specifična polna distribucija u odnosu na godine starosti. Naime, iako se APA kod odraslih javlja u svim godinama, kod žena se češće javlja u mlađim, a kod muškaraca u starijim godinama (Akasaka H, 2019). Analizom naše grupe PA uzrokovanog uglavnom adenomom, procentualna zastupljenost od ukupnog broja žena u odnosu na muškarce u starosnoj dobi 20-40 godina bila je 24:6.7%, a preko 60 godina 8:60%. U srednjim godinama, se registruje slična polna zastupljenost. Ovaj nalaz bi mogao biti od značaja i zato što je kod žena najčešća pojava PA je u reproduktivnom periodu. Naša studija obuhvata tri žene koje su tokom trudnoće imale aldosteronizam sa značajnim uticajem na njen ishod.

Primarni aldosteronizam nema karakterističnu kliničku sliku sem one koja je uslovljena istovremeno prisutnom hipokalemijom. Hipertenzija se u primarnom aldosteronizmu najčešće opisuje kao stalna, blaga do umerena i rezistentna na terapiju. Na to ukazuje i studija *Mosso* i saradnika u kojoj je od 600 hipertenzivnih osoba ispitivanih u cilju ranog otkrivanja PA dijagnoza potvrđena u 2% pacijenata sa blagom hipertenzijom, 8% sa umerenom i 13% pacijenata s teškom hipertenzijom (*Mosso L*, 2003). Ovi rezultati ukazuju da prevalenca PA raste sa porastom težine hipertenzije. Tačna zastupljenost izražene hipertenzije u primarnom aldosteronizmu je manje poznata zbog širokog spektra njegoove prezentacije. Ali, nisu retki opisi sporadičnih slučajeva urgentnih hipertenzivnih stanja koji demonstriraju značajan negativan potencijal hiperaldosteronizma (*Labinson PT*, 2006). Osim direktnog efekta hipertenzije, i dugotrajno povišen nivo sekretovanog aldosterona može prouzrokovati značajna i ireverzibilna oštećenja krvnih sudova koja nakon uklanjanja aldosteron produkujućeg adenoma doprinose učestalosti rezidualne hipertenzije (*Muth A*, 2015). Srednje vrednosti sistolnog, dijastolnog i srednjeg arterijskog krvnog pritiska su u našoj studiji bile značajno više u grupi pacijenata sa PA, kao i vremena trajanja hipertenzije do hiruškog lečenja (Tabela 3). Međutim, međugrupnim poređenjem je nađeno da je krvni pritisak bio značajno viši samo u odnosu na hipertenzivne osobe sa afunkcionim tumorom (*Vujačić N*, 2020).

Umerena i značajna hipertenzija koja se teško koriguje terapijom nije specifična samo za aldosteronizam. Navodi se da je prevalenca hipertenzije u Kušingovom sindromu oko 80%, da je uglavnom blaga do umerena, izražena u oko 17% slučajeva, i da značajno korelira sa dužinom trajanja hiperkortizolemije (*Cicala MV*, 2010). U Kušingovom sindromu prevalenca hipertenzije i visina krvnog pritiska zavise od njegovog uzroka koji određuje nivo hiperekortizolemije i eventualnu kosekreciju drugih adrenalnih steroida sa hipertenzivnim učinkom. Povišen kortizol dovodi do hipertenzije preko nekoliko mehanizama. Najznačajnije efekte postiže delovanjem preko mineralokortikoidnih receptora, aktivacijom sistema renin-angiotenzin i direktnim delovanjem na periferni i sistemski krvotok (*Isidori AM*, 2015). Zbog toga ne iznenađuje da iako su vrednosti krvnog pritiska bile najviše u grupi sa PA u našoj studiji, nisu bile značajno više nego kod osoba sa kliničkim i subkliničkim Kušingovim sindromom. Značaj efekata kortizola je utoliko veći što kod osoba sa SCS nivo kortizola tokom dana može varirati ka normalnom.

Što se tiče dužine trajanja hipertenzije u našoj studiji, prosečno vreme do dijagnostikovanja i hiruškog ili specifičnog medikamentnog lečenja je bilo značajno kraće u grupi sa Kušingovim sindromom u odnosu na PA (Tabela 4) (*Vujačić N*, 2020). Prepoznatljive specifičnosti u kliničkom ispoljavanju hiperkortizicizma bi mogle bar delom biti uzrok ranijem otkrivanju bolesti za koju se zna da uzrokuje sekundarnu hipertenziju, bilo da se ona javila *de novo* ili na terenu prethodno prisutne esencijalne hipertenzije. Prosečna starost svih ispitanika u ovoj studiji je bila oko 50 godina, bez značajnih razlika među grupama koje bi opravdale uticaj na trajanje hipertenzije. I drugi autori nalaze da prosečno trajanje hipertenzije do postavljanja dijagnoze PA može biti dugačko (*Rossi GP*, 2008; *Lim YY*, 2018). Verovatno da je novonastala hipertenzija u sklopu PA karakteristična više za mlade, sa velikom verovatnoćom izlečenja (*Rossi GP*, 2008). Međutim, kod osoba koje imaju dugogodišnju hipertenziju, razvoj PA u kasnijim godinama može biti teže uočljiv, sve do pojave hipokalemije i značajnog pogoršanja kontrole krvnog pritiska. Dužina trajanja hipertenzije i/ili vaskularno remodelovanje značajno smanjuje šanse za normalizaciju krvnog pritiska nakon adrenalektomije (*Rossi GP*, 2008).

Analizirajući u našoj studiji period od otkrivanja adrenalnog tumora do adrenalektomije, u grupi pacijenata sa CS i SCS je on takođe bio značajno kraći. Ali, međugrupnim poređenjem ova razlika nije dostigla značajnost u odnosu na grupu sa PA (*Vujačić N*, 2020). Osobe sa subkliničkom formom svakako nemaju prepoznatljivo ispoljenu kliničku sliku Kušingovog sindroma, ali često imaju metabolički sindrom koji se povezuje s većom učestalošću adrenokortikalnih tumora pa i češćom primenom UZ pregleda (*Kim BY*, 2014; *Ribeiro Cavalari EM*, 2018; *Muscogiuri G*, 2017). Efikasnijoj dijagnozi CS i naročito SCS doprinosi češće rutinsko korišćenje skrininga za hiperkortizolizam (deksametazonski test) u odnosu na skrining za primarni aldosteronizam (odnos aldosteron:PRA) kod hipertenzivnih sa i bez adrenalnih tumora. Na brzinu hiruškog rešavanja ovih



hipersekretnih tumora može uticati trenutno bolje razumevanje nepovoljnog uticaja kortizola u odnosu na aldosteron i mogućnost medikamentne kontrole PA. Ove činjenice su od većeg kliničkog značaja za primarni aldosteronizam uzrokovan bilateralnom hiperplazijom kod koje je ređe prisutna hipokalemija. A obzirom da su u ovoj studiji analizirani pacijenti sa tumorima, sigurno da je brzini njihovog dijagnostičko-terapijskog rešavanja doprinelo stopostotno prisustvo umerene i u manjem procentu teške hipokalemije sa komplikacijama (Vujačić N, 2020). U ostale dve grupe je takođe registrovano po tri ispitanika sa hipokalemijom, bez značajne razlike u dužini njenog trajanja. Značaj hipokalemije u hipertenziji je ipak podcenjen, jer prema velikoj studiji Ruhle i saradnika skrining za PA se obavi u svega 2.7% slučajeva (Ruhle BC, 2019). Sistematično traganje za hipokalemijom u laboratorijskim analizama >28000 ispitanika je pokazalo pozitivan nalaz u 0.79%. Daljim testiranjem ove grupe, PA je potvrđen u 4% svih slučajeva, a u 7.5% u grupi hipertenzivnih (Gruber S, 2021).

Osnovni razlozi za isključivanje PA su prisustvo adrenalnog tumora, hipokalijemije i umereno izražene rezistentne hipertenzije. Međutim, dodatno se kao važan razlog uzima prekomerni stepen oštećenja organa i vaskulature u odnosu na stepen hipertenzije (Funder JW, 2016). Zbog toga su u ovoj studiji analizirane odlike komplikacija i metaboličkog poremećaja u primarnom aldosteronizmu i upoređene sa prisutnim karakteristikama kod osoba sa hiperkortizolizmom i onih koji imaju adrenalni tumor praćen esencijalnom hipertenzijom.

Što se tiče telesne težine, indeksa telesne mase i obima struka, nisu nađene značajne razlike među ovim grupama. Grupe su bile ujednačene prema analiziranim karakteristikama sa srednjim ITM u opsegu prekomerne težine. Procenat prisustva različitih poremećaja metabolizma glukoze (intolerancija glukoze i dijabetes melitus) se nije značajno razlikovao između ispitivanih grupa. Najveći procenat pacijenata sa glukoznom intolerancijom nađen je upravo u grupi sa PA (81.8%), ali razlika nije dostigla statističku značajnost. Takođe, grupe se nisu značajno razlikovale ni prema jednom od ispitivanih parametara metabolizma masti (ukupan holesterol, LDL i HDL holesterol, trigliceridi i LAP) (Vujačić N, 2020).

Primarni aldosteronizam je prepoznat kao stanje u kome zbog interakcije dejstva aldosterona i insulina može doći do poremećaja glukoznog i lipidnog metabolizma, kao i metaboličkog sindroma. Iako nađeni procenat prisustva metaboličkog sindroma od 37% nije zanemarljiv, u našoj grupi PA je bio prisutan značajno ređe u odnosu na ostale dve analizirane grupe pacijenata ( $p=0,015$ ) (Vujačić N, 2020). Razlog manje zastupljenosti je moguće vezan za karakteristike same grupe i za izbor kontrolnih grupa. Da mogu postojati razlike u učestalosti javljanja metaboličkog sindroma u PA zavisno od njegovog uzroka pokazuje studija Somloova i saradnika koji su analizirali podatke pacijenata sa PA zbog APA i IHA u odnosu na osobe sa esencijalnom hipertenzijom. U njihovoj studiji je prisustvo metaboličkog sindroma samo u grupi pacijenata sa bilateralnom formom PA (IHA) slično kao kod EHT, dok je u grupi pacijenata sa unilateralnom formom bilo značajno niže (Somloova Z, 2010). Prevalence metaboličkog sindroma u njihovoj studiji su bile 62% u IHA, 34% u APA i 56% u EHT (Somloova Z, 2010). Naša analizirana grupa je sačinjena većinom od pacijenata sa definitivnom dijagnozom APA. Razlika koja je uočena između ova dva entiteta PA mogla bi se najpre objasniti dužim prisustvom nelečenog PA zbog IHA koju inače karakteriše manje uočljiva kliničko-laboratorijska prezentacija.

Prevalenca metaboličkog sindroma u opštoj populaciji raste sa starenjem, povećanjem telesne težine i redukcijom fizičke aktivnosti. Ribeiro Cavalari i saradnici su pokazali da je učestalost predijabetesa, dislipidemije, povećanog obima struka i hipertenzije značajno viša u grupi pacijenata sa afunkcionim tumorom nadbubrega u poređenju sa kontrolnom grupom istih opštih karakteristika bez tumora (Ribeiro Cavalari EM, 2018). Koristeći različite kriterijume za definiciju, našli su da pacijenti sa tumorom imaju značajnije veću prevalencu metaboličkog sindroma. Prema IDF kriterijumu koji je korišćen i u ovoj studiji, prevalenca u grupi afunkcioni tumori je bila 78.6%, a u kontrolnoj 45.5% ( $p<0.001$ ). Korišćenjem više aktuelnih kriterijuma za definisanje metaboličkog sindroma, autori su pokazali da bi afunkcioni adrenokortikalni tumor mogao biti prediktor za njegovo postojanje (Ribeiro Cavalari EM, 2018). Najzad, grupa PA je u ovoj studiji upoređivana i sa Kušingovim sindromom, takođe prepoznatim kao stanje sa učestalim pojavljivanjem poremećaja glukoznog i lipidnog metabolizma i, kao afunkcioni tumori, pojavom metaboličkog sindroma (Kim

BY, 2014; Ribeiro Cavalari EM, 2018). Tako je i u našoj studiji metabolički sindrom bio najzastupljeniji u grupi sa Kušingovim sindromom (70%), slično kao u grupi afunkcioni tumor (65%).

