



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**PRİMER HİPERALDOSTERONİZM NEDENİ İLE OPERE
OLAN HASTALARDA CYP11B2 (ALDOSTERON
SENTAZ) AKTİVİTESİNİN İMMUNOHİSTOKİMYASAL
OLARAK TAYİN EDİLMESİ**

Dr. Mustafa KARADEPE

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Gamze AKKUŞ

ADANA-2024

ÖNSÖZ

Tez çalışmam boyunca bilgi, beceri ve deneyimleriyle beni aydınlatan, desteğini her an hissettiğim değerli hocam tez danışmanım Doç. Dr. Gamze AKKUŞ'a,

Asistan hekimlik sürecinde mesleki eğitimime katkı sağlayan, beraber çalıştığım tüm hocalarıma,

Her aşamayı birlikte tecrübe ettiğimiz, birlikte öğrendiğimiz asistan arkadaşlarıma,

Bu yolculuğu güzel anılarla dolduran sevgili dostlarıma,

İhtiyaç duyduğum her an yanımda olan, hayatım boyunca destek ve sevgilerini esirgemeyen annem, babam ve kardeşlerime,

Uzmanlık eğitimim sürecince her daim yanımda olan sevgili eşim Sena'ya, motivasyon kaynağım canım kızım İnci 'ye teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO LİSTESİ	IV
ŞEKİL LİSTESİ	V
RESİM LİSTESİ	VI
KISALTMALAR LİSTESİ	VII
ÖZET	IX
ABSTRACT	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Adrenal Korteks ve Aldosteron	2
2.2. Primer Hiperaldosteronizm	4
2.3. Primer Aldosteronizm Etiyolojisi	5
2.4. PHA Epidemiyolojisi	5
2.5. Tanı	6
2.5.1. Vaka Tespiti	6
2.5.2. Doğrulama testleri	10
2.5.3. Alt tip Tayini (Ct Ve Avs)	11
2.6. PHA Klinik Seyir	13
2.7. Adrenal korteksin diğer patolojileri	15
2.8. Cushing Sendromu	15
2.9. CYP11B2 (Aldosteron sentaz) enzimi	16
2.10. HISTALDO Sınıflandırması	17
2.11. Tedavi	19
3. GEREÇ ve YÖNTEM	22
3.1. Olgu Seçimi	22
3.2. Etik Kurul	22
3.3. Yöntem	22
3.3.1. İmmünohistokimya Yöntemi ve Değerlendirilmesi	22
3.3.2. İstatistiksel Analiz	23
4. BULGULAR	24

5.TARTIŞMA.....	38
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	42
KAYNAKLAR	43



TABLO LİSTESİ

Tablo 1. HISTALDO yeni sınıflandırması	19
Tablo 2. Hasta gruplarının temel karakteristiklerinin incelenmesi.....	25
Tablo 3. IHC ile yeni tanıya göre gruplama.....	29
Tablo 4. Normal Adrenal Korteks ve Adenomun Fonksiyonel Karakterizasyonu	30
Tablo 5. Hastaların IHC skorlarının karşılaştırılması.....	34



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Aldosteron ve kortizol biyosentez yolağı.....	3
Şekil 2. Yanlış pozitif veya yanlış negatif ARR sonuçlarına yol açabilecek faktörler	8
Şekil 3. Primer aldosteronizm teşhisinde vaka tespit testleri	9
Şekil 4. P.A.'da önceki ve yeni tarama ile doğrulama kriterlerinin karşılaştırması	11
Şekil 5. Primer Aldosteronizm alt tiplerini değerlendirme	12
Şekil 6. Gruplar arasında IHC skoru karşılaştırması grafiğı	26
Şekil 7. En geniş çap ile IHC skoru arasında korelasyon grafiğı.....	27
Şekil 8. Tümör volümü ile IHC skoru arasında korelasyon grafiğı.....	28
Şekil 9. Patolojik boyut ile ihc skoru korelasyonu grafiğı	34
Şekil 10.En geniş çap ile ihc skoru korelasyonu grafiğı.....	35
Şekil 11.Tümör volüm x ihc ile ARR korelasyonu grafiğı.....	36
Şekil 12.Volüm x ihc ile Aldosteron korelasyonu grafiğı.....	36
Şekil 13.Volüm x ihc ile Preopp K korelasyonu grafiğı	37

RESİM LİSTESİ

Resim 1. Vaka 1 (APN) Cyp11b2 antikoru ile boyanma (x40)	31
Resim 2. Vaka 3 (APA) Cyp11b2 antikoru ile boyanma (x100) Tümör(T) ve tümör olmayan(NT) bölgelerin görünümü.....	31
Resim 3. Vaka 5(APM) A: Cyp11b2 antikoru ile boyanma (x100) IHK, B: HE(x100)	32
Resim 4. Vaka 12(MAPN) Cyp11b2 antikoru ile boyanma (x40)	33
Resim 5. Vaka 14(MAPM) A: Cyp11b2 antikoru ile boyanma (x40), B: HE(x40)	33



KISALTMALAR LİSTESİ

ACC	: Adrenokortikal karsinom
ACE	: anjiyotensin dönüştürücü enzim
ACTH	: Adrenokortikotropik hormon
ANP	: atriyal natriüretik peptid
APA	: aldosteron salgılayan adenom
APM	: aldosteron salgılayan mikronodül
APN	: aldosteron salgılayan nodül
ARR	: Aldosteron renin oranı
AVS	: Adrenal venöz örnekleme
BMI	: Vücut kütle indeksi
CT	: Bilgisayarlı tomografi
CYP11A	: Kolesterol desmolaz
CYP11B1	: 11Beta Hidroksilaz
CYP11B2	: Aldosteron sentaz
CYP21	: 21-hidroksilaz
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
DST	: Deksametazon supresyon testi
FH	: familyan hiperaldosteronizm
HE	: Hematoksilen eozin
HISTALDO	: Tek taraflı primer aldosteronizm uluslararası histopatoloji konsensusu
IHC	: immunohistokimya
KB	: Kan basıncı
KKB	: Kalsiyum kanal blokörü
MAPM	: aldosteron salgılayan çoklu mikronodül
MAPN	: aldosteron salgılayan çoklu nodül
Ng/ml	: Nanogram/ mililitre
Ng/l	: Nanogram/ Litre
Non-APA	: Aldosteron salgılayan adenom dışı
NSAII	: Non steroid antiinflamatuvar ilaç

Meq	: Miliekivalen
Mg	: miligram
ml	: mililitre
P.A	: Primer Aldosteronizm
PAC	: Plazma aldosteron konsantrasyonu
PAK	: Plazma aldosteron konsantrasyonu
Pg	: pikogram
PRA	: Plazma renin aktivitesi
PRC	: Plazma renin konsantrasyonu
PRK	: Plazma renin konsantrasyonu
PHA	: Primer Hiperaldosteronizm
VKI	: Vücut kütle indeksi

ÖZET

Primer Hiperaldosteronizm Nedeni İle Opere Olan Hastalarda Cyp11b2 (Aldosteron Sentaz) Aktivitesinin İmmünohistokimyasal Olarak Tayin Edilmesi

Amaç: Primer Aldosteronizm, önlenabilir hipertansiyonun en sık sebeplerinden biridir. Tanı ve tarama testlerinin kullanımının artmasıyla hastalığın yaygınlığı artmaktadır. Adrenal kortekste aldosteron yapımından sorumlu aldosteron sentaz enzim aktivitesinin immünohistokimyasal yöntemle gösterilerek hastalıkları yeniden gruplandırmayı ve klinik bulgularla ilişkisini değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Endokrinoloji Kliniği'nde 2009-2022 yılları arasında Primer Hiperaldosteronizm tanısıyla takip edilen, adrenalektomi ameliyatı olmuş 19 olgu ile adrenal Cushing sendromu nedeniyle takip edilen ve opere olan 19 olgu ve işlevsiz sürrenal adenoma sahip opere olmuş 2 olgu dahil edildi. Hastaların patolojik tanısı immünohistokimyasal boyama sonrası semikantitatif H skor değerlendirmesi ile yeniden değerlendirildi. Ayrıca HISTALDO sınıflamasına göre gruplandırıldı.

Bulgular: Operasyon öncesi bakılan Aldosteron (ng/dl) ve aldosteron renin oranı primer aldosteronizm grubunda Cushing grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek bulundu. (P değeri sırasıyla 0,019; 0,002)İhc skoru ile ameliyat öncesi tümörün en geniş çapı arasında negatif yönlü korelasyon bulgularına rastlanıldı ve bulgular istatistiksel olarak anlamlıydı. ($r=-0,536$ $p=0,001$). Toplam 21 hasta, yeni patolojik tanıları ile APA(n=10) ve non-APA(n=11) olarak gruplandırıldı. Non-APA grubunda APMM tanısı alan bir hasta, APN tanısı alan bir hasta, MAPN tanısı alan bir hasta, APACC tanısı alan 2 hasta ve MAPM tanısı alan 6 hasta mevcuttu. Hastaların ihc skoru ortalaması APA grubunda $136,6 \pm 78,86$ iken non-APA grubunda $86,81 \pm 85,30$ bulundu.

Sonuç: Cyp11b2 enzim ekspresyonunun immunohistokimya ile tayininin, hiperaldosteronizm ve alt tip tanısından sorumlu lezyonların tanımlanmasında güçlü bir araç olduğunu göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: Aldosteron sentaz, Primer aldosteronizm, Histaldo, Cyp11b2

ABSTRACT

Evaluation Of Cyp11b2 (Aldosterone Synthase) Activity In Patients Operated Due To Primary Hyperaldosteronism by Immunohistochemistry

Objective: Primary Aldosteronism is one of the most common causes of preventable hypertension. The prevalence of the disease is increasing with the increase in diagnostic and screening tests. The aim of the study is nomenclature histopathologic findings and evaluate their relationship with clinical findings by demonstrating the aldosterone synthase enzyme activity, which is responsible for aldosterone production in the adrenal cortex, by immunohistochemical method.

Materials and Methods: Nineteen cases who were followed up with the diagnosis of Primary Hyperaldosteronism at the Endocrinology Clinic of Çukurova University Faculty of Medicine Hospital and underwent adrenalectomy surgery between 2009 and 2022, Nineteen cases who were followed up and operated due to adrenal Cushing's syndrome, and two operated cases with nonfunctional adrenal adenoma were included. The patients were evaluated with semiquantitative H- score evaluation after pathological prognostic immunohistochemical staining. They were also grouped according to the HISTADO classification.