U osnovi predispozicije za metaboličke poremećaje u sve tri analizirane grupe može biti insulinska rezistencija. Nepovoljni efekti aldosterona i kortizola na insulinsku senzitivnost se mogu ostvariti i pri nižim serumskim nivoima od tumorskih. Uočena je udruženost insulinske rezistencije i lako veće produkcije aldosterona kao obeležja izvesnog stepena autonomnosti sekrecije (Rossi GP, 2008) što bi moglo da upućuje na međusobno stimulativnu interakciju. Radi se obično o osobama sa insulinskom rezistencijom i takozvanim niskim stepenom hipersekrecije aldosterona u ćelijama zone glomeruloze, koje su i prekomerne težine ili gojazne, sa različitim stepenom arterijske hipertenzije (Briones AM, 2012; Fallo F, 2012; Hanslik G, 2015). Poslednjih petnaest godina se u primarnom aldosteronizmu učestalije prepoznaju forme koje predstavljaju udruženu hipersekreciju aldosterona i kortizola, sa kliničko-laboratorijskom prezentacijom APA i SCS. U ovoj studiji je u dva slučaja demonstriran ovaj tip hipersekrecije sa karakteristično većim tumorima nego što se nalaze u PA (Spath M, 2011). Analizom steroidnih metabolita (metaboloma), skorašnja multicentrična studija je pokazala da pacijenti sa PA često imaju značajno povišenu ekskreciju kortizola i ukupnih glukokortikoidnih metabolita (Arlt W, 2017). Autori su takođe pokazali da i *in vivo* glukokortikoidna ekskrecija ukazuje na statistički značajnu udruženost sa odgovarajućom intratumorskom CYP11B1 ekspresijom i značajnom korelacijom sa parametrima za procenu metaboličkog rizika (Arlt W, 2017). Veruje se da je insulinska rezistencija značajna i za patogenezu afunkcionih tumora, direktno preko mitogenog efekta na adrenalni korteks ili preko diskretnog povećanja sekrecije kortizola (Muscogiuri G, 2017).

Osim hipertenzije koja je najčešće rezistentna na terapiju, povećana koncentracija aldosterona ostvaruje i direktne negativne efekte na kardiovaskularni sistem i bubrežni sistem, nezavisno od stepena hipertenzije. Zbog toga kardiovaskularna i bubrežna oštećenja u PA premašuju efekat visokog krvnog pritiska (Reincke M, 2009; Milliez P, 2005; Mulatero P, 2013). U PA se češće nalazi hipertrofija leve komore, oštećenje dijasolne i endotelne funkcije, zadebljane intime karotidnih arterija, povećana albuminurija i snižena intrarenalna rezistenca nego u esencijalnoj hipertenziji sa istim nivoom povećanja krvnog pritiska (Rossi GP, 1996; Rossi GP, 2006). Primarni aldosteronizam je udružen sa većom učestalošću infarkta miokarda i moždanog udara (Born Frontsberg E, 2009; Labinson PT, 2006; Savard S, 2013).

Vežano za renalnu funkciju, Catena i saradnici su pokazali da je 24-h klirens kreatinina  $<60$  ml/min/1.73m<sup>2</sup> prisutan u 7% od 56 pacijenata sa PA (Catena C, 2007). U velikoj nemačkoj studiji nađen je povišen nivo kreatinina u serumu u 29% ispitanika, značajnije više u odnosu na hipertenzivnu kontrolnu grupu (10%) (Reincke M, 2009). Takođe, analiza regresije je pokazala da su godine, muški pol, nizak kalijum i visok aldosteron u serumu bili nezavisni prediktori smanjenja GFR (Reincke M, 2009). U našoj studiji 20% pacijenata sa PA je imalo smanjenu bubrežnu funkciju, mada je ona bila česta u svim grupama. Najviša srednja vrednost serumskog kreatinina u ovoj studiji nađena je u grupi PA, zatim u grupi afunkcioni tumori i najniža u grupi sa Kušingovim sindromom u kojoj je vrednost bila značajno niža u odnosu na ostale grupe ( $p=0,027$ ). Ovakav nalaz je najverovatnije posledica kataboličkog efekta kortizola ili je zbog manjeg stepena renalnog oštećenja do vremena postavljanja dijagnoze (Vujačić N, 2020). Prema velikoj PAPY (*Primary Aldosteronism Prevalence in Italy*) studiji, 24h mikroalbuminurija je značajno viša u osoba sa primarnim aldosteronizmom nego sa esencijalnom hipertenzijom, nezavisno da li je uzrokovan tumorom ili bilateralnom hiperplazijom (Rossi GP, 2006). U našoj studiji je nađena tendencija ka višem stepenu proteinurije i mikroalbuminurije u grupi PA u poređenju sa drugim grupama, bez dostizanja statističke značajnosti. Mikroalbuminurija je bila značajno većeg stepena samo u odnosu na grupu sa Kušingovim sindromom. Ipak, treba imati u vidu ograničenje ove studije zbog malog broja ispitanika.

Jedna od prvih studija koja se bavila prevalencom pojave renalnih cisti u PA pokazala je korišćenjem CT pregleda da su one prisutne u 44% slučajeva (55 pacijenata). Ciste su bile značajno češće prisutne u APA (62%) nego u IHA, a po osobinama često multiple i lokalizovane u meduli. Nakon uklanjanja tumora imale su tendenciju izlečenja (Torres VE, 1990). Osim hipertenzije, pojavi renalnih cisti značajno doprinosi hipokalemija. Češće prisustvo hipokalemije u APA nego u IHA bi

moglo da objasni značajno veću učestalost cisti u adenomu kao uzroku aldosteronizma. U prilog tome je i nađena korekcija nižeg serumskog kalijuma i višeg aldosterona sa težinom ekspresije cistične bolesti bubrega (Torres VE, 1990). Osim nađenih razlika između grupa u PA, u studiji Novela i saradnika je razmatran uticaj operativne i medikamentne terapije aldosteronskim antagonistima na prisustvo renalnih cisti kod 54 pacijenta sa PA praćenih ultrazvučnim pregledom (Novello M, 2007). Prevalenca i prosečan broj renalnih cista je bio značajno viši kod osoba sa PA u odnosu na kontrolnu grupu hipertenzivnih i normotenzivnih pacijenata, a oba vida lečenja uspešno zaustavljaju progresiju ovog stanja. Autori su takođe pokazali da su godine i nivo serumskog kalijuma nezavisni faktori udruženi sa pojavom renalnih cista u PA. U našoj studiji su renalne ciste nađene CT pregledom dva puta češće kod osoba sa PA nego u druge dve grupe. Statistički su značajno češće samo u odnosu na grupu sa esencijalnom hipertenzijom i afunkcionim tumorom, moguće delom i zbog malog broja ispitanika sa hiperkortizolizmom. Zastupljenost renalnih cisti bila je 12.5% u grupi afunkcionih tumora, 15% u grupi Kušingov sindrom i 30.8% u grupi primarni aldosteronizam. Kod svih pacijenata sa PA bila je prisutna hipokalemija, a vrednosti serumskog kalijuma su bile statistički značajno najniže (Vujačić N, 2020). To se moglo očekivati obzirom da je nalaz hipokalemije u oko 30% slučajeva u primarnom aldosteronizmu uglavnom vezan za prisustvo APA, odnosno klasičnog Konovog sindroma koji je dominirao u našoj grupi. Ipak, nalaz ujedno pokazuje i da je prepoznavanje primarnog aldosteronizma kod nas uglavnom bilo bazirano na već ispoljenoj kliničkoj slici hipokalemije, a ne na ranom testiranju hipertenzivnih osoba. Razvoj izražene hipokalemije bio je opasan način prezentacije PA u jednom slučaju starije osobe kao akutni respiratorni arrest, a kod četvoro mlađih kao kvadripareza i parapareza.

Osim hipertenzije, hipokalemija može u velikoj meri doprineti oštećenju organa u PA. Analizirajući grupu od 553 pacijenta iz nemačkog registra Konovog sindroma, autori su našli da kod onih s hipokalemijom (56.1%), sistolni i dijastolni krvni pritisak su bili značajno viši u odnosu na pacijente sa normokalemijom (Born-Frontsberg E., 2009). Takođe, sveukupna prevalenca komorbiditeta je bila značajno viša kod osoba sa hipokalemijom. Međutim, kada se analizirala pojava komorbiditeta pojedinačno, samo su angina pectoris i hronična srčana insuficijencija bili značajno češći (9.0 vs 2.1%; i 5.5 vs 2.1%). Prevalenca komorbiditeta je u celoj grupi bila značajna nezavisno od hipokalemije. Kardiovaskularni događaji (angina pectoris, infarkt miokarda, hronična srčana insuficijencija, koronarna angioplastika) su registrovani u 16.3%, a atrijalna fibrilacija u 7.1% slučajeva. Prevalenca cerebrovaskularnih komorbiditeta se nije značajno razlikovala od one u kontrolnoj grupi hipertenzivnih osoba (Born-Frontsberg E, 2009). U našoj studiji je postojala veća tendencija prisustva atrijalne fibrilacije u grupi PA (PA 15%, Af tu 5%, SCS+CS 0%,  $p=0.087$ ), cerebrovaskularnog insulta (PA 7.5%, Af tu 2.5%, SCS+CS 5%,  $p=0.591$ ) i akutnog miokardnog infarkta (PA 7.5%, Af tu 5%, SCS+CS 0%,  $p=0.454$ ), ali nije bilo značajne razlike među grupama. Mali broj ispitanika predstavlja značajno ograničenje za analizu pojave pojedinačnih kardiovaskularnih komorbiditeta, a zbirna nije rađena. Ostali kardiovaskularni događaji su bili nespecifično raspoređeni u svim grupama (Vujačić N, 2020).

Aldosteron sekretujućim tumorima su uglavnom male veličine, obično manji od 2 cm na CT prikazu (Funder JW, 2016). Srednji dijametar koji je nađen u ovoj studiji iznosio je 22 mm. Ova vrednost je obuhvatila i veličinu tumora kod dva pacijenta koji su imali udruženu hipersekreciju aldosterona i kortizola i prezentovali se kao primarni aldosteronizam sa vrlo visokim aldosteronom uz izraženu hipokalemiju i subklinički Kušingov sindrom. SCS je otkriven rutinskim endokrinološkim testiranjem. U mnogim zemljama se nije sprovodilo rutinsko testiranje sekrecije kortizola u slučaju evidentnog primarnog aldosteronizma. Nakon učestalih prikaza slučajeva, ciljane opservacione studije su potvrdile da ovakvi tumori sa kosekrecijom nisu retki i da mogu da utiču na neke aspekte prezentacije primarnog aldosteronizma (Spath M, 2011, Pradhan R, 2019; Tang L, 2018; Bhatt PS, 2019).

Veličina tumora u grupi sa PA je bila statistički značajno manja u odnosu na druge dve grupe u našoj studiji, nakon isključivanja i obuhvatom ova dva pacijenta. Ovakvi mešani tumori su veći nego u PA, a jedan od njih je među najvećim do sada prikazanim (62x41 mm, 76 g) (Ćirić J, 2010). Najveći dijametar tumora je nađen u grupi ispitanika sa Kušingovim sindromom,  $44.75 \pm 14.04$  mm,

zatim sa afunkcionim tumorima  $27.92 \pm 9.52$  mm i u PA  $22.15 \pm 9.70$  mm. Razlika u veličini bila statistički značajna unutar svakog para grupa (PA vs Af tu  $p=0.044$ ; PA vs SCS i CS  $p<0.001$ ; Af tu vs SCS i CS  $p<0,001$ ) (Vujačić N, 2020). CT pregled je u 11.4% ispitanika pokazao prisustvo adenoma, a da je PH nalaz bio nodularna hiperplazija. U jenom slučaju je rađeno AVS, ali se nalaz nije mogao zasigurno interpretirati kao bilateralna sekrecija i uskratiti hiruško lečenje viđenog tumora. Veći centri opisuju takođe serije slučajeva kompleksnog tumačenja nalaza dobijenih AVS metodom i CT/MR pregledom (Rossi GP, 2001). Mogućnost da se obavi nepotrebna adrenalektomija bazirana na CT nalazu a bez primene AVS za dokazivanje unilateralnosti se procenjuje na 14.6% (Kempers MJ, 2009). Međutim, sporadična primena segmentne AVS je pokazala da se sekretorni tumori mogu naći na strani koju prikazuje CT/MR, a ne klasična AVS. Segmentno uzorkovanje je bliže viđenom tumoru i može da pokaže prisustvo potrebnog gradijenta za potvrdu njegove hipersekrecije aldosterona bolje nego klasična AVS (Sato F, 2015). Primena ovako sofisticiranih tehnika koje mogu preciznije da markiraju hipersekretorne promene mogla bi da objasni povoljan (tranzitorni bar) efekat operativnog lečenja i kod nodularne hiperplazije. Verovatnije je ipak da do tog poboljšanja dolazi zbog redukcije sekretornog kapaciteta (Paran H, 2017) ili zbog različitog stepena poremećaja u nadbubrežnim žlezdama i njegovog vremenskog ispoljavanja.