Results: Aldosterone (ng/dl) and aldosterone renin ratios measured before the operation were found to be statistically significantly higher in the primary aldosteronism group than in the Cushing group. (P value: 0.019; 0.002, respectively) Negative correlation findings were found between the IHC score and the largest diameter of the tumor before surgery, and the findings were statistically significant. ($r = -0.536$ $p = 0.001$). A total of 21 patients were grouped as APA (n = 10) and non-APA (n = 11) with their new pathological diagnosis. In the non-APA group, there was one patient diagnosed with APMM, one patient diagnosed with APN, one patient diagnosed with MAPN, 2 patients diagnosed with APACC and 6 patients diagnosed with MAPM. The mean IHC score of the patients was 136.6 ± 78.86 in the APA group and 86.81 ± 85.30 in the non-APA group.

Conclusion: This study shows that determination of Cyp11b2 enzyme expression by immunohistochemistry is a powerful tool in identifying lesions responsible for hyperaldosteronism and subtype diagnosis.

Keywords: Aldosterone synthase, Primary aldosteronism, Histado, Cyp11b2

1. GİRİŞ

Primer aldosteronizm, primer hipertansiyonlu hastaların %6-10'unu etkileyen en yaygın sekonder hipertansiyon türüdür. PA'ya temel olarak aldosteron üreten bir adenoma bağlı tek taraflı hiperaldosteronizm, mikronodüllü veya mikronodülsüz tek taraflı hiperplazi veya makro veya mikronodüllü veya makronodülsüz iki taraflı zona glomerulosa hiperplazisi neden olur. Aldosteron biyosentezinin terminal enzimine (CYP11B2) karşı antikorların geliştirilmesi, primer aldosteronizmlı hastalardan normal adrenallerin ve rezeke edilmiş adrenallerin daha ileri karakterizasyonuna olanak sağlamıştır.¹

Yeni DSÖ sınıflandırması, primer aldosteronizmde iki taraflı hastalık riskini tahmin etmeye yardımcı olmak için aldosteron üretiminin işlevsel bölgelerini belirlemek üzere CYP11B2 immünohistokimyasını kullanan HISTALDO sınıflandırmasının terminolojisini desteklemektedir.²⁻³

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Endokrinoloji kliniğinde primer hiperaldosteronizm tanısıyla takip edilen hastalarda demografik verilerin, biyokimyasal ve hormonal parametrelerin, görüntüleme sonuçlarının ve klinik bulguların aldosteron sentaz enzim aktivitesinin son zamanlarda kullanılmaya başlanan Cyp11b2 (Aldosteron sentaz) 'a karşı antikorunun immünohistokimyasal yöntemle boyanması ile ortaya çıkan skorların ve yeni gruplamanın değerlendirilmesi amaçlandı.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Adrenal Korteks ve Aldosteron

İnsan adrenal bezleri, retroperitoneal bölgede böbreklerin anteromedialinde yerleşen her biri yaklaşık 4 gr ağırlığında, korteks ve medulla olarak ayrılmış iki kısımdan oluşan endokrin organlardır. Adrenal korteks karmaşık bir dizi steroid hormon üretir. Medulla ise sempatik sinir sisteminin bir parçasıdır ve epinefrin ile norepinefrin katekolaminlerini üretir. Bu iki kısım embriyolojik ve fizyolojik olarak farklılık gösterir. Medulla, yetişkin adrenal bezinin kütesinin yaklaşık %10'unu oluşturur. Nöroektodermden kaynaklanır ve bir sempatik gangliyondur. Buna karşılık korteks mezodermal dokudan kaynaklanır.⁴

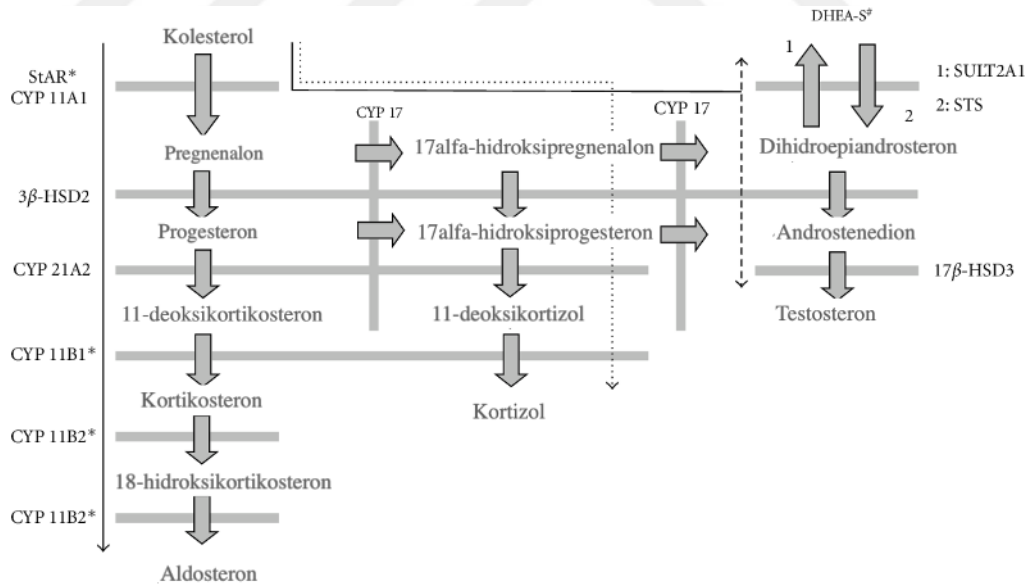
Adrenal korteks 3 farklı bölgeden oluşur. Dış bölge zona glomerulosa'dır. Kemerli ve kavisli bir şekilde düzenlenmiş ince sütunlu hücre bölgesinden oluşur. Bu bölgeye aynı zamanda salgı hücrelerinin farklı düzenlenme paternlerinden dolayı hayvanlarda zona multiformis de denir. Zona glomerulosa böbreklerden sodyumun yeniden emilimini arttırmaktan ve potasyum atılımını uyarmaktan sorumlu olan steroid hormonu aldosteronu üretir ve dolaylı olarak hücre dışı sıvı hacmini düzenler. Zona fasikülata en kalın bölgedir (korteksin %70'i) ve belirgin kılcal damarlarla ayrılmış salgı hücreleri sütunlarından oluşur. Hücreler çok sayıda lipit damlacıkları içerirler ve glukokortikoidleri üretirler. Zona retikularis glukokortikoidleri ve az miktarda seks steroidlerini, yani androjenler, östrojenler ve progestinleri üretir. Daha çok yuvarlak hücre yığınlarından ve az miktarda düz çokyüzlü hücrelerden oluşan düzensiz yapıdadır.⁵

Aldosteron, adrenal korteksin zona glomerulosa'sında (en dış bölge) dört enzimin etkisiyle sentezlenir. Kolesterol desmolaz (CYP11A), 21-hidroksilaz (CYP21) ve aldosteron sentaz (CYP11B2), yardımcı proteinler yoluyla NADPH'den elektronları kabul eden ve hidroksilasyonları veya diğer oksidatif dönüşümleri gerçekleştirmek için moleküler oksijeni kullanan, membrana bağlı hem içeren enzimler olan sitokrom P450'dir (CYP). 3-Hidroksisteroid dehidrojenaz, kısa zincirli dehidrojenaz ailesinin bir üyesidir. Aldosteron biyosentezinin ilk üç adımı (kolesterolden progesterona) zona fasikülatadaki kortizol biyosentezi için gerekli olanlarla aynıdır ve her iki bölgede de

aynı enzimler aracılık eder. Ancak kortizol sentezi, sadece zona fasikülatada ifade edilen 17-hidroksilaz (CYP17) tarafından pregnenolon'un 17-hidroksilasyonunu gerektirir. Bunun aksine, aldosteron sentaz (CYP11B2) normalde yalnızca zona glomerulosada eksprese edilir.^{6,7}

Ayrıca CYP11B2, yalnızca zona fasikülatada bulunan 11-deoksikortizolden kortizol üreten 11 β -hidroksilaza (CYP11B1, sitokrom P450 ailesi 11, alt aile B, üye 1) yüksek düzeyde (%93) amino asit dizilimi benzerliği gösterir.⁸

Steroid hormonların öncüsü, 17 karbonlu steroid çekirdeğe sahip olan kolesteroldür. Kolesterolden steroid sentezi mitokondride başlar, endoplazmik retikulumda devam eder ve tekrar mitokondride sonlanır. Steroid hormonlar sentezlendikten sonra kan dolaşımına karışırlar. Kortikosteroidler karaciğerde konjugasyon ve hidroksilasyon yoluyla metabolize edilir ve safraya atılırlar. Daha sonra böbrekten uzaklaştırılırlar. Lipofilik yapıda olduklarından depolanamazlar, gerektiğinde sentezlenirler.^{5,9}



Şekil 1. Aldosteron ve kortizol biyosentez yolağı

2.2. Primer Hiperaldosteronizm

Primer Aldosteronizm; plazma potasyum konsantrasyonu ve anjiyotensin 2 gibi ana düzenleyicilerden bağımsız olarak, sodyum seviyesine uygun olmayan şekilde aldosteron üretiminin anormal yüksek olduğu; tuz yüklemesi ile aldosteronun baskılanmadığı bir grup hastalıktır. Adrenal bezden aldosteron sekrete eden adenom ile hipertansiyon ve hipopotasemi arasındaki ilişki ilk kez bu sendroma da adını veren Jerome W. Conn tarafından gösterilmiştir. Hiperaldosteronizm, primer olarak bilinen dışında adrenal bezden kaynaklanmadan diğer metabolik olaylarla sekonder de ortaya çıkabilir.^{10,11}

Aldosteronun ilk etkisi kortikal toplayıcı tübülde açık sodyum kanallarının sayısını arttırarak sodyumun yeniden emiliminin artışına yol açmaktır. Böylece lümen elektronegatif hale gelir ve oluşan elektriksel gradyan nedeniyle hücrel potasyumun lümene salgılanması artar.¹²

Başlangıçta su ve sodyum tutulumunu arttırsa da birkaç gün sonra sodyum atılımını sağlayan spontan diürez mekanizması ortaya çıkar. Bu duruma ‘aldosteron kaçı’ adı verilir.^{13,14}

Kaçış fenomeninden sorumlu mekanizmalar net olarak anlaşılamamıştır ancak şu üç faktörün önemli olabileceği vurgulanmaktadır:¹⁴⁻¹⁷

- Hipervoleminin tetiklemesiyle artan ANP (atrial natriüretik peptid) ye bağlı natriürez

- Distal tübülde sodyumun geri emilimini arttıran tiyazide duyarlı NaCl kotransporterların azalması

- Basınç natriürezi

İyon kanallarını ve pompaları kodlayan genlerdeki mutasyonlar, zona glomerulosa hücrelerinde sitozolik kalsiyum konsantrasyonunun artmasına yol açar, bu da CYP11B2 ekspresyonunu ve otonom aldosteron üretimini tetikler. APA’lı hastaların çoğunda somatik mutasyonlar vardır. En sık KCNJ5 daha az sıklıkla ATP1A1, ATP2B3, CACNA1D ve CTNNB1 genlerinde somatik mutasyonlar tanımlanmıştır.^{12,18}

2.3 Primer Aldosteronizm Etiyolojisi

Primer Aldosteronizmin en yaygın alt tipleri şunlardır;

- Bilateral idiopatik hiperaldosteronizm (Bilateral adrenal hiperplazi –IHA) %60-70
- Tek taraflı aldosteron üreten adenomlar (APA'lar; ≥ 10 mm) veya aldosteron üreten mikronodüller (<10 mm) %30-40

Daha az sıklıkla,

-Ailesel hiperaldosteronizm

- FH tip I veya glukokortikoidle tedavi edilebilir (GRA); *CYP11B1/CYP11B2* kimerik genine bağlı
- FH tip 2; *CLCN2* patojenik varyantının neden olduğu
- FH tip 3; *KCNJ5* patojenik varyantının neden olduğu
- FH tip 4; *CACNA1H* patojenik varyantının neden olduğu
- (PASNA) Nöbetler ve nörolojik anormalliklerle seyreden; *CACNA1D* patojenik varyantının neden olduğu tip

-Tek taraflı hiperplazi (primer adrenal hiperplazi) (*tek taraflı adrenal bezin zona glomerulosasının mikronodüler veya makronodüler hiperplazisi*)

-Adrenal karsinomlar

-Ektopik aldosteron salgılayan tümörler

2.4. PHA Epidemiyolojisi

Hastalık ilk kez tanımlandığı zaman Jerome Conn hipertansiyona sahip kişilerin yaklaşık %20'sinin bu bozukluğa sahip olabileceğini öne sürdü ancak sonraki yıllarda hastalığın yaygınlığı tartışılmaya başlandı.¹⁹

Rastlantısal tespit edilen adrenal adenomların yaklaşık %1'inin aldosteron üreten adenom olduğu kanıtlanmıştır.²⁰

Primer Aldosteronizm prevelansının hipertansiyonun evresi ile birlikte arttığı bilinmektedir. Bir çalışmada evre 1 hipertansiyona sahip grupta hastalık prevelansı %3,9 iken evre 3 hipertansiyon sahip grupta %11,8 bulunmuştur.²¹

Dirençli Hipertansiyon hastalarının yaklaşık %20'sinde ARR (aldosteron renin oranı) pozitif olmasına rağmen doğrulama testleri sonrası vakaların ancak yarısının doğrulandığı görülmüştür. Bu yüzden hipertansiyonun hafif formlarında daha az yaygınlıkta olduğu ve tüm hipertansiyon hastaları içinde dirençli hipertansiyonun %10-30 oranında görüldüğü göz önüne alınırsa hipertansiyonda primer hiperaldosteronizm sıklığı tanımlandığı yıllara göre daha düşüktür.^{22,23}

Tarama testi olarak plazma Aldosteron konsantrasyonu/Plazma renin aktivitesinin(ARR) kullanımının yaygınlaşması ve doğrulama testlerinin etkin kullanımı ile son yıllarda hipertansiyon hastaları içinde %5-13 pha prevelansı görülmektedir.²⁴

2.5. Tanı

Primer aldosteronizm tanısı genellikle yaşamın üçüncü ila altıncı dekadı arasındaki hastalarda konur. Çok az semptom sendroma özgüdür. Hipopotasemi ile birlikte hastalarda kaslarda zayıflık ve kramp, baş ağrısı, çarpıntı, polidipsi, poliüri, noktüri veya bunların kombinasyonu görülebilir. Bu semptomların arasından poliüri ve noktüri, hipopotaseminin neden olduğu böbrek konsantrasyon bozukluğunun sonucudur ve erkeklerde sıklıkla prostatizm semptomları ile karıştırılmaktadır. Hastalığa özel bir fizik muayene bulgusu yoktur. 'Mineralokortikoid kaçıışı' sebebiyle hastalarda ödeme sık rastlanmaz. Hipertansiyonun derecesi yüksektir. Genellikle orta ila şiddetli hipertansiyon bulunur ve çoğunlukla antihipertansif tedavilere dirençli olabilir.²⁵

2.5.1 Vaka Tespiti

Endokrin kılavuzunun vaka tespiti için yüksek prevelanslı bulduğu ve taranmasını önerdiği hasta grubu;²⁶

1. Farklı günlerde elde edilen üç ölçümün her birinde sürekli kan basıncı 150/100 mm Hg'nin üzerinde olan ve üç geleneksel antihipertansif ilaca (bir diüretik dahil) dirençli hipertansiyonu (KB 140/90 mm Hg) olan hasta,

2.Dört veya daha fazla antihipertansif ilaç kullanırken kontrollü kan basıncı (<140/90) olan hasta,

3.Spontan veya diüretikle tetiklenmiş hipokalemi ile birlikte hipertansiyon varlığı,

- 4.Hipertansiyon ve adrenal insidentaloma varlığı,
- 5.Hipertansiyon ve uyku apnesi,
- 6.Hipertansiyon ile ailede erken başlangıçlı hipertansiyon veya genç yasta SVO öyküsü

7.P.A tanılı hastaların tüm hipertansif birinci derece yakınları

Endokrin kılavuzu dışında çeşitli çalışmalarda da P.A açısından yüksek riskli bulunan Grade 3 şiddetli hipertansiyon, dirençli hipertansiyon, hipokalemi ile seyreden hipertansiyon ve insidentaloma ile beraber hipertansiyon taranmıştır. Ayrıca genç yaşla birlikte ailede hipertansiyon, inme veya p.a öyküsü olması ailesel p.a için taranmayı gerektirdiği söylenmiştir.^{18,27}

Hipertansiyon ile atriyal fibrilasyon birlikteliği de artan vaka tespitinde taranması gereken yüksek riskli grup olarak tanımlanmıştır.²⁸

Önerilen tarama testi sabah plazma aldosteron konsantrasyonunun plazma renin aktivitesine veya plazma renin konsantrasyonuna oranıdır.²⁹

PA'lı hastalarda kısmen hacim genişlemesinden dolayı PRA ve PRC düşüktür. PRA genellikle saatte <1 ng/ml'dir (saniyede 0,2778 ng/L) ve PRC normalin alt sınırının altındadır.³⁰

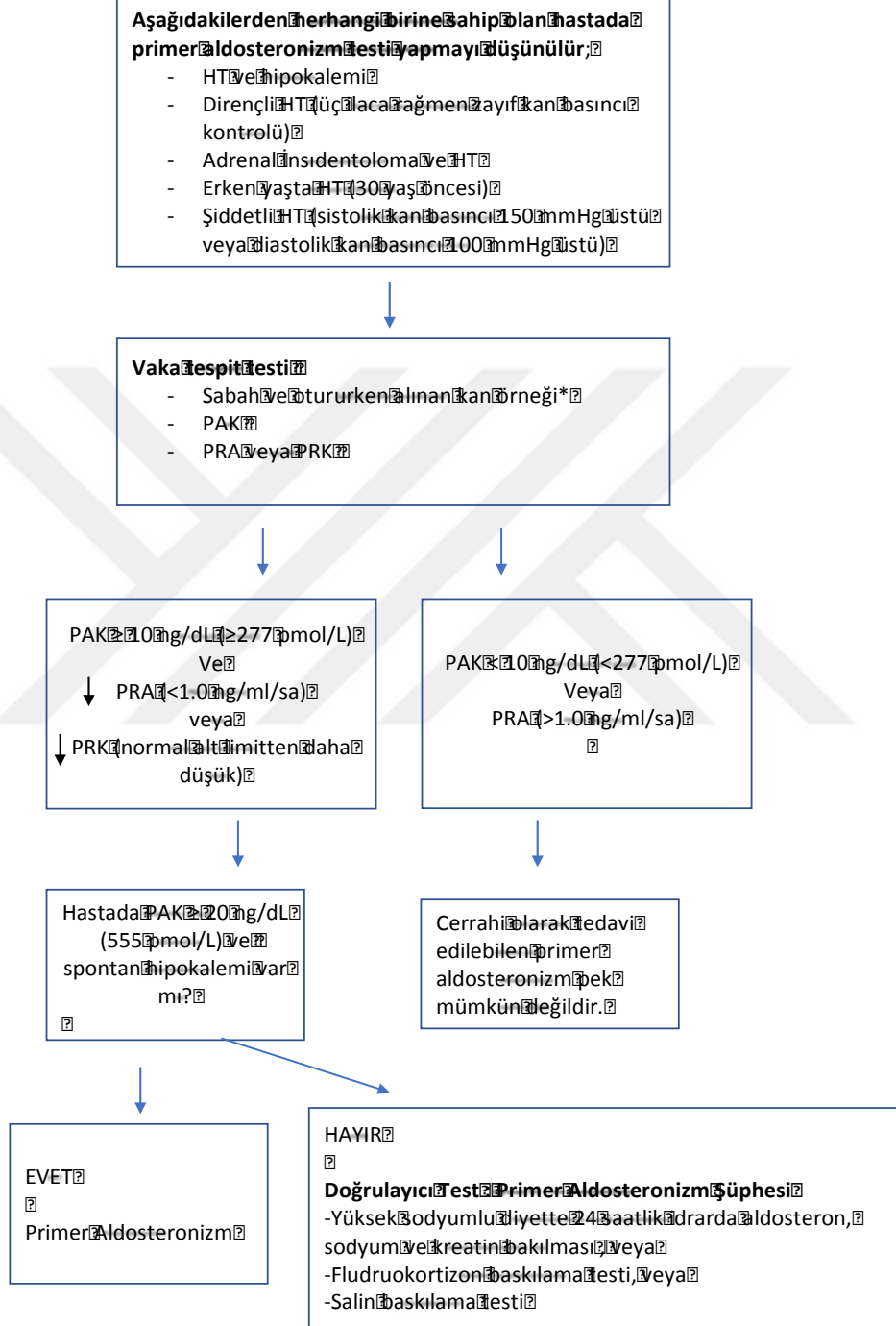
Yanlış pozitif ve yanlış negatif ARR sonuçlarına yol açabilecek birçok faktör vardır. (Şekil 2) Diyetle tuz kısıtlaması, eşlik eden renovasküler ya da malign hipertansiyon, gebelik, diüretikler, dihidropiridin KKB'ler, ACE inhibitörleri, ARB'ler ile tedavi renin uyarısını arttırarak yanlış negatif sonuca sebep olurlar. Potasyum seviyesi aldosteron için düzenleyici olduğundan test öncesi düzeltilmezse yanlış negatifliklere yol açar. Beta blokörler, santral agonistler (klonidin, a-metildopa vs.), NSAII'ler renini baskılayarak yanlış pozitif ARR'ye sebep olurlar. Böbrek fonksiyon bozukluğu olan veya yaşı ilerleyen hastalarda yanlış pozitiflikler ortaya çıkabilir. Bu sebeple diüretikler testten 6 hafta önce, diğer ilaçlar 2 hafta önce kesilmelidir. Bunların yerine yavaş salımlı Verapamil, hidralazin, prazosin, doksazosin gibi ilaçlar verilebilir.^{26,31}