Retrospektivna studija iz Mayo centra, poznatog po visokoj stopi uspeha AVS, pokazala je da se u 19% PH nalaza lateralizovanih promena opisuje više nego jedan adenom (nodularna hiperplazija), te da je praktično nemoguće preoperativno predvideti takav ishod. Ipak, veći uspeh operativnog lečenja nakon lateralizacije AVS-om potvrđuje da je za sada to najbolja prediktivna metoda (Quillo AR, 2011). Ova metoda ima ograničenja vezana za potvrdu hiperfunkcije nodusa koji se mogu naći u istoj žlezdi uz APA (Morimoto R, 2016). Novije studije pokazuju da segmentna selektivna AVS ima potencijal preciznog preoperativnog mapiranja aldosteronske aktivnosti u adenomima i nodusima, pa može da obezbedi bolju korelaciju sa patohistološkim nalazom i ishodom hiruškog lečenja (Kitamoto T, 2020).

U Centru za endokrinu hirurgiju Kliničkog centra Srbije su tokom perioda analiziranog u ovoj studiji korišćene dve operativne tehnike, klasična adrenalektomija otvorenim pristupom i minimalno invazivna (laparoscopska) adrenalektomija (Diklić A, 2019; Paunović I, 2019). Laparoscopska adrenalektomija se koristi u ovom Centru kao rutinska procedura od 2012. godine tehnikom laparoscopskog lateralnog transperitonealnog pristupa (LTA - *lateral transperitoneal approach*). Ona predstavlja zlatni standard za male funkcionalne i afunkcionalne tumore kod kojih je preoperativnim ispitivanjem sa velikom sigurnošću isključena maligna alteracija. Međutim, kao i sve druge operativne tehnike i LTA ima neka ograničenja. Relativne kontraindikacije su sumnja na malignitet, veličina tumora (veći od 15 cm), hronična opstruktivna bolest pluća i drugi komorbiditeti koji povećavaju operativni rizik, perzistentna preoperativna koagulopatija i prethodna operaciju u predelu nadbubrežne žlezde. Apsolutne kontraindikacije su vezane za prisustvo lokalne invazije i visoke sumnje na adrenokortikalni karcinom i metastatski feohromocitom (Paunović I, 2019; Burpee SE, 2001).

Od 40 pacijenata sa dokazanim PA koji su upućivani u Centar za endokrinu hirurgiju operisano je 35, klasičnom operacijom 14 i laparoscopski 21 pacijent. Pet pacijenata je nastavilo lečenje antagonistima mineralokortikoidnih receptora koji se takođe smatraju efikasnim u kontroli PA (Turchi F, 2014; Catena C, 2015). Razlozi neoperisanja do vremena formiranja analizirane grupe ispitanika su bili uglavnom vezani za komorbiditete, ređe lični. Uvođenje minimalno invazivne adrenalektomije smanjilo je uticaj komorbiditeta koji su bili od većeg značaja prethodnih godina kao relativna kontraindikacija i rizik za klasičnu adrenalektomiju. U kontrolnoj grupi sa hiperkorticismom je operisano 19 osoba, tri klasičnom operacijom i 16 laparoscopski. Afunkcioni tumori se operišu u najvećoj meri zbog veličine koja može biti rizik za malignitet (Živaljević V, 2019; Fassnacht M, 2016), pa je u ovoj grupi operisano samo tri pacijenta (klasično). Podaci o kliničkim i patohistološkim karakteristikama za operisane analizirani su samo za 54 osobe sa hipersekretornim tumorima. U obe grupe ispitanika značajno češće je operisan tumor leve nadbubrežne žlezde. Period od detekcije tumora pa do njegovog operativnog rešavanja je bio najkraći u grupi sa kliničkim i subkliničkim

Kušingovim sindromom ( $p=0,042$ ), ali razlika nije bila značajna u odnosu na grupu PA (Vujačić N, 2020).

Kliničke karakteristike operisanih pacijenata iz grupa primarni aldosteronizam i hiperkortizolizam prikazane u Tabeli 19 se nisu bitno razlikovale od karakteristika celokupnih grupa. I u grupi operisanih sa PA je značajno češće bila prisutna hipokalemija i značajno duže hipertenzija. Takođe, visina sistolnog krvnog pritiska se nije značajno razlikovala među grupama, dok je dijastolni krvni pritisak u grupi operisanih sa PA postao granično značajno viši. I u ostalim parametrima kao starost, češće oboljevanje žena, srčana frekvenca, BMI i obim struka održavaju se isti odnosi kao u celokupnim grupama, bez značajnih razlika među ispitanicima, a oni su detaljnije diskutovani ranije.

Poznato je da su tumori sa hipersekrecijom aldosterona mali. Zona glomeruloza se sa starenjem smanjuje i u nekim zonama kore nedostaje uz kapsulu (Aiba M, 2011; Gomez-Sanchez CE, 2014). Za razliku od APA, tumori sa hipersekrecijom kortizola su veći, sa većim potencijalom uvećanja zone fascikulate. Tumori sa kosekrecijom aldosterona i kortizola su veći nego kod izolovane aldosteronske hipersekrecije (Spath M, 2011). U grupi operisanih pacijenata analiziran je odnos volumena tumora i nivoa adrenalnih hormona, serumskog aldosterona izmerenog posturalno i kortizola izmerenog u deksametazonskom testu sa 1mg. Nađeno je da volumen i težina tumora pokazuju pozitivnu, umerenu korelaciju sa nivom kortizola ( $r=0.684$ ,  $p<0.001$ ;  $r=0.543$ ,  $p<0.001$  redom), Grafik 19. Negativna, umerena korelacija je uočena između nivoa aldosterona i volumena tumora ( $r=-0.568$ ,  $p<0.001$ ), kao i težine tumora ( $r=-0.482$ ,  $p<0.001$ ), Grafik 20. Čak i kada su isključeni iz analize podaci za dva pacijenta sa PA i subkliničkim hiperkorticismom, odnosno sa tumorima koji sekretuju aldosteron i kortizol, ove korelacije ostaju značajne za oba hormona.

Bez obzira na veliki pomak u standardizaciji dijagnostike PA i postoperativnog praćenja, u mnogim zemljama i dalje postoje objektivni problemi u objedinjavanju svih dijagnostičkih mogućnosti zbog same njihove kompleksnosti. Tek potpuno funkcionalni multidisciplinarni pristup obezbeđuje kvalitetnu dijagnostiku svih uzroka PA i formiranje baze podataka u vidu nacionalnog registra. Zahvaljujući evidenciji o operisanim pacijentima sa aldosteronizmom iz Centra za endokrinu hirurgiju KCS dobijeni su značajni podaci o karakteristikama ove bolesti i u našoj populaciji. Ipak, deo pacijenata nije bio uključen zbog nedostatka potvrdnih testova, iako su imali hipokalemiju, povišen odnos aldosteron:PRA i veliku verovatnoću da se radi o aldosteronizmu. Zbog toga, kao i tendencije kliničara da formiraju različite skorove za olakšavanje brzog i pouzdanog odabira osoba sa mogućim PA (Nanba K, 2014; Kobayashi H, 2017; Küpers EM, 2012), na osnovu relevantnih parametara vezanih za našu populaciju napravljen je klinički, preoperativni skor za njegovu predikciju. Kao bitni prediktori izabrani su stepen hipokalemije, nivo serumskog aldosterona i PRA i veličina tumora na CT/MR-u. Pokazano je da od maksimalnih 15 poena, već 10 poena nose senzitivnost 97% i specifičnost 77% za dijagnozu PA. Osim serumskog aldosterona u visokom gornjem opsegu normale (ili povišenom), suprimovane PRA, hipokalemije  $<3$  mmol/L, maksimalna veličina tumora  $<2.5$  cm, a minimalna  $<1.5$  cm predviđaju velike šanse da se radi o aldosteron produkujućem tumoru.

Dijagnoza APA se prema savremenim vodičima bazira na biohemijskom dokazu unilateralne prekomerne sekrecije aldosterona (Funder JW, 2016; Williams TA, 2018). Rutinsko bojenje preparata dobijenih nakon adrenalektomije hematoksilinom i eozinom (HE) prikazuje samo morfologiju uočenih adrenalnih ćelija u tumoru, ali ne može da obezbedi dokaz o vrsti njihove sekretorne aktivnosti (Gioco F, 2015). Ova činjenica da patohistološki nalaz u slučaju APA, za razliku od mnogih drugih vrsta tumora, nema odlučujući značaj u njegovoj potvrdi može da rezultira u nedovoljnoj sistematizaciji opisa ili njenoj nedoslednoj primeni. Analizom makroskopskih opisa u ovoj studiji, karakteristična žuta boja kortikalnih tumora je bila značajno češće navedena u grupi pacijenata s Kušingovim sindromom (80%) nego s PA (60%) (Tabela 22). Nezavisno od toga, patohistološki nalaz i postoperativni tok bolesti imaju veliki i bitan udeo u potvrdi ispravnosti preoperativno postavljene dijagnoze.

Adenomi kore nadbubrežne žlezde su jasno ograničeni, ali retko potpuno inkapsulirani (Tatić 2019). Kod aldosteron produkujućih adenoma kapsula tumora nije značajno izražena, često je prisutna kao tanka i fibrozna (Gioco F, 2015). Prema podacima vezanim za patohistološki

mikroskopski izgled adrenalnog tkiva, navod o postojanju inkapsulacije tumora bio je značajno češće prisutan u grupi SCS+CS, 94.7% vs 71.4% (Tabela 22). Čelijska organizacija koja se opisuje da je prisutna u adrenalnim tumorima analizirana je kao dve forme, trabekularna i alveolarna. Alveolarni tip je bio značajno češće naveden u opisu tumora PA grupe, a trabekularni bez razlike.

Klasično bojenje preparata (HE) omogućuje identifikaciju četiri tipa ćelija koje se mogu naći u tumoru: male svetle ćelije koje liče na ćelije zone glomeruloze, velike svetle ćelije penastog izgleda i bogate lipidima nalik zoni fascikulati, male kompaktne ćelije kao u zoni retikularis i najzad atipične, takozvane hibridne ćelije, nalik zoni fascikulati i glomerulozi. Hibridne ćelije se karakterišu nuklearnim uvećanjem, nukleolima i hiperhromazijom. One su dosta specifične za APA i mogu biti u predominaciji ako se nalaze uz druge vrste ćelija. Prisustvo kombinacije različitih vrsta ćelija takođe se često uočava u APA (Gioco F, 2015).

U aldosteron produkujućim tumorima (i nodusima) ne dominiraju ćelije zone glomeruloze, te su one, kao i kompaktne ćelije, bile ređe prisutne u analiziranom materijalu iz ove studije za obe grupe. U obe vrste hipersekretornih tumora dominirale su ćelije nalik zoni fascikulati, s tim što su u grupi SCS i CS one navedene kao prisutne u svim slučajevima dominantno (svetle u 95% - 18 pacijenata, a tamne u 5% slučajeva – 1 osoba). U grupi PA su svetle ćelije nalik ZF takođe bile opisane kao najčešće prisutne (74.3%), kao što se i očekuje. Međutim, od većeg značaja kao specifičnije za aldosteron produkujuće adenome su hibridne ćelije koje su bile značajno češće navedene kao prisutne u odnosu na grupu SCS+CS (60% - 21 pacijent vs. 21% - 4 pacijenta;  $p=0.006$ ). Čelijska atipija i prisustvo mitozu nisu karakteristične za PA, pa su i u ovoj studiji opisane kao retko viđene i oskudno ispoljene za obe grupe. Osim što nemaju izraženu kapsulu, APA ne dovode do supresije ACTH svojom prekomernom sekrecijom kao u slučaju kada adrenokortikalni tumor uzrokuje hiperkortizolemiju. Zato izostaje atrofija peritumorskog tkiva i kore kontralateralne žlezde, a čak se može naći takozvana "paradoksalna hiperplazija" (Boulkroun S, 2010). Iako bi onda opis peritumorskog tkiva mogao da bude od nekog diferencijalnog značaja, u analiziranim PH opisima za obe vrste tumora je retko prisutan. U grupi SCS+SC je odsutan u ~90% slučajeva, u po jednom opisu je naznačena atrofija ili hiperplazija okolne kore. U slučaju PA, opis izostaje u 77% slučajeva, hiperplazija je opisana u 20%, a atrofija u oko 3% slučajeva, bez značajnih razlika u ovim opisima. Takođe, u peritumorskom tkivu APA se mogu videti i mali nodusi, međutim u analiziranim nalazima u ovoj studiji to je uočeno kao retka pojava i bez statističke značajnosti među grupama.