Faktör	Plazma Aldosteron Seviyesine Etkisi	Renin Seviyesine Etkisi	ARR'ye Etkisi
İlaçlar			
B-adrenerjik blokörler	-	--	+YP
Santral agonistler (klonidin, a-metildopa vs.)	-	--	+YP
NSAİ	-	--	+YP
Potasyum atıcı diüretikler	N+	++	-YN
Potasyum tutucu diüretikler	+	++	-YN
ACE inhibitörleri	-	++	-YN
ARB'ler	-	++	-YN
KKB'ler (dihidropridinler)	N-	+	-YN
Renin inhibitörleri	-	--	
Potasyum durumu			
Hipokalemi	-	N+	-YN
Potasyum yükleme	+	N-	+
Diyet sodyum			
Tuz kısıtlaması	+	++	+YN
Tuz yükleme	-	--	+YP
İleri yaş	-	--	+YP
Premenapozal kadın	N+	-	+YP
Diğer durumlar			
Böbrek yetmezliği	N	-	+YP
PHA-2	N	-	+YP
Hamilelik	+	++	-YN
Renovasküler HT	+	++	-YN
Malign HT	+	++	-YN

NSAİ, non steroid antiinflamatuvarlar; ACE, anjiyotensin dönüştürücü enzim; ARB, anjiyotensin reseptör blokörü; PHA-2, psodohipoaldosteronizm; N, nötr; YN, yalancı negatif; YP, yalancı pozitif.

Şekil 2. Yanlış pozitif veya yanlış negatif ARR sonuçlarına yol açabilecek faktörler

Primer Aldosteronizm Teşhisinde Vaka Tespit Testleri



Şekil 3. Primer aldosteronizm teşhisinde vaka tespit testleri

2.5.2. Doğrulama testleri

ARR pozitif hastalara tanıyı kesin olarak doğrulamak ya da dışlamak için birden fazla doğrulama testi yapılabilir ancak spontan hipokalemi durumunda, çok düşük plazma renin seviyesi ve PAC 20 ng/dl (550 pmol/L) üzerinde bir değerde olursa daha fazla doğrulayıcı teste gerek olmayabilir.²⁶

Japon Endokrin Cemiyeti de spontan hipokalemi (serum potasyum konsantrasyonları <3,5 mEq/L), yüksek başlangıç PAC (>100 pg/ml) ve PA taraması pozitif, renin supresyonu olan vakalarda doğrulayıcı testleri atlanmasını önermektedir.³²

Bunun dışındaki tüm durumlarda plazma aldosteron konsantrasyonu ve renin aktivitesi tek başına tanı koymak için yeterli değildir. Uygunsuz aldosteron üretimi mutlaka doğrulama testleri ile doğrulanmalıdır. Bu amaçla en yaygın oral tuz yükleme testi ve salin infüzyon testi kullanılmaktadır. Daha az sıklıkla Kaptopril testi, fludrokortizon supresyon testi ve özellikle Japonya’da Furosemid yükseltme testi kullanılmaktadır.^{26,32,33}

Hipertansiyon ve hipokalemi kontrol edildikten sonra hastalara, 5000 mg sodyum içeren 3 günlük diyet programı hazırlanır. Alternatif olarak, eğer hasta tolere edemezse, onlara oral sodyum klorür tabletleri verilebilir (örneğin, günde üç kez yemekle birlikte alınan iki adet 1 gramlık sodyum klorür tableti, yaklaşık 90 mEq sodyum sağlayacaktır). Ciddi hipertansiyonu olan hastalarda bu diyetin riskleri akılda bulundurulmalıdır. Yüksek sodyumlu diyetin üçüncü gününde serum elektrolitleri ölçülür ve aldosteron, sodyum ve kreatinin ölçümü için 24 saatlik idrar örneği alınır. Yeterli sodyum yüklemesini belgelemek için 24 saatlik idrar sodyum atılımının 200 mEq’i (4600 mg) aşması gerekir. Bu ortamda idrar aldosteron atılımı ile hiperaldosteronizm tanısı konur. (Şekil 4)

Salin infüzyon testinde hasta yatar pozisyondayken 4 saat boyunca damar yolundan toplamda iki litre izotonik salin infüzyonu verilir ve 4 saatin sonunda plazma aldosteron konsantrasyonuna bakılır. (Şekil 4)

	Eski kriterlere göre pozitif sonuç	Yeni kriterlere göre pozitif sonuç
Tarama Testi	PAC/PRA (ARR) >200 ve PAC >120 pg/ml	1-1 ARR (PAC/PRA) $\geq$ 200 ve PAC $\geq$ 60 pg/ml 1-2 ARR (PAC/PRA) 100–200 ve PAC $\geq$ 60 pg/ml 2-1 ARR (PAC/ARC) $\geq$ 40 ve PAC $\geq$ 60 pg/ml 2-2 ARR (PAC/ARC) 20–40 ve PAC $\geq$ 60 pg/ml
Doğrulama Testleri		
1. Kaptopril Testi	60 dk/90 dk. sonra, 1. ARR (PAC/ PRA) >200 2. ARR (PAC/ ARC) >40 3. PAC>120 pg/ml	60 dk/90 dk sonra, 1-1. ARR (PAC/PRA) $\geq$ 200 1-2. ARR (PAC/PRA) 100–200 2-1. ARR (PAC/ARC) $\geq$ 40 2-2. ARR (PAC/ARC) 20–40
2. Salin İnfüzyon Testi	4 saat sonra, PAC >60 pg/ml	4 saat sonra, 1-1. PAC $\geq$ 60 pg/ml 1-2. PAC 12–60 pg/ml
3. Furosemid yükseltme Testi	2 saat sonra, 1. PRA <2.0 ng/ml/sa. 2. ARC <8.0 pg/ml	2 saat sonra, 1. PRA <2.0 ng/ml/sa. 2. ARC <8.0 pg/ml
4. Oral Tuz Yükleme Testi	Üriner aldosteron konsantrasyonu >8 µg/gün (üriner sodyum seviyesi >170 mEq/gün)	Üriner aldosteron konsantrasyonu >6 µg/gün (üriner sodyum seviyesi >170 mEq/gün)

Şekil 4. P.A.'da önceki ve yeni tarama ile doğrulama kriterlerinin karşılaştırması

2.5.3. Alt tip Tayini (Ct Ve Avs)

Primer aldosteronizm tanısı alan tüm hastalarda; ilk basamakta subtip tayini ve adrenal karsinomların dışlanması için Adrenal Bilgisayarlı tomografi çekilmesi önerilmektedir.²⁶

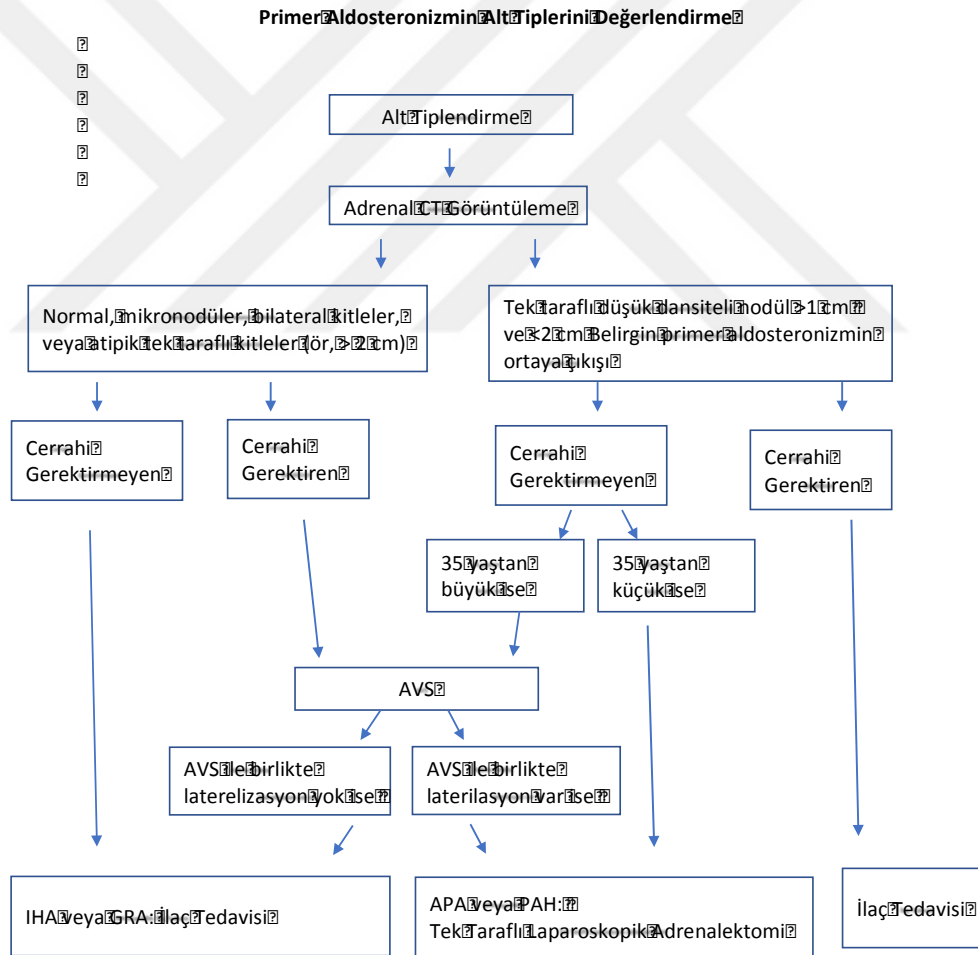
Endokrin derneği kılavuzlarına göre cerrahi öncesi pha hastalarına tek taraflı veya iki taraflı adrenal hastalık ayırımı yapmak için adrenal venöz örnekleme önerilmektedir.^{26,32}