Zbog značajne učestalosti pojavljivanja hibridnih ćelija u patohistološkom nalazu kod APA, formiran je „postoperativni“ skor sa ciljem obezbeđivanja dodatne koristi u predikciji i proceni uspešnosti izlečenja PA hiruškim postupkom. Skor je formiran korišćenjem parametara dobijenih patohistološkom analizom (volumen tumora i prisustvo hibridnih ćelija) i kombinovanjem sa izmerenim vrednostima aldosterona u serumu. Skor omogućuje da se uz prisustvo najčešće veličine tumora u PA izražene kao volumen, dodatni poeni do optimalne presečne tačke od 3.5 baziraju na prisustvu hibridnih ćelija u tumorskom tkivu i/ili vrednostima aldosterona koje su visoko normalne ili povišene. Prisustvo hibridnih ćelija u ograničenoj promeni korteksa bi bilo korisno u potvrdi ispravne lateralizacije u odsustvu preoperativne dijagnostike korišćenjem AVS. To se naročito odnosi na opisanu mogućnost greške pri lateralizaciji PA baziranoj na CT/MR nalazu, prvenstveno kod starijih osoba. Kod njih je potvrđen veći rizik da uz primarni aldosteronizam imaju i afunkcioni adrenalni tumor (Kempers MJ, 2009). Veći tumori koji u ovom skor dobijaju manje poena su bili karakteristični za Kušingov sindrom. Takođe, kod indikovanog operativnog lečenja afunkcionih adrenokortikalnih tumora se očekuju veće dimenzije, jer se one pretpostavljaju kao rizik za malignitet (Fassnacht M, 2016). Skor u rasponu 0-6, sa značajnom ROC krivom (area=0.973,  $p<0.001$ ) i presečnom vrednošću 3.5 poena, imao je senzitivnost za dijagnozu aldosteronizma 94.3% i specifičnost 94.4%, Grafik 22. Naravno, korišćenje imunohistohemije za analizu tumorskog i peritumorskog tkiva bi omogućilo optimalnu detekciju ćelija koje sekretuju aldosteron, sa preporukom da bi detekcija CYP11B1 i B2 ekspresije trebala da bude deo histopatološke rutine u svim centrima koji se bave operativnim lečenjem PA (Nishimoto K, 2010; Nakamura Y, 2014; Volpe C, 2020).

Intenzivnim praćenjem analizirane grupe pacijenata sa primarnim aldosteronizmom u ranom postoperativnom periodu do mesec dana potvrdilo je na osnovu značajnog pada krvnog pritiska i normalizacije serumskog kalijuma da je uklonjen uzrok hipersekrecije aldosterona. Kod trećine pacijenata za održavanje normalnog krvnog pritiska nije bila potrebna antihipertenzivna terapija, a kod ostalih se krvni pritisak uspešno održavao normalnim korišćenjem jedne do dve grupe antihipertenziva. Kod svih pacijenata je registrovan spontani oporavak serumskog kalijuma i dalje stabilno održavanje normokalemije bez terapijske intervencije. Ovakav postoperativni tok u primarnom aldosteronizmu je značajan sa aspekta mogućnosti pogrešnog izbora strane u kojoj se nalazi hipersekretorna promena (tumor ili nodus), koja bi se prema izveštaju Kempers i saradnika mogla desiti u 3.9% slučajeva bez uspešno izvedene AVS (Kempers MJ, 2009). Najveći rizik za takav ishod je prisustvo bilateralnih tumora od kojih je jedan afunkcioni, ili prisustvo afunkcionog tumora i unilateralne difuzne hiperplazije u kontralateralnoj žlezdi. U izbegavanju ovakvih grešaka je od najvećeg značaja uspešna AVS. Bez AVS, dobra pouzdanost da je tumor viđen CT/MR pregledom aldosteron produkujući nalazi se kod mlađih osoba (do 30-40 godina) sa normalnim izgledom kontralateralne žlezde (Funder JW, 2016). U ovoj studiji je registrovano 9 osoba  $\leq 40$  godina, 18 osoba  $\leq 45$  godina, što je takođe moglo uticati na uspeh u operativnom izlečenju uz mali broj obavljenih AVS. Dobro dokumentovani bilateralni APA su retki, te nema pouzdanog iskustva koliko se javljaju istovremeno ili sukcesivno (Wu VC, 2008; Morimoto R, 2016; Chung SD, 2007). S druge strane, iako je prevalenca kortikalnih adenoma u kortikalnoj hiperplaziji nedovoljno razmatrana u literaturi, navodi se da bi mogla biti i 15-24% zasnovano na AVS lokalizaciji unilateralnog PA, izostanku recidiva tokom kratkog posleoperativnog praćenja i analizi uobičajenog patohistološkog nalaza sa HE bojenjem (Weisbrod AB, 2013; Murashima M, 2009; Ohno Y, 2019).

Unilateralna adrenalna hiperplazija kao uzrok PA je entitet koji se definiše prvenstveno zahvaljujući pouzdanjoj preoperativnoj lateralizaciji hipersekrecije aldosterona korišćenjem AVS. Njena učestalost se opisuje od vrlo retke do češće nego što se veruje (Meyer A, 2005; Shariq OA, 2019; Katayama Y, 2005). Radi se o difuznoj hiperplaziji sa ili bez propratnih mikro i makronodusa koji na CT skenu mogu izgledati kao adenomi. Klasičnim HE bojenjem adrenalnog tkiva, nakon operacije se mogu razlikovati ograničeni adenomi od nodularne hiperplazije. Imunohistohemijski se može i precizno definisati pozicija ćelija koje sintetišu aldosteron u nodusu ili u hiperplaziji, ali se ne može dokazati da je ova sekrecija unilateralna. Češćim korišćenjem AVS i detektovanjem unilateralne hipersekrecije kao potencijalno hiruški izlečive, danas se zna nešto više i o hiperplaziji kao uzroku PA. U studiji Shigematsu i saradnika analizirana je *in situ* hibridizacijom mRNA ekspresija steroidogenih enzima u unilateralnoj hiperplaziji i upoređena sa ekspresijom u hiperplaziji adrenalnog korteksa u okolini tumora (Shigematsu K, 2006). Autori su pokazali da se uz APA, slično kao u hiperplaziji, mogu naći nodusi i hiperplazija ZG koji pokazuju šarolik potencijal sekrecije steroida. U hiperplaziji ZG je registrovana smanjena steroidogena aktivnost u 25 od 29 slučajeva („paradokсна hiperplazija“), a u ostalim predominantna produkcija aldosterona. Od 53 uočena nodusa izolovana ili predominantna produkcija aldosterona je uočena u 19, predominantna produkcija kortizola u 13, a 21 nodus se odlikovao smanjenom steroidnom produkcijom. Slična nepredvidivost u sekretornom potencijalu je opisana i u unilateralnoj hiperplaziji, a uočeni su i nodusi u vrlo bliskom kontaktu koji mogu izgledati sumirano (Shigematsu K, 2006). Obzirom da se ne praktikuje bilateralna adrenalektomija sem u retkim formama agresivnog familijarnog aldosteronizma tip 3, pretpostavlja se da bi ekstraadenomski fokusi hipersekretornih ćelija ili nodusi mogli postojati i u kontralateralnoj žlezdi. Zbog mogućnosti da nodusi uz adenom budu osnov za ponovni razvoj aldosteronizma i dalje se generalno savetuje kao bezbednija laparoscopska totalna adrenalektomija (van de Wiel ECJ, 2021; Ishidoya S, 2005). Sabiranjem iskustva sa parcijalnom adrenalektomijom ovako selektivna enukleacija adenoma može ipak biti obećavajuća (Li KP, 2021).

Unilateralni primarni aldosteronizam se smatra generalno hiruški izlečiva sekundarna hipertenzija. Naročito APA koji je ranije i uziman kao jedini unilateralni entitet. Prema mnogim studijama sličan učinak u normalizaciji serumskog kalijuma, normalizaciji ili redukciji krvnog pritiska i broja antihipertenzivnih lekova, kao i komplikacijama zbog sistemskih efekata povećane aldosteronske produkcije ima i hiruško lečenje unilateralne hiperplazije (Volpe C, 2015; Paran H,

2017; Sukor N, 2009). Međutim, ima naznaka da se u postoperativnom toku može očekivati poboljšanje kontrole kalemije i krvnog pritiska i kod osoba sa patohistološki utvrđenom adrenalnom hiperplazijom, kod kojih nije isključena bilateralna sekrecija primenom AVS (Wu VC, 2008; Paran H, 2017;). Zbog toga je važno da pored ranog postoperativnog praćenja osobe lečene hiruški zbog PA imaju i dugotrajan klinički i biohemijski nadzor, bar u prvim godinama. Specijalno ako se radi o pacijentima kod kojih nije obavljeno AVS, a postoperativno je nađeno da se radi o adrenalnoj hiperplaziji, osobama sa adenomima oko kojih je bila prisutna nodularna ili difuzna hiperplazija, pa čak i osobama sa potvrđenom unilateralnom (nodularnom) hiperplazijom. Imajući u vidu značaj sistematizacije praćenja u cilju izbegavanja recidiva primarnog aldosteronizma ili otkrivanja njegove perzistencije konsenzusom je preporučeno praktično doživotno godišnje praćenje serumskog kalijuma, aldosterona i PRA (renina) (Williams TA, 2017). Prema ovom skorašnjem internacionalnom konsenzusu koji definiše i uspešnost ishoda adrenalektomije (PASO) kao kompletan, parcijalni i odsutan, u ovoj studiji su sve osobe imale benefit od operativnog lečenja, a trećina pacijenata je bila kompletno izlečena na osnovu nalaza u toku ranog praćenja. Velika metaanaliza operativnih ishoda u PA takođe daje izvesnu prednost hiruškom lečenju u odnosu na medikamentno (Muth A, 2015). Međutim, uvid u produženo praćenje je bio dosta insuficijentan u našoj studiji. Moguće da je to delom zato što se pacijenti vraćaju svom endokrinologu, delom zbog toga što jesu ili veruju da su izlečeni, kao i zbog starenja i gubitka interesovanja za dugotrajno nadgledanje. U našoj studiji su bili dostupni podaci za 24 osobe da nemaju znake recidiva PA na osnovu kliničkih i laboratorijskih nalaza, a bez izmerenog kontrolnog aldosterona. Za 20 osoba su bile dostupne vrednosti aldosterona izmerene tokom retestiranja u prve tri godine. Nakon donošenja konsenzusa (Williams TA, 2017), jedna veća studija je analizirala podatke švedskog registra za PA prema datim kriterijumima, pa je nađeno da čak 44% osoba nema adekvatno dugoročno praćenje (Sellgren F, 2020). Imajući u vidu kompleksnost ispoljavanja primarnog aldosteronizma i mogućnost recidiva koji je uočen i u našoj studiji, kontrolna merenja aldosterona minimum u prvim postoperativnim godinama su od izuzetnog značaja.



## 6. ZAKLJUČCI

1. Dijagnoza primarnog aldosteronizma u ispitivanoj studijskoj grupi je postignuta nalazom povišenih bazalnih vrednosti serumskog aldosterona kod 85% ispitanika, u 50% slučajeva aldosteron je bio >1000 ng/L. Hipokalemija je bila prisutna kod svih ispitanika, a kod pet osoba se prezentovala kao hitan neurološki događaj. Ovaj podatak ukazuje na neophodnost češćeg testiranja opšte hipertenzivne populacije skriningom za aldosteronizam.
2. Primenom potvrdnog infuzionog testa slanim rastvorom ni kod jedne osobe s bazno povišenim vrednostima aldosterona nije izmeren pad aldosterona ispod zadatog kriterijuma 100 ng/L (najniža vrednost u 240. minutu je bila 160 ng/L).
3. Kaptoprilski test sa kriterijumom pada >30% za isključivanje PA se pokazao neodgovarajući za 21% osoba koje su imale bazno povišene vrednosti aldosterona, a i u poređenju sa infuzionim testom. Najniža postkaptoprilska vrednost aldosterona je bila 135.5 ng/L. Presečna vrednost >120 ng/L je obuhvatila sve postkaptoprilske vrednosti aldosterona u PA. Nalaz ukazuje da bi za našu populaciju i pribor za merenje bilo pouzdanije korišćenje postkaptoprilskog nivoa aldosterona nego stepen (%) njegove supresije. Kaptoprilski test bi se zbog svoje bezbednosti i lakog izvođenja mogao primenjivati i ambulantno kao skrining za PA. Širim korišćenjem bi se omogućila lakša validacija testa za različite kriterijume koji se mogu primeniti u našoj populaciji.
4. Među testove bitne za dijagnozu PA neophodno je uvrstiti deksametazon supresioni test sa 1mg kao skrining za hiperkortizolizam. Njime se mogu uočiti neretki tumori s mešanom sekrecijom aldosterona i kortizola. Specifičnosti ovakvih tumora kao veličina i kliničko- biohemijske karakteristike mogu imati uticaja na dijagnostiku PA i njegovo praćenje.
5. Analizom nalaza dobijenih CT pregledom, u grupi PA je kod 11.4% ispitanika viđeno prisustvo adenoma, a da je PH nalaz bio nodularna hiperplazija.
6. Korišćenje AVS tehnike za dokazivanje podvrste PA je retko primenjivano. Moguć je veći broj obavljenih pregleda koji nisu komentarisani zbog izostanka kanulacije obe adrenalne vene. Ipak, njihov značaj je bio doprinoseći, pa je neophodno šire korišćenje i razvoj ove tehnike.
7. Nađena je češća pojava primarnog aldosteronizma (dominantno uzrokovanog adenomom) kod starijih muškaraca i mlađih žena. Za žene je ovaj nalaz od značaja zbog preklapanja sa reproduktivnim periodom i mogućim komplikacijama u trudnoći.
8. Vrednosti sistolnog, dijastolnog i srednjeg arterijskog pritiska su bile značajno više u grupi PA u odnosu na grupu afunkcionih tumora, ali ne i grupu Kušingov sindrom. Hipertenzija je značajno duže trajala u grupi PA nego kod osoba sa hiperkortizolizmom. Nije bilo značajnih razlika u prisustvu pojedinačnih kardiovaskularnih i cerebrovaskularnih događaja.
9. Nije bilo značajnih razlika u srednjim vrednostima izmerenog obima struka i indeksa telesne mase među grupama, koje su bile u rangu prekomerne težine.
10. Nisu nađene značajne razlike među grupama u srednjim vrednostima jutarnjih glikemija, niti u zastupljenosti poremećaja intolerancija glukoze i dijabetes melitus. Ispitivane grupe se nisu značajno razlikovale ni prema jednom od ispitivanih parametara metabolizma masti.
11. Metabolički sindrom je bio prisutan kod 55% od svih slučajeva sa adrenokortikalnim tumorom. Najčešći je bio u grupi tumora sa hiperkortizolizmom (70%), zatim afunkcionih tumora (65%), a značajno najređi u PA (APA) (37.5%).

12. Nije bilo značajne razlike među grupama u zastupljenosti renalne insuficijencije, u PA 20%. Renalne ciste su bile najčešće u grupi PA (30,8%), značajno češće nego u grupi afunkcioni tumori.
13. U grupi sa PA nađeni su značajno najmanji tumori, a najveći u grupi s Kušingovim sindromom. Nađena je pozitivna korelacija težine i volumena tumora sa nivoom kortizola nakon supresije deksametazonom, a negativna korelacija sa nivoom bazalnog aldosterona.
14. U periodu 2007-2017 u analiziranoj PA grupi je urađena minimalno invazivna adrenalektomija kod 21, a klasična kod 14 osoba.
15. Patohistološki opisi su imali značaja u otkrivanju nodularne hiperplazije i periazenomskih nodusa koji se ne mogu predvideti klasičnim AVS. Nalaz hibridnih ćelija u predinaciji ili uz svetle ćelije nalik zoni fascikulati bio je prisutan u 60% slučajeva, značajno češće nego u grupi SCS+CS.
16. U ranom postoperativnom periodu kod osoba sa PA je nađeno značajno smanjenje sistolnog, dijastolnog i srednjeg arterijskog pritiska. Kod trećine ispitanika normotenzija se održavala bez antihipertenzivne terapije. Kod svih osoba registrovana je normalizacija serumskog kalijuma, a porast nivoa je bio statistički značajan.
17. U produženom postoperativnom praćenju podaci o izmerenom aldosteronu su bili dostupni za 50% ispitanika sa PA, registrovan je jedan recidiv kod nodularne hiperplazije.

## 7. LITERATURA

- Aiba M, Fujibayashi M. Alteration of subcapsular adrenocortical zonation in humans with aging: the progenitor zone predominates over the previously well-developed zona glomerulosa after 40 years of age. *J Histochem Cytochem*. 2011;59:557-564.
- Akasaka H, Yamamoto K, Rakugi H, Nagasawa M, Nakamaru R, Ichijo T et al. Japan Primary Aldosteronism Study Group. Sex difference in the association between subtype distribution and age at diagnosis in patients with primary aldosteronism. *Hypertension*. 2019 Aug;74(2):368-374.
- Alesina PF, Walz MK. Adrenal Tumors: Are gender aspects relevant? *Visc Med*. 2020;36:15-19.
- Arlt W, Lang K, Sitch AJ, Dietz AS, Rhayem Y, Bancos I et al. Steroid metabolome analysis reveals prevalent glucocorticoid excess in primary aldosteronism. *JCI Insight*. 2017; 2(8): e93136. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.93136>.
- Aronova A, TJ, Zarnegar R. Management of hypertension in primary aldosteronism. *World J Cardiol*. 2014;6:227-233. doi: 10.4330/wjc. v6. i5.227.
- Audenet F, Mejean A, Chartier-Kastler E, Roupert M. Adrenal tumours are more predominant in females regardless of their histological subtype: a review. *World J Urol*. 2013 Oct;31(5):1037-43.
- Bego T, Čaušević A, Đujić T, Malenica M, Velija-Asim Z, Prnjavorac B et al. Association of FTO gene variant (rs8050136) with type 2 diabetes and markers of obesity, glycaemic control and inflammation. *J Med Biochem*. 2019;38(2):153. doi: 10.2478/jomb-2018-0023.
- Bernini G, Moretti A, Argenio G, Salvetti A. Primary aldosteronism in normokalemic patients with adrenal incidentalomas. *Eur J Endocrinol*. 2002; 146: 523-9.
- Bhatt PS, Sam AH, Meeran KM, Salem V. The relevance of cortisol co-secretion from aldosterone-producing adenomas. *Hormones (Athens)*. 2019 Sep;18(3):307-313.
- Bollag WB, *Compr Physiol*. 2014 Jul;4(3):1017-55. doi: 10.1002/cphy. c130037. PMID: 24944029 Review.
- de Bold A (1985). "Atrial natriuretic factor: a hormone produced by the heart". *Science*. 230 (4727): 767-70.
- Born-Frontsberg E, Reincke M, Rump LC, Hahner S, Diederich S, Lorenz R et al. Cardiovascular and cerebrovascular comorbidities of hypokalemic and normokalemic primary aldosteronism: Results of the German Conn's Registry. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009; 94: 1125-1130.
- Boukroun S, Beuschlein F, Rossi GP, et al. Prevalence, clinical, and molecular correlates of KCNJ5 mutations in primary aldosteronism. *Hypertension*. 2012; 59:592-598.
- Boukroun S, Samson-Couterie B, Dzib JF, Lefebvre H, Louiset E, Amar et al. Adrenal cortex remodeling and functional zona glomerulosa hyperplasia in primary aldosteronism. *Hypertension*. 2010;56:885-892.
- Bravo EL, Tarazi RC, Dustan HP, Fouad FM, Textor SC, Gifford RW, et al. The changing clinical spectrum of primary aldosteronism. *Am J Med*. 1983;74:641-651.
- Briet M, Schiffrin EL. Aldosterone: effects on the kidney and cardiovascular system. *Nat Rev Nephrol*. 2010; 6(5): 261-73.
- Briones AM, Ngueyen Dinh Cat A, Callera GE, Yogi A, Burger D, He Y et al. Adipocytes produce aldosterone through calcineurin-dependent signaling pathways implications in diabetes mellitus-associated obesity and vascular dysfunction. *Hypertension* 2012;59:1069-78.
- Burpee SE, Jossart GH, Gagner M. Laparoscopic adrenalectomy. In: Holzheimer RG, Mannick JA, editors. *Surgical Treatment: Evidence-Based and Problem-Oriented*. Munich: Zuckschwerdt; 2001. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6872/>
- Catena C, Colussi G, Nadalini E et al. Cardiovascular outcomes in patients with primary aldosteronism after treatment. *Arch Intern Med* 2008; 168: 80- 5.
- Catena C, Colussi G, Nadalini E, Chiuch A, Baroselli S, Lapenna R, et al. Relationships of plasma renin levels with renal function in patients with primary aldosteronism. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007; 2: 722-31.

- Catena C, Colussi G, Sechi LA. Treatment of primary aldosteronism and organ protection. *Int J Endocrinol*. 2015; [http://dx. doi. org/10.1155/2015/597247](http://dx.doi.org/10.1155/2015/597247).
- Chanson P, Salenave S. Metabolic syndrome in Cushing's syndrome. *Neuroendocrinology* 2010; 92(suppl 1): 96-101.
- Chobanian AV, Bakris GL, Black HR et al. 2003; The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA* 2003; 289: 2560-72.
- Chung SD, Huang KH, Yu HJ, Wu KD, Chueh SC. Diagnosis of bilateral aldosterone-producing adenomas. *Kidney Int* 2007; 72: 228.
- Cicala MV, Mantero F. Hypertension in Cushing's syndrome: From pathogenesis to treatment. *Neuroendocrinology*. 2010; 92(suppl 1): 44-9.
- Ćirić J. Konov sindrom-primarni aldosteronizam. U: *Hirurgija nadbubrežne žlezde*. Urednici: Paunović I, Diklić A, Živaljević V. Beograd 2019, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, CIBID. 129-137.
- Ćirić J, Beleslin B, Stojković M, Trbojević B, Žarković M. Combined primary aldosteronism and preclinical Cushing's syndrome due to a large adrenocortical adenoma. *Endocrine Abstracts*, 12th European Congress of Endocrinology. 2010; 22:48.
- Diklić A. Klasična adenektomija. U: *Hirurgija nadbubrežne žlezde*. Urednici: Paunović I, Diklić A, Živaljević V. Beograd 2019, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, CIBID. 233-244.
- Doppman JL, Gill JR, Miller DL, Chang R, Gupta R, Friedman TC et al. Distinction between hyperaldosteronism due to bilateral hyperplasia and unilateral aldosteronoma: reliability of CT. *Radiology*. 1992;184:677-682. doi: 10.1148/radiology.184.3.1509049.
- Ducher M, Mounier-Véhier C, Baguet JP, Tartière JM, Sosner P, Régnier-Le Coz et al. Aldosterone-to-renin ratio for diagnosing aldosterone-producing adenoma: a multicentre study. *Arch Cardiovasc Dis*. 2012;105:623-630. doi: 10.1016/j.acvd.2012.07.006.
- Eide IK, Torjesen PA, Drolsum A et al Low-renin status in therapy resistant hypertension - a clue to efficient treatment. *J Hypertens* 2004; 22: 2217-26.
- Engeli S, Negrel R, Sharma AM. Physiology and pathophysiology of the adipose tissue renin-angiotensin system. *Hypertension*. 2000; 35(6): 1270-7.
- Espiner EA, Ross DG, Yandle TG, Richards AM, Hunt PJ. Predicting surgically remedial primary aldosteronism: role of adrenal scanning, posture testing, and adrenal vein sampling. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:3637-3644. doi: 10.1210/jc.2002-022051
- Fallo F, Pilon C, Urbanet R. Primary aldosteronism and metabolic syndrome. *Horm Metab Res*. 2012; 44(3):208-14.
- Fardella CE, Mosso L, Gomez-Sanchez C, Cortes P, Soto J, Gomez L et al. Primary hyperaldosteronism in essential hypertensives: prevalence, biochemical profile, and molecular biology. *J Clin Endocrinol*. 2000; *Metab* 85:1863-1867 11.
- Fassnacht M, Arlt W, Bancos I, Dralle H, Newell-Price J, Sahdev A 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. *Eur J Endocrinol*. 2016; 175: G1-G34.
- Fischer E, Adolf C, Pallauf A, et al. Aldosterone excess impairs first phase insulin secretion in primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013; 98:2513-2520.
- Fountain J.H, Sarah L. Lappin. Physiology, Renin Angiotensin System In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan.
- Fourkoti V, Vonend O, Diederich S, et al. Effectiveness of eplerenone or spironolactone treatment in preserving renal function in primary aldosteronism. *Eur J Endocrinol*. 2013; 168:75-