AVS, P.A hastalarında lateralizasyon için altın standart testtir. Doğrulama testleri sonrası sadece BT ile operasyon kararı verilirse normal görüntüleme sonuçları olan hastalar atlanabilir ya da hipersekresyonu olmayan adrenallere gereksiz cerrahi uygulanabilir.³⁴

Deneyimli bir girişimsel radyolog tarafından iki taraf adrenal ven selektif kanüle edilir. Hem adrenal venlerden hem de periferik damardan (tercihen kubital veya iliak

ven) kan alınarak kortizol ve aldosteron konsantrasyonlarına bakılır. Buradan alınan kan örneklerindeki kortizol oranı periferik ven ile kıyaslanır. Kosintropin (ACTH sentetik agonisti) infüzyon protokolü ile adrenal/periferik beş kat ve üzeri, kosintropin kullanımı olmadan iki kat ve üzeri kortizol oranı işlemin doğru yerden yapıldığını gösterir.^{34,35}

Adrenaloma ve iki taraflı adrenal hiperplazi tanısı koymak için Bilgisayarlı Tomografi görüntüleme ve Adrenal venöz örnekleme kıyaslandı. Hipertansiyon kontrolü için gerekli ilaç dozlarında ve yaşam kalitesinde gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı. Biyokimyasal iyileşme de iki grup arasında benzerdi. Bu sebeple Primer aldosteronizmli tüm hastalarda AVS yapılması gerektiği düşüncesi yanlıştır.³⁶



Şekil 5. Primer Aldosteronizm alt tiplerini değerlendirme

2.6. PHA Klinik Seyir

Hipertansiyon

Kan basıncındaki yükselme volüm genişlemesine bağlıdır. Hipervolemi Aldosteron üretimini arttırmanın ve hipertansiyona sebep olmanın yanında renin üretimini de baskılar. Hastalığın teşhisinde önemli yer tutan düşük plazma renin aktivitesi ve plazma renin konsantrasyonuna sebep olur.^{24,37}

P.A hastalarında nadiren hipertansiyon olmayabilir ve evre 1 hipertansiyona sahip olanlar ile normotansif bireyler hastalık sıklığı açısından benzer oranlara sahiptir. Hastaların küçük bir kısmı klasik p.a klinik tablosu ile başvurduğu düşünülmektedir. Çoğu hasta tüm bulguların olmadığı daha zayıf bir hastalık tablosu ile başvurmaktadır.²²

P.A da renal ve kardiyovasküler morbidite esansiyel hipertansiyona göre daha yüksektir. O yüzden belirli kan basıncı seviyesinde beklenenden daha fazla renal ve kardiyovasküler morbidite olduğunda hastaları p.a açısından taramak gerekir.³⁸

Hipokalemi

Hastalığın klasik belirtilerinden biri hipokalemidir ancak günümüzde primer hiperaldosteronizm tanısı almış vakaların büyük kısmında plazma potasyum düzeyi normal bulunmaktadır.^{22,23,39}

Adrenal adenomu olanlarda hipokalemi, iki taraflı hiperplazisi olan hastalara göre daha yüksek oranda bulunmaktadır.³⁹

İki sebeple idrardan potasyum kaybı yüksek olur; aldosteronun artışı ile kortikal toplayıcı tübülde potasyum salgısının doğrudan artışı ve distal sekretuar bölgeye sodyum ve suyun yeterli miktarda ulaşması ile potasyum atılımı artar.⁴⁰

Başlangıçta hipokalemi sonrası potasyum tutucu etki ile plazma potasyum konsantrasyonu normal veya ılımlı bir düşüklükte sabitlenir ancak aldosteron üretimi çok arttığında veya diüretik kullanımı gibi faktörlerle hipokalemi belirginleşir. Hipertansif hastaların tuz kısıtlama eğiliminde olması sebebiyle distal tübüle ulaşan sodyum düşük olur ve hipokalemi ortaya çıkmayabilir.²⁴

Bu hastalarda hem hipokalemi hem de aldosteronun direk etkisiyle distal tübülde hidrojen atılımına bağlı gelişen metabolik alkaloz tablosu sıklıkla görülür.⁴¹

Kardiyovasküler risk

Aldosteron iskemik kardiyopati, kalp yetmezliği ve kronik böbrek hastalığı riskini artırır. Bunun nedeni sodyum ve su tutulumu, inflamasyon, endotel disfonksiyonu, kardiyak, vasküler veya renal fibrozis, sempatik potansiyalizasyon veya insülin direnci olabilir. PA'da hipertansiyon ve hipokaleminin yanı sıra bu tür etkiler kardiyovasküler ve renal riski artırmaktadır.²⁷

Sol ventrikül kütle ölçümleri benzer yaş, cinsiyet ve kan basıncı ortalamasına sahip diğer hipertansiyon gruplarına göre daha yüksektir. Sol ventrikül fonksiyonunda bu gruplara göre azalma vardır.⁴²⁻⁴⁴

Kardiyovasküler olaylar açısından primer aldosteronizmli hastalarla esansiyel hipertansiyonlu hasta grubunun karşılaştırıldığı bir retrospektif çalışmada inme (hemorajik veya enfarktüs), miyokard enfarktüsü ve atriyal fibrilasyon primer hiperaldosteronizmde daha fazla saptanmıştır.⁴²

Primer aldosteronizmli 3838 hasta ve esansiyel hipertansiyonlu 9284 hastayı içeren 31 çalışmanın meta-analizinde primer aldosteronizmli hastalarda inme, koroner arter hastalığı, kalp yetmezliği ve atriyal fibrilasyon riskinde artış saptandı.²⁸

Renal etkiler

Hem adrenal adenomu olanlarda hem de bilateral adrenal hiperplazisi olan p.a hastalarında artmış glomerüler filtrasyon ve idrarla albümin atılımında artış vardır. Aldosteron etkisi medikal veya cerrahi olarak ortadan kaldırıldığında bu zarar geri dönüşümlüdür. Ayrıca p.a da esansiyel hipertansiyona göre kan basıncı kontrolü sağlamanın böbreği koruyucu etkisi daha yüksek olduğu gösterilmiştir.³⁸

Aldosteron, sistemik hipertansiyondan bağımsız olarak glomerüler filtrasyon hızını ve böbrek perfüzyon basıncını artırır. İdrarla protein kaybı da daha fazladır. Serum kreatininde yükseklik primer hipertansiyonlu gruba göre daha yüksektir. Medikal tedavi veya adrenalectomi ile hiperfiltrasyon durumu ortadan kalkar, kreatin seviyesi yükselir glomerüler filtrasyon hızı düşer ve altta yatan böbrek yetmezliği ortaya çıkar.⁴⁵

Hipokalemi nedeniyle üriner hidrojen atılımında artış olması ve aldosteronun distal asidifikasyon etkisi ile metabolik alkaloz gelişir. Kalıcı hafif volüm genişlemesi ile ADH salınımını etkileyerek sodyum genellikle 143 ila 147 mEq/L arasında stabil bir

plazma konsantrasyonuna sahip olur. Bununla birlikte idrarla magnezyum kaybına bağlı olarak hafif hipomagnezemi ortaya çıkar.^{26,46}

Metabolik sendrom

Metabolik sendrom ve tip2 DM sıklığı, primer aldosteronizmlı hastalarda bu hastalığa sahip olmayan aynı yaş, cinsiyet, BMI ve kan basıncına sahip gruplara kıyasla daha yüksektir. Bu sebeple P.A da artan kardiyovasküler morbidite ve mortalitenin açıklanmasına yardımcı olabilir.⁴⁷

2.7. Adrenal korteksin diğer patolojileri

İnsidentalomalar, adrenal bez hastalıklarına yönelik olmayan radyolojik görüntülemelerde rastlantısal olarak tespit edilen 1santimetreden büyük adrenal bez lezyonlarıdır.⁴⁸

Adrenokortikal karsinomların (ACC) yıllık insidansı milyonda 1-2 vaka olduğu tahmin edilmektedir. ACC bazı herediter kanser sendromlarına eşlik edebilir. En sık olarak tp53 mutasyonu ile Li Fraumeni sendromu; daha az sıklıkla MENIN gen mutasyonu ile MEN1, MSH2- MSH6- MLH1- PMS2 ile Lynch Sendromu ve diğer BWS, FAP, NF1 ve Carney kompleksi sendromları.⁴⁹

Adrenal beze en çok metastaz yapan tümörler akciğer böbrek ve kolondur. Metastazlar sıklıkla bilateraldir ve tüm malign adrenal kitlelerin yaklaşık yarısı metastazdır.⁵⁰

2.8. Cushing Sendromu

Cushing sendromu vücutta uzun süreli glukokortikoid maruziyeti ile oluşan aydede yüz, sentripedal obezite, ensede yağ birikimi, strialar, kolay morarma, ciltte incelme, hirsutizm, amenore, osteoporoz, diyabet ve hipertansiyon gibi belirti ve bulgulara sahip sendromdur. Bu belirti ve bulgularla birlikte hipertansiyon ve diyabet kortizolün otonom aşırı salgılanmasından kaynaklanır.⁵¹