- Funder JW, Carey RM, Fardella C, Gomez-Sanchez CE, Mantero F, Stowasser M et al. Case detection, diagnosis, and treatment of patients with primary aldosteronism: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93:3266-3281.
- Funder JW, Carey RM, Mantero F, Murad MH, Hassan M, Reincke M et al. The management of primary aldosteronism: case detection, diagnosis, and treatment: An Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016; 101:1889-1916.
- Gallay BJ, Ahmad S, Xu L, Toivola B, Davidson RC. Screening for primary aldosteronism without discontinuing hypertensive medications: plasma aldosterone-renin ratio. *Am J Kidney Dis.* 2001 Apr;37(4):699-705.
- Gardner, D. G., Shoback, D. i Greenspan, F. S. (2007). *Greenspanova osnovna i klinička endokrinologija.* McGraw-Hill Medical.
- Ghose RP, Hall PM, Bravo EL. Medical management of aldosterone-producing adenomas. *Ann Intern Med.* 1999;131:105-108.
- Gioco F, Seccia TM, Gomez-Sanchez E, Rossi GP, Gomez-Sanchez C. Adrenal histopathology in primary aldosteronism: Is it time for a change? *Hypertension* 2015; 66: 724-730.
- Gomez-Sanchez CE, Qi X, Velarde-Miranda C, Plonczynski MW, Parker CR, Rainey W et al. Development of monoclonal antibodies against human CYP11B1 and CYP11B2. *Mol Cell Endocrinol.* 2014;383:111-117.
- Gordon RD. Primary aldosteronism-actual epidemics or false alarm? *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2004 Oct;48(5):666-73.
- Gruber S, Stasi E, Steiner R, Reincke M, Bornstein S, Beuschlein F. Incidence of Primary Aldosteronism in Patients with Hypokalemia (IPAHK+): Study Design and Baseline Characteristics. *Horm Metab Res.* 2021 Dec;53(12):787-793.
- Hanslik G, Wallaschofski H, Dietz A, Riestner A, Reincke M, Allolio B et al. Participants of the German Conn's Registry. Increased prevalence of diabetes mellitus and the metabolic syndrome in patients with primary aldosteronism of the German Conn's Registry. *Eur J Endocrinol.* 2015;173(5):665-75.
- Heinrich DA, Adolf C, Rump LC, Quack I, Quinkler M, Hahner S et al. Primary aldosteronism: key characteristics at diagnosis - a trend towards milder forms. *Eur J Endocrinol.* 2018; 178(6):605-611.
- Hiramatsu K, Yamada T, Yukimura Y, Komiya I, Ichikawa K, Ishihara M et al. A screening test to identify aldosterone-producing adenoma by measuring plasma renin activity Gomez-Sanchez CE, Qi X, Velarde-Miranda C, Plonczynski MW, Parker CR, Rainey W, Satoh F, Maekawa. Results in hypertensive patients. *Arch Intern Med.* 1981;141:1589-1593.
- Ishidoya S, Ito A, Sakai K, Satoh M, Chiba Y, Sato F, Arai Y. Laparoscopic partial versus total adrenalectomy for aldosterone producing adenoma. *J Urol.* 2005 Jul;174(1):40-3.
- Isidori AM, Graziadio C, Paragliola RM, Cozzolino A, Ambrogio AG, Colao A et al. ABC Study Group. The hypertension of Cushing's syndrome: controversies in the pathophysiology and focus on cardiovascular complications. *J Hypertens.* 2015; 33(1): 44-60.
- Johnston CI. Franz Volhard Lecture. Renin-angiotensin system: a dual tissue and hormonal system for cardiovascular control. *Hypertens Suppl.* 1992 Dec;10(7):S13-26.
- Karagiannis A, Tziomalos K, Kakafika AI, Athyros VG, Harsoulis F, Mikhailidis DP. Medical treatment as an alternative to adrenalectomy in patients with aldosterone-producing adenomas. *Endocr Relat Cancer.* 2008;15:693-700. doi: 10.1677/erc-08-0094.
- Katayama Y, Takata N, Tamura T, Yamamoto A, Hirata F, Yasuda H et al. A case of primary aldosteronism due to unilateral adrenal hyperplasia. *Hypertens Res.* 2005 Apr; 28(4):379-384.
- Käyser S C, Dekkers T, Groenewoud H J, van der Wilt G J, Carel B J, van der Wel M C et al. Study Heterogeneity and Estimation of Prevalence of Primary Aldosteronism: A Systematic Review and Meta-Regression Analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101(7):2826. doi: 10.1210/jc.2016-1472.

- Kempers MJ, Lenders JW, van Outheusden L, van der Wilt GJ, Schultze Kool LJ, et al. Dei-num J. Systematic review: diagnostic procedures to differentiate unilateral from bilateral adrenal abnormality in primary aldosteronism. *Ann Intern Med.* 2009; 151:329-337.
- Kidoguchi S, Sugano N, Hayashi-Ishikawa N, Morisawa N, Tokudome G, Yokoo T. The characteristics of captopril challenge test-positive patients using various criteria. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2019 Jul-Sep;20(3):1470320319870891.
- Kim BY, Chun AR, Kim KJ, Jung CH, Kang SK, Mok JO, et al. Clinical characteristics and metabolic features of patients with adrenal incidentalomas with or without subclinical Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab* 2014; 29: 457-63.
- Kitamoto T, Omura M, Takiguchi T, Tsurutani Y, Kubo H, Yamazaki Y et al. Precise mapping of intra-adrenal aldosterone activities provides a novel surgical strategy for primary aldosteronism. *Hypertension.* 2020; 76:976-984.
- Kobayashi H, Haketa A, Ueno T, Ikeda Y, Hatanaka Y, Tanaka S, Otsuka H, Abe M, Fukuda N, Soma M. Scoring system for the diagnosis of bilateral primary aldosteronism in the outpatient setting before adrenal venous sampling. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2017; 86(4):467-472.
- Kuo LE, Wachtel H, Roses RE, Fraker DL, Kelz RR. Incidental and Intentional Medicine Achieve Si-milar Results in Primary Hyperaldosteronism. *Ann Surg Oncol*; 2015 Jul 21. [Epub ahead of print].
- Küpers EM, Amar L, Raynaud A, Plouin PF, Steichen O: A clinical prediction score to diagnose unilateral primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab* 2012, 97:3530-7.
- Labinson PT, White WB, Tendler BE, Mansoor GA. Primary hyperaldosteronism associated with hypertensive emergencies. *AJH.* 2006; 19:623-627.
- Lenzini L, Seccia TM, Aldighieri E, Belloni AS, Bernante P, Giuliani L et al. Heterogeneity of aldosterone-producing adenomas revealed by a whole transcriptome analysis. *Hypertension.* 2007;50:1106-1113.
- Li KP, Duan X, Yang XS, Huang J, Wu T. Partial versus total adrenalectomy for the treatment of unilateral aldosterone-producing adenoma: a systematic review and meta-analysis. *Updates Surg.* 2021 Dec;73(6):2301-2313.
- Lim V, Guo Q, Grant CS, et al. Accuracy of adrenal imaging and adrenal venous sampling in predicting surgical cure of primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 99:2712-2719.
- Lim YY, Shen J, Peter PJ, Yang J. Current pattern of primary aldosteronism diagnosis: Delayed and complicated. *AJGP.* 2018; 47(10):712-718.
- McKenzie TJ, Lillegard JB, Young WF Jr, Thomson GB. Aldosteronomas-state of art. *Surg Clin North Am* 2009; 89: 1241-1253.
- Meng X, Li Y, Wang X, Li J, Liu Y, Yu Y. Evaluation of the Saline Infusion Test and the Captopril Challenge Test in Chinese Patients With Primary Aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018 Mar 1;103(3):853-860.
- Meria P, Kempf BF, Hermieu JF, Plouin PF, Duclos JM. Laparoscopic management of primary hyperaldosteronism: clinical experience with 212 cases. *J Urol.* 2003;169:32-35.
- Meyer A, Brabant G, Behrend M. Long-term follow-up after adrenalectomy for primary aldosteronism. *World J Surg.* 2005;29:155-159.
- Micić D, Stamenković-Pejković D, Polovina S. Metabolički sindrom, diabetes mellitus tip 2 i kardiovaskularni poremećaji. *Medicinski glasnik Specijalne bolnice za bolesti štitaste žlezde i bolesti metabolizma 'Zlatibor'.* 2010,vol.15, br. 34,str. 19-42.
- Milliez P, Girerd X, Plouin PF, Blacher J, Safar ME, Mourad JJ. Evidence for an increased rate of cardiovascular events in patients with primary aldosteronism. *J Am Coll Cardiol.* 2005;45:1243-1248.
- Monticone S, Burrello J, Tizzani D et al. Prevalence and clinical manifestations of primary aldosteronism encountered in primary care practice. *J Am Coll Cardiol* 2017; 69: 1811- 20.

- Monticone S, D'Ascenzo F, Moretti C et al. Cardiovascular events and target organ damage in primary aldosteronism compared with essential hypertension: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2018; 6: 41- 50.
- Montori VM, Young Jr WF 2002 Use of plasma aldosterone concentration-to-plasma renin activity ratio as a screening test for primary aldosteronism. A systematic review of the literature. *Endocrinol Metab Clin North Am* 31: 619-632.
- Morimoto R, Satani N, Iwakura Y, Ono Y, Kudo M, Nezu M et al. A case of bilateral aldosterone-producing adenomas differentiated by segmental adrenal venous sampling for bilateral adrenal sparing surgery. *J Hum Hypertens*. 2016; 30:379-385.
- Mosso L, Carvajal C, Gonzalez A, Barraza A, Avila F, Montero J et al. Primary aldosteronism and hypertensive disease. *Hypertension*. 2003; 42:161-165.
- Mulatero P, Milan A, Fallo F, Regolisti G, Pizzolo F, Fardella C et al. Comparison of confirmatory tests for the diagnosis of primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:2618-2623.
- Mulatero P, Monticone S, Bertello C, et al. Confirmatory tests in the diagnosis of primary aldosteronism. *Horm Metab Res*. 2010; 42:406-410.
- Mulatero P, Monticone S, Bertello C, et al. Long-term cardio- and cerebrovascular events in patients with primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013; 98:4826-4833.
- Mulatero P, Stowasser M, Loh KC, Fardella CE, Gordon RD, Mosso L et al. Increased diagnosis of primary aldosteronism, including surgically correctable forms, in centers from five continents. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:1045-1050. doi: 10.1210/jc.2003-031337.
- Muller DN, Bohlender J, Hilgers KF, Dragun D, Costerousse O, Menard J, et al. Vascular angiotensin-converting enzyme expression regulates local angiotensin II. *Hypertension*. 1997; 29(1 Pt 1): 98-104.
- Murashima M, Trerotola SO, Fraker DL, Han D, Townsend RR, Cohen DL. Adrenal venous sampling for primary aldosteronism and clinical outcomes after unilateral adrenalectomy: a single-center experience. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2009 Jun; 11(6):316-323.
- Murad MH, Hassan M, Reincke M, Shibata MH, Stowasser forms, after "non-selective" screening of hypertensive patients. *J Hypertens*. 2003; 21:2149-2157.
- Muscogiuri G, De Martino MC, Negri MR, Pivonello C, Simeoli C, Orio F et al. Adrenal mass: Insight into pathogenesis and a common link with insulin resistance. *Endocrinology* 2017;158:1527-32.
- Muth A, Ragnarsson O, Johansson G, Wanteberg B. Systematic review of surgery and outcomes in patients with primary aldosteronism. *Br J Surg*. 2015; 102(4):307-317.
- Nakamura Y, Maekawa T, Felizola SJ, Satoh F, Qi X, Velarde-Miranda C, Plonczynski MW et al. Adrenal CYP11B1/2 expression in primary aldosteronism: immunohistochemical analysis using novel monoclonal antibodies. *Mol Cell Endocrinol*. 2014;392:73-79.
- Nanba K, Tamanaha T, Nakao K, Kawashima ST, Usui T, Tagami T et al. Confirmatory testing in primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97:1688-1694. doi: 10.1210/jc.2011-2504.
- Nanba K, Tsuiki M, Nakao K, Nanba A, Usui T, Tagami T, Hirokawa Y, Okuno H, Suzuki T, Shimbo T, Shimatsu A, Naruse M. A subtype prediction score for primary aldosteronism. *J Hum Hypertens*. 2014 Dec;28(12):716-20.
- Neville A. M., O'Hare M. J. Functional activity of the adrenal cortex. *The human Adrenal Cortex*, Springer-Verlag, New York, 1982, pp. 68-98.
- Nishimoto K, Nakagawa K, Li D, Kosaka T, Oya M, Mikami S et al. Adrenocortical zonation in humans under normal and pathological conditions. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95:2296-2305.
- Novello M, Catena C, Nadalin E, Colussi G, Baroselli S, Chiuch A et al. Renal cysts and hypokalemia in primary aldosteronism: results of long-term follow-up after treatment. *J Hypertens* 2007, 25(7):1443-50.
- Nwariaku FE, Miller BS, Auchus R, et al. Primary hyperaldosteronism: effect of adrenal vein sampling on surgical outcome. *Arch Surg*. 2006; 141:497-502.

- Ohno Y, Sone M, Inagaki N, Takeda Y, Kurihara I, Tsuiki M et al. JPAS/JRAS Study Group. Latent autonomous cortisol secretion from apparently nonfunctioning adrenal tumor in nonlateralized hyperaldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2019 Oct 1;104(10):4382-4389.
- Paran H, Elad G, Benchetrit S, Griton I, Haas I, Yaslowitz O, Shmulevsky P. Long-term outcomes of unilateral adrenalectomy in patients with dominant-side adrenal hyperplasia. *World J Endoc Surg.* 2017;9(2):37-40.
- Parthasarathy HK, Ménard J, White WB, et al. A double-blind, randomized study comparing the antihypertensive effect of eplerenone and spironolactone in patients with hypertension and evidence of primary aldosteronism. *J Hypertens.* 2011;29:980-990.
- Paunović I, Jovanović M. Minimalno invazivna adrenaletomija. U: *Hirurgija nadbubrežne žlezde*. Urednici: Paunović I, Diklić A, Živaljević V. Beograd 2019, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, CIBID. 247-262.
- Paunović I, Jovanović M, Rovčanin B, Đivaljević V, Taušanović K, Diklić A. Pikaz slučaja prve laparoscopske adrenaletomije kod feohromocitoma u Kliničkom centru Srbije; "Zlatibor". 2018, vol. 23, br. 68, str. 718.
- Papadopoulou-Marketou N, Vaidya A, Dluhy R, Chrousos GP. Hyperaldosteronism. In: *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000–2020 Aug 6.
- Patel S, Rauf A, Khan H, Abu-Izneid T. *Biomed Pharmacother.* Renin-angiotensin-aldosterone (RAAS): The ubiquitous system for homeostasis and pathologies. 2017 Oct;94:317-325.
- Phillips JL, Walther MM, Pezzullo JC, Rayford W, Choyke PL, Berma n AA et al. Predictive value of preoperative tests in discriminating bilateral adrenal hyperplasia from an aldosterone-producing adrenal adenoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:4526-4533. doi: 10.1210/jcem.85.12.7086
- Pradhan R, Mattoo S, Gupta S, Agarwal A. Cortisol and aldosterone co-secreting tumors: a diagnostic challenge. *WJOES* 2019;11:28-30.
- Quillo AR, Grant CS, Thompson GB, Farley DR, Richards ML, Young WF. Primary aldosteronism: results of adrenalectomy for nonsingle adenoma. *J Am Coll Surg.* 2011 Jul;213(1):106-12; discussion 112-3.
- Reinke M, Rump LC, Quinkler M, Hahner S, Diederich S, Lorenz R et al. Participants of German Conn's Registry. Risk factors associated with a low glomerular filtration rate in primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94:869-875.
- Riberio Cavalari EM, de Paula MP, Aruda M, Carraro N, Martins A, de Suza K et al. Nonfunctioning adrenal incidentaloma. A novel predictive factor for metabolic syndrome, *Clin Endocrinol (Oxf)* 2018;89(5):586-595.
- Riester A, Fischer E, Degenhart C, et al. Age below 40 or a recently proposed clinical prediction score cannot bypass adrenal venous sampling in primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 99: E1035-E1039.
- Rossi GP, Auchus RJ, Brown M, Lenders JW, Naruse M, Plouin PF et al. An expert consensus statement on use of adrenal vein sampling for the subtyping of primary aldosteronism. *Hypertension.* 2014;63:151-160. doi: 10.1161/hypertensionaha.113.02097.
- Rossi GP, Belfiore A, Bernini G, Desideri G, Fabris B, Ferri C et al. Comparison of the captopril and the saline infusion test for excluding aldosterone-producing adenoma. *Hypertension.* 2007; 50: 424-431.
- Rossi GP, Belfiore A, Bernini G, Desideri G, Fabris B, Ferri C et al. PAPY Study Investigators. Prospective evaluation of the saline infusion test for excluding primary aldosteronism due to aldosterone-producing adenoma. *J Hypertens.* 2007 Jul;25(7):1433-42.
- Rossi GP, Belfiore A, Bernini G, Fabris B, Caridi G, Ferri C et al. Aldosterone concentrations in overweight-obese primary hypertensive patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(7):2566-2571.
- Rossi GP, Bernini G, Caliumi C, Desideri G, Fabris B, Ferri C et al. A prospective study of the prevalence of primary aldosteronism in 1,125 hypertensive patients. *J Am Coll Cardiol.* 2006;48:2293-300



- Rossi GP, Bernini G, Desideri G, Fabris B, Ferri C, Giacchetti G et al. PAPY Study Participants. Renal damage in primary aldosteronism: results of the PAPY Study. *Hypertension*. 2006; 48:232-238.
- Rossi GP, Bolognesi M, Rizzoni D, Seccia TM, Piva A, Porteri E et al. Vascular remodeling and duration of hypertension predict outcome of adrenalectomy in primary aldosteronism patients. *Hypertension*. 2008; 51:1366-1371.
- Rossi GP, Sacchetto A, Chiesura-Corona M, De Toni R, Gallina M, Feltrin GP et al. Identification of the etiology of primary aldosteronism with adrenal vein sampling in patients with equivocal computed tomography and magnetic resonance findings: results in 104 consecutive cases. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86:1083-1090.
- Rossi GP, Sacchetto A, Visentin P, Canali C, Graniero GR, Palatini P, Pessina AC. Changes in left ventricular anatomy and function in hypertension and primary aldosteronism. *Hypertension*. 1996; 27:1039-1045.
- Rossi GP, Sechi LA, Giacchetti G et al. Primary aldosteronism: cardiovascular, renal and metabolic implications. *Trends Endocrinol Metab* 2008; 19 (3): 88-90.
- Ruhle BC, White MG, Alsafran S, Kaplan EL, Angelos P, Grogan RH. Keeping primary aldosteronism in mind: Deficiencies in screening at-risk hypertensives. *Surgery* 2019; 165(1):221-7.
- Satoh F, Morimoto R, Seiji K, Satani N, Ota H, Iwakura Y et al. Is there a role for segmental adrenal venous sampling and adrenal sparing surgery in patients with primary aldosteronism? *Eur J Endocrinol*. 2015 Oct;173(4):465-77.
- Savard S, Amar L, Plaunin PF, Steichen O. Cardiovascular complication associated with PA: a control-led cross-sectional study. *Hypertension* 2013; 62 (2); 331-336.
- Scholl UI, Healy JM, Thiel A, Fonseca AL, Brown TC, Kunstman JW et al. Novel somatic mutations in primary hyperaldosteronism are related to the clinical, radiological and pathological phenotype. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015; 83(6):779-789.
- Schwartz GL, Turner ST 2005 Screening for primary aldosteronism in essential hypertension: diagnostic accuracy of the ratio of plasma aldosterone concentration to plasma renin activity. *Clin Chem* 51:386-394
19. Mulatero P, Stowasser M, Loh KC, Fardella CE, Gordon RD, Mosso
- Sellgren F, Koman A, Nordenstrom E, Hellman P, Hennings J, benefit A. Outcomes after surgery for unilateral dominant primary aldosteronism in Sweden. *World J Surg*. 2020; 44:561-569.
- Shariq OA, Mehta K, Thompson GB, Lyden ML, Farley DR, Bancos I et al. Primary aldosteronism: Does underlying pathology impact clinical presentation and outcomes following unilateral adrenalectomy? *World J Surg*. 2019 Oct;43(10):2469-2476.
- Shigematsu K, Kawai K, Irie J, Sakai H, Nakashima O, Iguchi A et al. Analysis of unilateral adrenal hyperplasia with primary aldosteronism from the aspect of messenger ribonucleic acid expression for steroidogenic enzymes: A comparative study with adrenal cortices adhering to aldosterone-producing adenoma. *Endocrinology*. 2006; 147(2):999-1006.
- So A, Duffy DL, Gordon RD, Jeske YW, Lin-Su K, New MI, Stowasser M. Familial hyperaldosteronism type II is linked to the chromosome 7p22 region but also shows predicted heterogeneity. *J Hypertens*. 2005;23:1477-1484
- Solar M, Malirova E, Ballon M, Pelouch R, Ceral J. Confirmatory testing in primary aldosteronism: extensive medication switching is not needed in all patients. *Eur J Endocrinol*. 2012; 166: 679-686.
- Somoloova Z, Widimsky J, Jr, Rosa J, Wicherle D, Strauch B, Petrak O et al. The prevalence of metabolic syndrome and its components in two main types of primary aldosteronism. *J Hum Hypertens* 2010;24:625-30.
- Spath M, Korovkin S, Antke C, Anlauf M, Willenberg HS. Aldosterone- and cortisol-co-secreting adrenal tumors: the lost subtype of primary aldosteronism. *Eur J Endocrinol* 2011; 164: 447-455.
- Splat A., Hunyay L. Control of aldosterone secretion: a model for convergence in cellular signaling pathways, *Physiol. Rev.*84 (2004).
- Stier Jr CT, Chander PN, Rocha R 2002 Aldosterone as a mediator in cardiovascular injury. *Cardiol Rev* 10:97-107.