Endojen Cushing; ACTH üreten hipofiz tümörleri ile ektopik tümörleri dahil eden ACTH bağımlı Cushing sendromunu ya da adrenal adenom veya iki taraflı adrenal

hiperplaziye bağı ACTH bağımsız Cushing sendromunu kapsar. Endojen cushing vakalarının yaklaşık %80 ACTH bağımlı %20'si ACTH bağımsızdır.⁵²

Bu sendromun en sık görülen nedeni çeşitli nedenlerle dışardan alınan uzun süreli glukokortikoid ile oluşan iatrojenik eksojen Cushingdir.⁵³

Adrenokortikal hastalığa (adenom, karsinom. Primer pigmentli nodüler adrenal hastalık, bilateral makronodüler hiperplazi) bağı cushing sendromunda artan kortizol salgısı CRH (kortikotropin salgılayan hormon) ve ACTH'ı baskılar. Bu sebeple serum DHEAS seviyesi ve idrarla atılan DHEAS miktarı düşer. Bu nedenle Cushing sendromunun ayırıcı tanısında ilk adım plazma ACTH düzeyinin ölçülmesidir .CS için tarama testi olarak düşük doz DST yapılır. Saat 23:00 ile 24:00 arasında verilen oral 1 mg deksametazon sonrası sabah 8:00-9:00 arası plazma açlık kortizolüne bakılır. Kortizol düzeyinin 1,8 µg/dl'nin (50 nmol/litre) altında olması normal baskılanmayı gösterir ve ACTH bağımsız otonom glukokortikoid salgısını ekarte ettirir. 5 µg/dl'nin üstünde olması hiperkortizolemiyi gösterir. Tarama testi olarak gece tükürük kortizolü, 24 saat idrar kortizolü ve serum DHEAS düzeyi bakılabilir ancak en yaygın olarak 1mg DST kullanılır.^{51,54}

Adrenal kaynaklı Cushing'te karsinomlar adenomlara göre daha büyüktürler. Bilgisayarlı tomografi görüntülemeye sinir düzensizliği, nekroz varlığı, kalsifikasyon ve hemoroit karsinom lehinedir. Ayrıca karsinomlar, kadınlarda androjen fazlalığı ile ilişkili semptomlar ortaya çıkarırlar.⁵²

Tedavi kortizol seviyelerinin normalleşmesini sağlamak, komorbidite ve mortaliteyi önlemek amacıyla yapılır. Lezyonların cerrahi olarak çıkarılması tedavide ilk seçenektir. Adrenalektomi sonrası adrenal yetmezlik gelişeceği için glukokortikoid tedavi gereklidir.⁵⁵

2.9. CYP11B2 (Aldosteron sentaz) enzimi

Aldosteron, adrenal korteksin zona glomerulosa tabakasında bir dizi enzimatik reaksiyon sonucu oluşur. Cyp11b1 geni tarafından kodlanan enzim glikokortikoid sentezinde, Cyp11b2 geni tarafından kodlanan enzim ise mineralokortikoid sentezinde görev alır.⁵⁶

Aldosteron üretimi plazma potasyum değerindeki artış, adrenokortikotropik hormon (ACTH) uyarısı ve Anjiyotensin 2 tarafından fizyolojik olarak düzenlenir.⁵⁷

Mitokondriyal sitokrom p450 enzimleri olan Cyp11b1(steroid 11Beta hidroksilaz) ve Cyp11b2(Aldosteron sentaz), sırasıyla kortizolün ve aldosteronun biyosentezindeki son adımları katalize eder.⁵⁸

Cyp11b1 transkriptleri normal adrenallerde ve aldosteron salgılayan tümörlerde yüksek miktarda bulunurken Cyp11b2'nin transkripti normal adrenal bezde düşük miktarda bulunur ancak aldosteron üreten bir tümörde artar.⁵⁹

Aldosteron sentaz gen mutasyonlarının konjenital hipoaldosteronizme sebep olduğu bilinmektedir. Konjenital hipoaldosteronizm yaşamın erken döneminde dirençli hiponatremi ve hiperkalemi ile seyreden klinik tablodur.⁷

Aldosteron biyosentezinin terminal enzimi Cyp11b2'ye karşı antikor geliştirilmesi patolojik olarak ileri kategorizasyona imkân tanımıştır. Normal adrenallerde Cyp11b2 ekspresyonu iki farklı şekilde görülür. Genç bireylerde zona glomerulosa boyunca tek tip ekspresyon, yaşlı bireylerde Aldosteron üreten hücre grupları APCC (yeni adıyla APM Aldosteron üreten mikro nodül) olarak görülür.¹

2.10. HISTALDO Sınıflandırması

Aldosteron üreten kortikal lezyonlar, unifokal veya multifokal olabilir ve görüntülemeye saptanan nodül(ler) olmadan iki taraflı olabilir. Dahası, büyük ölçüde veya radyolojik olarak tanımlanmış adrenal kortikal lezyonların hepsi aldosteron fazlalığının kaynağı olmayabilir. Bu nedenle, yeni DSÖ sınıflandırması, primer aldosteronizmde iki taraflı hastalık riskini tahmin etmeye yardımcı olmak için aldosteron üretiminin işlevsel bölgelerini belirlemek üzere CYP11B2 immünohistokimyasını kullanan HISTALDO sınıflandırmasının terminolojisini desteklemektedir.^{2,3}

HE boyama ile, ZG hücreleri ZF hücrelerine göre daha küçük ve kompakt(eozinofilik) görünür. Zona fasikülata lipitten zengin ve berrak hücreleri ile Zona Glomerulosadan ayrılır.⁶⁰

Aldosteron üreten adenom (APA) 10mm'den büyük, berrak hücreler, kompakt eozinofilik hücreler veya her ikisinin karışımından oluşan soliter bir neoplazmdir.³

2022 DSÖ adrenokortikal nodüler hastalık sınıflamasında; Primer bilateral makronodüler adrenal kortikal hastalıkta germ hattı duyarlılığını ve adrenal kortikal nodüllerin klonal-neoplastik doğasını anlamak ve tesadüfen keşfedilen fonksiyonel olmayan santimetre altı iyi huylu adrenal kortikal nodüllerin klonal-neoplastik doğasının tanınması, adrenal kortikal nodüler hastalık spektrumunun yeniden tanımlanmasına yol açmıştır. Sonuç olarak, adrenal kortikal patoloji alanındaki en önemli terminoloji değişikliği, adrenal kortikal nodüler hastalığının gözden geçirilmiş sınıflandırmasını içerir. Bu (a) sporadik nodüler adrenokortikal hastalığını, (b) bilateral mikronodüler adrenal kortikal hastalığını ve (c) bilateral makronodüler adrenal kortikal hastalığını (önceden primer bilateral makronodüler adrenal kortikal hiperplazi olarak bilinen) kapsamaktadır.²

HISTALDO sınıflaması oluşturulurken rezeke edilen adrenallerde immünohistokimyasal cyp11b2 boyaması ile yapılan morfolojik incelemede iki grup patolog tarafından histopatolojiler yeniden değerlendirilmiştir. İlk değerlendirmelerden elde edilen histopatolojik özellikler aşağıdaki terminolojileri içeriyordu:

- (i) APA,
- (ii) işlevsiz adenom,
- (iii) CYP11B2 pozitif nodül,
- (iv) aldosteron üreten hücre kümeleri,
- (v) CYP11B2 pozitif mikronodül,
- (vi) mikronodüler hiperplazi,
- (vii) yaygın hiperplazi

Tablo 1. HİSTALDO yeni sınıflandırması

Histopatoloji	Kısaltma	Tanımlama
Aldosteron üreten adrenokortikal karsinom	APCC	Aldosteron üreten malign neoplazmlar, varyantları da dahil olmak üzere, diğer adrenokortikal kanserlerle aynı patolojik kriterleri takip eder.
Aldosteron üreten adenom	APA	Berrak veya kompakt eozinofilik hücrelerden veya her iki hücre tipinden oluşan, iyi sınırlı CYP11B2 pozitif soliter neoplazm (≥ 10 mm çap).
Aldosteron üreten nodül	APN	Hematoksilen-eozin boyama ile morfolojik olarak görülebilen CYP11B2-pozitif lezyon (<10 mm çap). Bir APN sıklıkla lezyonun dış kısmından iç kısmına doğru yoğunluğu azalan bir CYP11B2 immün boyama gradyanı gösterir.
Aldosteron üreten mikronodül (aldosteron üreten hücre kümesi olarak bilinir)	APM	Hematoksilen-eozin boyama ile morfoloji açısından komşu adrenokortikal hücrelerden farklılık göstermeyen, adrenal kapsülün altında yer alan zona glomerulosa hücrelerinden oluşan CYP11B2-pozitif lezyon (<10 mm çap). Bir APM sıklıkla lezyonun dış kısmından iç kısmına doğru yoğunluğu azalan bir CYP11B2 immün boyama gradyanı gösterir.
Çoklu aldosteron üreten nodüller veya çoklu aldosteron üreten mikronodüller (mikronodüler hiperplazi olarak bilinir)	MAPN/MAPM	Normal Zona Glomerulosa'nın aralıklı bölgeleriyle adrenal kapsülün altında yerleşmiş çoklu APN veya çoklu APM. MAPN ve MAPM aynı adrenalde bir arada bulunabilir.
Aldosteron üreten yaygın hiperplazi	APDH	Nispeten geniş ve kesintisiz zona glomerulosa hücreleri şeridi; bu hücrelerin yarısından fazlası CYP11B2-pozitif immün boyama gösterir.