- Stowasser M, Ahmed AH, Pimenta E, Taylor PJ, Gordon RD. Factors affecting the aldosterone/renin ratio. *Horm Metab Res.* 2012; 44:170-176.
- Stowasser M, Gordon RD, Gunasekera TG, Cowley DC, Ward G, Archibald C et al. High rate of detection of primary aldosteronism, including surgically treatable 1. Funder JW, Carey RM, Mantero F, Murad MH, Hassan M, Reincke M, Shibata MH, Stowasser forms, after "non-selective" screening of hypertensive patients. *J Hypertens.* 2003; 21:2149-2157.
- Stowasser M, Gordon RD. Primary aldosteronism-careful investigation is essential and rewarding. *Mol Cell Endocrinol.* 2004;217:33-39.
- Stowasser M. Update in primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015; 100: 1-10.
- Strauch B, Zelinka T, Hampf M, Bernhardt R, Widimsky Jr J. Prevalence of primary hyperaldosteronism in moderate to severe hypertension in the Central Europe region. *J Hum Hypertens* 2003; 17:349-352 25. Williams JS, Williams GH, Raji A, Jeunemaitre X, Brown NJ, Hopkins PN
- Sukor N, Gordon RD, Ku YK, Jones M, Stowasser M. Role of unilateral adrenalectomy in bilateral primary aldosteronism: a 22-year single center experience. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 2437-2445.
- Tang L, Li X, Wang B, Ma X, Li H, Gao Y et al. Clinical characteristics of aldosterone- and cortisol-coproducing adrenal adenoma in primary aldosteronism. *Int J Endocrinol Volume 2018, Article ID 4920841*, <https://doi.org/10.1155/2018/4920841>
- Tatić S, Dunderović D. Patologija nadbubrežne žlezde. U: *Hirurgija nadbubrežne žlezde*. Urednici: Paunović I, Diklić A, Živaljević V. Beograd 2019, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, CIBID. 37-50.
- Te Riet L, van Esch JH, Roks AJ, van den Meiracker AH, Danser AH. Hypertension: renin-angiotensin-aldosterone system alterations. *Circ Res.* 2015; 116:960-975.
- The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. Available from: [Internet] [http://www.idf.org/webdata/docs/IDF\\_Meta\\_def\\_final.pdf](http://www.idf.org/webdata/docs/IDF_Meta_def_final.pdf).
- Tores VE, Young WF Jr, Offord KP, Hattery RR. Assotiation of hypokalemia, aldosteronism, and renal cystis. *N Eng J Med* 1990;322:345-51.
- Turchi F, Ronconi V, Di Tizio V, Ceccoli L, Boscaro M, Giacchetti G. Primary aldosteronism and essential hypertension: assesment of cardiovascular risk at diagnosis and after treatment. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2014;24(5):476-82.
- Van de Wiel ECJ, Küsters B, Mann R, Veltien A, Aalders TW, Verhaegh GW et al. Partial Adrenalectomy Carries a Considerable Risk of Incomplete Cure in Primary Aldosteronism. *J Urol.* 2021 Aug;206(2):219-228.
- Volpe C, Hamberger B, Hoog A, Mukai K, Calissendorff J, Wahrenberg H et al. Primary aldosteronism: functional histopathology and long-term follow-up after unilateral adrenalectomy. *Clin Endocrinol.* 2015;82: 639-647.
- Volpe C, Hamberger B, Zedenius J, Juhlin CC. Impact of immunohistochemistry on the diagnosis and management of primary aldosteronism: An important tool for improved patient follow-up. *Scand J Surg.* 2020, Vol. 109(2): 133-142.
- Vujačić N, Paunović I, Diklić A, Živaljević V, Slijepčević N, Kalezić N, Stojković M, Stojanović M, Beleslin B, Žarković M, Ćirić J. Biochemical and clinical characteristics of patients with primary aldosteronism-single centre experience. *J Med Biochem* 2020; 39:240-248.
- Wada N, Miyoshi A, Usubuchi H, Terae S, Shibayama Y, Takahashi B et al. Prediction of unilateral hyperaldosteronism on adrenal vein sampling using captopril challenge test in patients with primary aldosteronism. *Endocr J.* 2021 Jan 28;68(1):45-51.
- Weinberger MH, Fineberg NS. The diagnosis of primary aldosteronism and separation of two major subtypes. *Arch Intern Med.* 1993;153:2125-2129.
- Weiner I D. Endocrine and Hypertensive Disorders of Potassium Regulation: Primary Aldosteronism. *Semin Nephrol.* 2013;33(3):265. doi: 10.1016/j.semnephrol.2013.04.007.

- Weisbrod AB, Webb RC, Mathur A, Barak S, Abraham SB, Nilubol N et al. Adrenal histologic findings show no difference in clinical presentation and outcome in primary hyperaldosteronism. *Ann Surg Oncol*. 2013 Mar;20(3):753-8.
- Westerdahl C, Bergenfelz A, Isaksson A, Valdemarsson S. Captopril suppression: limitations for confirmation of primary aldosteronism. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2011 Sep;12(3):326-32.
- Willenberg HS, Vonend O, Schott M, Gao X, Blondin D, Saleh A et al. Comparison of the saline infusion test and the fludrocortisone suppression test for the diagnosis of primary aldosteronism. *Horm Metab Res*. 2012 Jun;44(7):527-32.
- Williams TA, Lenders JWM, Mulatero P, Burrello J, Rottenkolber M, Adolf C et al. Primary Aldosteronism Surgery Outcome (PASO) investigators. Outcomes after adrenalectomy for unilateral primary aldosteronism: an international consensus on outcome measures and analysis of remission rates in an international cohort. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2017 Sep;5(9):689-699.
- Williams TA, Reincke M. Management of endocrine disease. Diagnosis and management of primary aldosteronism: the Endocrine Society guideline 2016 revisited. *Eur J Endocrinol*. 2018; 179(1): R19-R29.
- Wu VC, Chueh SC, Chang HW, Lin WC, Liu KL, Li HY et al. Bilateral aldosterone-producing adenomas: differentiation from bilateral adrenal hyperplasia. *QJM*. 2008 Jan;101(1):13-22.
- Young M WF Jr. The management of primary aldosteronism: case detection, diagnosis, and treatment: An Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016; 101:1889-1916.
- Young WF, Klee GG. Primary aldosteronism. Diagnostic evaluation. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 1988;17:367-395
- Young WF, Stanson AW, Grant CS, Thompson GB, van Heerden JA. Primary aldosteronism: adrenal venous sampling. *Surgery*. 1996;120:913-99.
- Young WF, Stanson AW, Thompson GB, Grant CS, Farley DR, van Heerden JA. Role for adrenal venous sampling in primary aldosteronism. *Surgery*. 2004;136:1227-1235. doi: 10.1016/j.surg.2004.06.051
- Young WF. Primary aldosteronism: renaissance of a syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007;66:607-618. doi: 10.1111/j.1365-2265.2007.02775.
- Zarnegar R, Bloom AI, Lee J, Kerlan RK, Wilson MW, Laberge JM et al. Is adrenal venous sampling necessary in all patients with hyperaldosteronism before adrenalectomy? *J Vasc Interv Radiol*. 2008;19:66-71. doi: 10.1016/j.jvir.2007.08.022
- Zennaro MC, Boulkroun S, Fernandes F An update on novel mechanisms of primary aldosteronism. *J Endocrinol* 2015; 224: R63-R79.
- Zhu K, Zhang Y, Zhang W, Li H, Feng W, Zhu D et al. The captopril challenge test for diagnosing primary Aldosteronism in a Chinese population. *BMC Endocrine Disorders*. 2019; 19:65 <https://doi.org/10.1186/s12902-019-0390-3>
- Žarković M. Funkcionalna dijagnostika oboljenja nadbubrežne žlezde. U: *Hirurgija nadbubrežne žlezde*. Urednici: Paunović I, Diklić A, Živaljević V. Beograd 2019, Medicinski fakultet Uni-verziteta u Beogradu, CIBID. 81-89.
- Živaljević V, Rovčanin B. Adrenalektomija. U: *Hirurgija nadbubrežne žlezde*. Urednici: Paunović I, Diklić A, Živaljević V. Beograd 2019, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, CIBID. 225-230.

## **Prilozi**

### **Prilog 1 – Spisak skraćenica**

**PA** – Primarni aldosteronizam

**APA** – Aldosteron produkujući adenom

**BAH** – Bilateralna adrenalna hiperplazija

**CS** – *Cushing syndrome* / Cushing-ov sindrom

**SCS** – *Subclinical Cushing Syndrome* / Subklinički Cushing-ov sindrom

**NFA** – Afunkcioni adrenalni adenom

**ACTH** – Adrenokortikotropni hormon

**MRA** – Mineralokortikoidni agonisti

**CT** – *Computed Tomography* / Kompjuterizovana tomografija

**CVI** – *Cerebrovascular Insult* / Moždani udar

**CRP** – C-reaktivni protein

**HbA1c** – *Hemoglobin A1c* / Glikozilirani hemoglobin A1c

**HDL** – *High-Density Lipoproteins* / Lipoproteini visoke gustine

**LDL** – *Low-Density Lipoproteins* / Lipoproteini niske gustine

**HT** – Hipertenzija

**EHT** – Esencijana hipertenzija

**ANF** – Atrijalni natriuretski faktor

**IHA** – Idiopatska adrenalna hiperplazija

**NFA** – *Nonfunctioning Adrenal Adenoma* / Afunkcioni adrenalni adenom

**PRA** – *Plasma Renin Activity* / Aktivnost renina u plazmi

**ARR** – Aldosteron renin ratio/Odnos aldosteron renin

**RAS** – Renin angiotenzin sistem

**RAAS** – Renin angiotensin aldosteron sistem

**AT1R** – Receptor za angiotenzin 1

**AT2R** – Receptor za angiotenzin 2

**MK** – Mineralokortikoidi

**MKR** – Mineralokortikoidni receptor

**ZG** – Zona glomeruloza

**ZF** – Zona fascikulata

**ZR** – Zona retikularis

**DCR** – Direkna koncentracija renina

**11 $\beta$ -HSD2** – 11beta-hidroksisteroid dehidrogenaza

**US** – *Ultrasound* / Ultrazvuk

**AVS** – Arteriovenski sampling

**VCI** – Vena cava inferior

**BMI** – *Body Mass Index* / Indeks telesne mase

**WC** – *Waist Circumference* / Obim struka

**HE** – Hematoksilin eoziofilin

**WHO** – World Health Organisation/Svetska zdravstvena organizacija

**EGIR**: European Group for the Study of Insulin Resistance

**NCEP ATP III**: National Cholesterol Education Programme-Adult

**AACE**: American Association of Clinical Endocrinology

**AHA/NHLBI**: American Heart Association/National Heart, Lung and Blood Institute

**IR:** insulinska rezistencija,

**IGT:** impaired glucose tolerance (oštećena glikozna tolerancija), **IFG:** impaired fasting glucose (oštećena glikozna tolerancija našte),

**WHR:** waist-hip ratio (odnos struk/kuk),

**WC:** waist circumference (obim struka)

## **Biografija autora**

Nataša Vujačić, rođena je 26. avgusta 1970. god. u Kosovskoj Mitrovici, gde je završila osnovnu i srednju školu. Diplomirala je na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Prištini septembra 1995. god, prosečnom ocenom 9.17.

Specijalizaciju iz interne medicine upisala je 1999. god, a specijalistički ispit položila maja 2004. god. odličnim uspehom na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

Odbranila magistarsku tezu iz oblasti endokrinologije pod nazivom „Ishemijska bolest srca kod insulin nezavisnih dijabetičara" - mentor prof. dr. sc. akademik Dragan Micić, septembra 2000. godine.

Februara 2009.g. položila subspecijalistički ispit iz endokrinologije i dijabetologije sa ocenom 10 na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

Odbranila rad iz uže specijalizacije pod nazivom:"Evaluacija lipidnog statusa i abdominalne gojaznosti kod medicinski radnika u Kosovskoj Mitrovici" juna 2012. g. u Univerzitetu u Beogradu, Medicinski fakultet u Beogradu.

Naučno-nastavno veće Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu je 18.maja 2016. god. odobrilo temu za izradu doktorske disertacije pod nazivom „Analiza testova preoperativno za dijagnostiku primarnog aldosteronizma“, mentor Prof. Dr J.Ćirić, komentor Prof dr I.Paunović. Objavila kao autor i koautor više radova na srpskom i engleskom jeziku.

Učestvovala kao predavač po pozivu na skupovima od nacionalnog značaja.

Član je Srpskog lekarskog društva, Multidisciplinarnog udruženja za menopauzu i andropauzu Srbije (MUMIA), Evropskog endokrinološkog društva.

Živi u Beogradu.

## Изјава о ауторству

Име и презиме аутора: Nataša Vujačić

Број индекса: \_\_\_\_\_

Изјављујем да је докторска дисертација под насловом „ANALIZA TESTOVA ZA PREOPERATIVNU DIJAGNOSTIKU PRIMARNOG ALDOSTERONIZMA“

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

У Београду, 07.03.2020.

Потпис аутора

\_\_\_\_\_

**Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада**

Име и презиме аутора:	Nataša Vujačić
Број индекса:	_____
Студијски програм:	_____
Наслов рада:	“Analiza testova za preoperativnu dijagnostiku primarnog aldosteronizma“
Ментор:	Prof. dr Jasmina Ćirić

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**. Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада. Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

У Београду, 07.03.2022.

Потпис аутора

\_\_\_\_\_



## **Изјава о коришћењу**

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

### **“Analiza testova za preoperativnu dijagnostiku primarnog aldosteronizma“**

која је моје ауторско дело. Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање. Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA) (Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци. Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

У Београду, 07.03.2022.

Потпис аутора

---