2.11. Tedavi

Aldosteron fazlalığının kan basıncında yükseklikten bağımsız olarak kardiyovasküler morbidite ve mortalite üzerine etkisi vardır. Bu sebeple hastalığın tedavisinde tek amaç hipertansiyon kontrolü olmamalıdır. Kan basıncının düşürülmesi ile beraber hipokalemi, renal ve kardiyovasküler hasarın önlenmesi öncelikli amaçtır. Uygun tedavi stratejisinin belirlenmesi için öncelikle hastalığın sebebi bilinmelidir. Tek taraflı veya iki taraflı Aldosteron aşırı üretimi olup olmadığı araştırılmalıdır. Tek taraflı p.a (Aldosteron üreten adenom veya unilateral adrenal hiperplazi) için laparoskopik adrenalectomi önerilmektedir. Ancak hasta ameliyat edilemiyorsa veya ameliyat olmak istemiyorsa ya da ileri incelemelere girmek istemiyor veya giremiyorsa mineralokortikoid antagonistleri ile medikal tedavi edilmesi önerilir.^{26,61}

Laparoskopik tek taraflı adrenalectomi ile tek taraflı p.a hastalarının neredeyse tamamında ameliyat sonrası kan basıncı ve serum potasyum konsantrasyonları yönünden iyileşme görülür.^{33,62}

İki taraflı adrenal hastalığa bağlı p.a hastalarında mineralokortikoid antagonistleri ile medikal tedavi önerilmektedir. İlk tercih olarak spironolakton, alternatif olarak da eplerenon tercih edilmelidir.²⁶

Eplerenon, hipertansiyonun tedavisinde kan basıncını spironolaktona karşı daha az etkinlikle düşürmesine ve yüksek maliyetine rağmen, spironolaktonun yan etkileri tolere edilemediğinde endikedir.⁶³

Sodyumdan kısıtlı diyet (günde <100 mEq sodyum), ideal vücut ağırlığının korunması, tütünden uzak durmak ve düzenli aerobik egzersiz yapmak, hipertansiyon kontrolünde farmakolojik tedavinin başarısına önemli ölçüde katkıda bulunur.²⁴

Özellikle böbrek yetmezliği ve diyabeti olanların tedavinin ilk 4-6 haftasında serum potasyum ve kreatinini kontrol edilmelidir.²⁶

Her iki mineralokortikoid antagonistini tolere edemeyen hastalar için potasyum tutucu diüretikler (amilorid ve triamteren) medikal tedavide kullanılabilir. Bu ilaçlar toplayıcı tübülde Aldosteron duyarlı sodyum kanalını bloke ederek serum potasyum konsantrasyonunu yükseltir, kan basıncını düşürürler. Ancak mineralokortikoid reseptör üzerindeki Aldosteron etkisi devam etmesi nedeniyle kardiyovasküler risklerden koruyucu değildir. Bu sebeple ilk basamak tedavide tercih edilmezler.^{64,65}

Bazı merkezlerde tek taraflı adrenal adenomlar için, yayınlanan veriler yeterli olmamasına rağmen, perkutan asetik asit enjeksiyonu ve termal ablasyon gibi peruktan ablatif yöntemler uygulanmıştır. Deneyim yetersizliği, belirsiz başarı oranları ve olası komplikasyonlar nedeniyle bu yöntemler önerilmemektedir.⁶⁶

248 hastanın dahil edildiği bir Faz2 çalışmada 12 haftalık Aldosteron Sentaz inhibitörü Baxdrostat'ın uygulanması ile kan basıncında doza bağlı anlamlı düşüş görüldü.⁶⁷

Klinik öncesi ve faz 1 çalışmalarında Baxdrostat'ın Aldosteron Sentaz enzim inhibisyonu için 1:100 seçiciliği vardı. Böylece çeşitli dozlarda verildiğinde plazma Aldosteron seviyelerini düşürdü ancak kortizol düzeylerini azaltmadı. Dolayısıyla adrenal yetmezlik açısından istenmeyen yan etki oluşmadı.⁶⁸

Bir diğ er Aldosteron Sentaz inhibitörü olan Larundrostat ile yapılan, antihipertansif ilaç tedavisi ile kontrol altına alınamayan hipertansiyonlu 163 hastalı bir klinik çalışmada 8 hafta sonrasında sistolik kan basıncında düşüş sağlamıştır.⁶⁹

Aldosteronomada operasyon sonrası hipertansiyonun düzelme ihtimalini göstermek için Aldosteronoma Rezolüsyon Skoru(ARS) sistemi geliştirilmiştir. Kadın cinsiyet,6 yıldan daha az sureli hipertansiyon,2 veya daha az antihipertansif ilaç kullanıyor olmak, vücut kitle indeksinin 25'in altında olması klinik predikt rlerdir. Bu puanlama sistemi klinisyenlerin operasyon öncesinde klinik sonuçlar açısından bilgilendirilmesine yardımcı olur.⁷⁰



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Olgu Seçimi

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji Anabilim Dalı'nda 2009-2022 yılları arasında primer hiperaldosteronizm tanısı almış (19 olgu), sürrenal kitleye sahip opere olgular araştırıldı. Ayrıca bu yıllarda Cushing sendromu (19 olgu) veya adrenokortikal karsinom nedeniyle opere olan hastalar(2 olgu) da çalışmaya dahil edildi. Patolojik olarak Adrenokortikal hiperplazi tanılı iki adet olgunun ise blokları temin edilemedi. Toplam 40 olgu çalışma için seçildi. Olguların tanı anındaki yaşı, cinsiyeti, tümör yerleşim yeri, tümör boyutu, biyokimyasal belirteçler, tarama testi sonuçları, radyolojik görüntüler ve klinik takiplerine ait bilgiler Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı otomasyon sisteminden ve patoloji raporlarından elde edildi.

3.2. Etik Kurul

Bu çalışma, 4 Şubat 2023 tarihli toplantının 20 no'lu kararında belirtilen yazı ile Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

3.3. Yöntem

3.3.1. İmmünohistokimya Yöntemi ve Değerlendirilmesi

Olgulara ait hematoksilen eozin preparatları iki patolog tarafından ışık mikroskopunda tekrar değerlendirilip HISTALDO sınıflandırmasına göre gruplandırıldı. İmmünohistokimyasal inceleme için, seçilen parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında kesitler, pozitif şarjlı lamlara alındı. Kesitler 60°C'lik etüvde bir saat bekledikten sonra 15 dakika ksilol ile deparafinize edildi. Derecesi giderek azalan alkollerden geçirilerek dehidrate edilip distile suda yıkandı. Hazırlanan kesitler

Cytochrome P450 11B2 antikoruna (DF10091-BP, Affinity) 1:50 dilüsyonda ultraview dab kit kullanılarak BenchMark XT marka immunohistokimya cihazında boyandı. Otomatik boyama cihazında boyanan preparatlar sıvı bazlı kapama maddesi ile kapatılıp, ışık mikroskobunda değerlendirildi.

İmmünohistokimyasal yöntemle uygulanan Cytochrome P450 11B2 antikoruna için semikantitatif H-skor değerlendirmesi yapıldı. Bu yöntem ile boyama şiddeti kontrol dokusu ile kıyaslanarak 0 (boyanma yok), +1 (zayıf boyanma), +2 (orta boyanma) ve +3 (güçlü boyanma) olarak ve her boyama şiddetine ait tümör hücre oranı yüzde olarak çarpılarak, toplamı 300'ü geçmeyecek şekilde toplam skor elde edildi.

3.3.2. İstatistiksel Analiz

Kategorik ölçümlerin gruplar arasında karşılaştırılmasında Ki Kare test istatistiği kullanıldı. Gruplar arasında sayısal ölçümlerin karşılaştırılmasında varsayımların sağlanması durumunda Bağımsız gruplarda T testi, varsayımların sağlanmaması durumunda ise Mann Whitney U testi kullanıldı. Sayısal ölçümler arasındaki etkileşimi incelemeye varsayımların sağlanması durumunda Pearson korelasyonu, varsayımların sağlanmaması durumunda ise Spearman korelasyonu kullanıldı. Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sayısal ölçümler ise ortalama ve standart sapma (gerekli yerlerde ortanca ve minimum- maksimum) olarak özetlendi. Verilerin istatistiksel analizinde IBM SPSS Statistics Versiyon 20.0 paket programı kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0,05 olarak alındı.

4. BULGULAR

1.P.A ve kontrol grubunun karşılaştırılması

1.a Genel özellikleri

Çalışmamıza tamamı tek taraflı adrenalektomi ameliyatı olmuş; klinik olarak Primer Hiperadosteronizm tanısı almış 19 hasta ile beraber kontrol grubu olarak Cushing Sendromu klinik özelliklerine sahip 19 hasta dahil edildi. Ayrıca nonfonksiyonel adrenal kitleye sahip 2 hasta örneklem sayısının azlığı nedeniyle yeni grup olarak ayrıştırılmadı ancak bazı verileri göreceli olarak kıyaslandı.

P.A hastalarının 5'i kadın (%26,3) ,14'ü erkek (%73,7); Cushing kontrol grubunun 17'si kadın (%89,5) ,2'si erkek (%10,5): nonfonksiyonel adrenal kitleye sahip iki hastadan 1'i kadın (%50,0),1'i erkek (%50,0)'ti. Çalışmaya toplamda 23 kadın (%57,5) ve 17 erkek (%42,5) hasta dahil edildi. (Tablo 2)

Çalışmaya dahil edilen P.A hastalarının yaş ortalaması $43,1 \pm 9,8$ yıl iken kontrol grubu Cushing hastalarının yaş ortalaması $51,3 \pm 10,5$ yıl idi. Nonfonksiyonel kitlesi olan iki hastanın yaş ortalaması 39,5 yıl idi.

Eşlik eden hastalıkların sorgulanmasında HT, DM, Dirençli hipertansiyon birlikteliklerine bakıldı. P.A hastalarının %84,2'sinde HT (n=16), 21,1'inde DM (n=4), %78,9'unda dirençli hipertansiyon (n=15) bulunurken bu oranlar Cushing grubunda olan hastalarda %21,1 HT (n=4), %10,5 DM (n=2) idi. Eşlik eden hastalıklar Tablo 1'de gösterildi.

P.A ve Cushing nedeniyle sürrenal adenomu olan hastalar karşılaştırıldığında HT P.A olan hastalarda daha sık görülürken DM açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. (P=0,66)

Ayrıca P.A hastaları arasında 16 hipertansiyona sahip hastanın 13'u dirençli hipertansiyonu. Dirençli HT sıklığı %81,25 bulundu.

Çalışmaya dahil edilen hastaların boy ve kiloları ölçülerek vücut kitle indeksleri (VKİ) hesaplandığında P.A olan hastaların VKİ ortalaması $26,04 \pm 2,21$ kg/m² iken; Cushing olanlarda VKİ ortalaması $27,87 \pm 6,47$ kg/m² olarak bulundu. İstatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p değeri=0,31).

Tablo 2. Hasta gruplarının temel karakteristiklerinin incelenmesi

	Primer Aldosteronizm n=19 n (%)	Cushing n=19 n (%)	P değeri
Kadın hasta sayısı (n)	5 (22,7)	17 (77,3)	*<0,001
Yaş (yıl)	43,1±9,8	51,3±10,5	*<0,001
Ağırlık (kg)	76,53±6,35	74,27±16,92	0,633
Boy (cm)	172,20±8,18	163,40±5,59	*0,002
VKI (kg/m2)	26,04±2,21	27,87±6,47	0,310
Hipertansiyon (n)	16	4	*<0,01
DM (n)	4	2	0,66

Dm, diabetes mellitus: VKI, vücut kitle indeksi

1.b. Biyokimyasal ve Hormonal parametrelerin değerlendirilmesi

Hastalarda bakılan açlık plazma glukoz değerlerinde P.A olan hastalarda ortalama 107,73±32,59 mg/dl iken Cushing olanların ortalaması 94,47±22,33 mg/dl idi. (p=0,152)

Hastalar HbA1c yönünden incelendiğinde P.A olan hastaların ortalaması %6,17±1,15; Cushing olanların HbA1c ortalaması ise %5,81±0,83 olarak saptandı. (p=0,339)

Bu değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Hastalar kreatin yönünden incelendiğinde P.A olan hastaların ortalaması 0,56±0,13; Cushing olanların kreatin ortalaması ise 0,53±0,08 olarak saptandı. (p=0,520)

Operasyon öncesi bakılan Aldosteron (ng/dl) ve ARR P.A grubunda istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek bulundu. (P değeri sırasıyla 0,019; 0,002)

Kortizol (mcg/dl), 24 saat idrar kortizolü (mcg/gün), Renin ise kontrol Cushing grubunda istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek bulundu. (P değeri sırasıyla 0,012; 0,002; 0,029)

1 mg DST sonucu da Cushing grubunda istatistiksel olarak anlamlı daha yüksekti. (p<0,001)

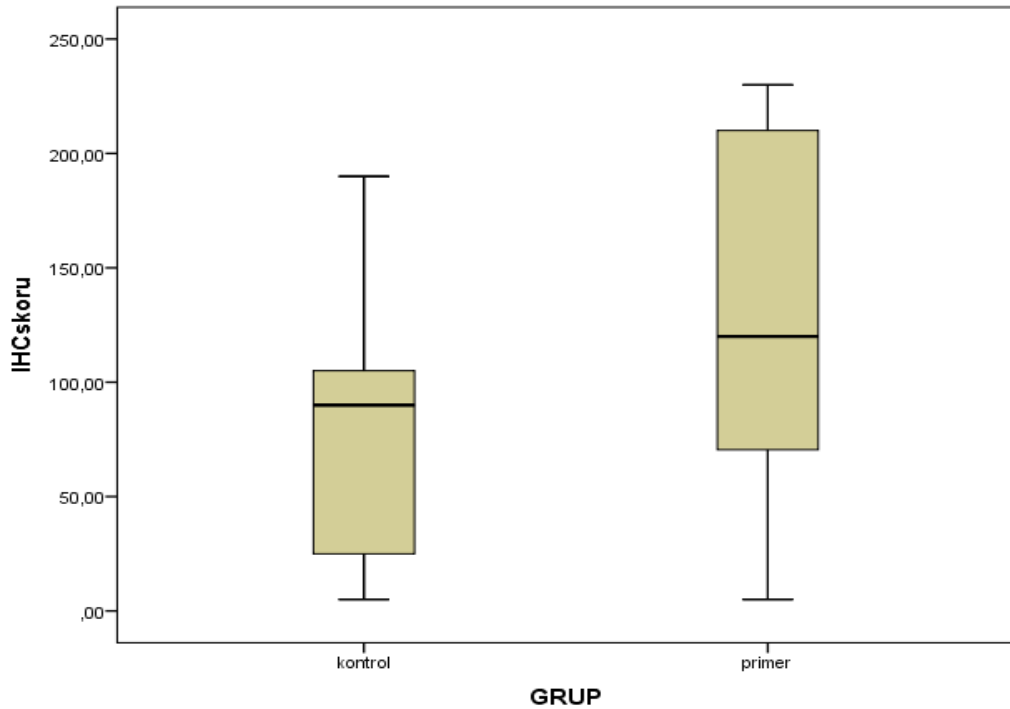
1.c. Klinik özelliklerin karşılaştırılması

P.A grubunda en geniş çap ortalama $2,05 \pm 1,16$ iken Cushing grubunda ortalama $3,28 \pm 0,76$ idi. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. ($P=0,001$) Tümör volümleri ortalamaları PA grubunda $8,69 \pm 8,88$ cm³, Cushing grubunda ise $33,15 \pm 21,95$ cm³ bulundu. ($P=0,01$)

P.A grubunda ameliyat sonrası klinik iyileşme açısından bakıldığında %71,4 hastada tedaviye yanıt, %28,6 hastada yanısızlık görüldü.

1.d.IHC skorlarının karşılaştırılması

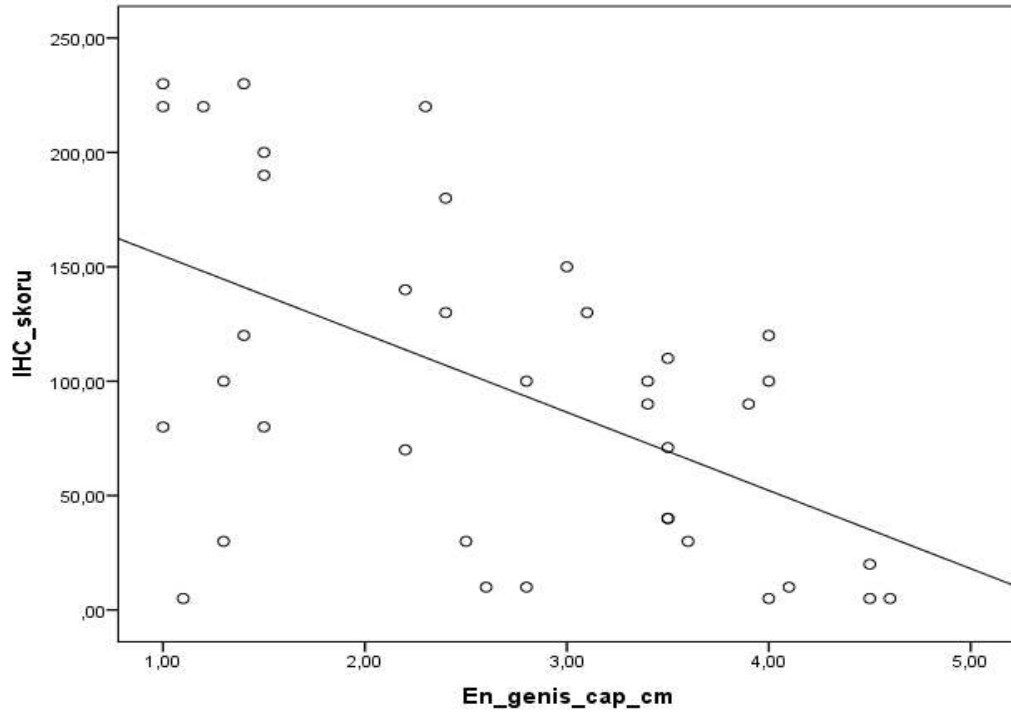
İki grup patolojilerinin immunohistokimya ile yeniden boyanarak değerlendirilmesi ile IHC skorları üzerinden karşılaştırıldı. P.A grubunda ortalama $121,36 \pm 81,04$ Cushing grubunda ortalama $73,94 \pm 57,70$ olarak hesaplandı. P.A grubunda en düşük skora sahip hasta 5 puana, en yüksek skora sahip hasta 230 puana sahipti. Cushing grubunda ise en düşük skor 5, en yüksek skor 190 olarak bulundu. P.A grubunda IHC skoru istatistiksel olarak anlamlı daha yüksekti. ($P=0,045$) (Şekil 6)



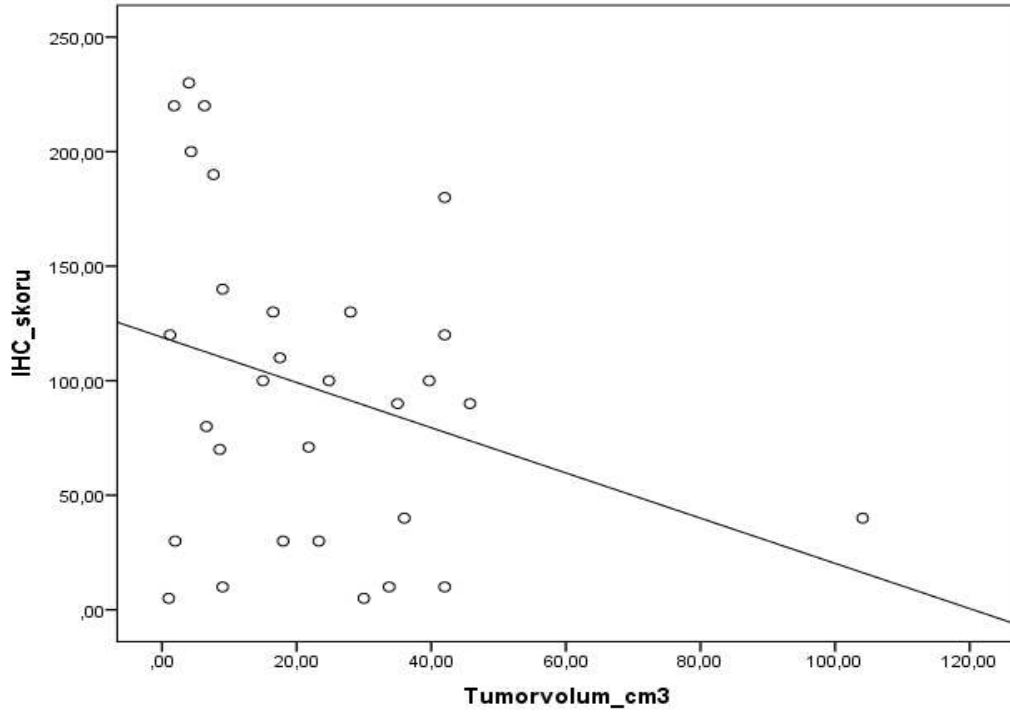
Şekil 6. Gruplar arasında IHC skoru karşılaştırması grafiği

Tümör volümü ve en geniş çap ile ihc skoru değerleri tüm hastalarda birlikte incelendi. İhc skorunun tümör volümü ile arasında negatif yönlü korelasyon bulgularına rastlanıldı ancak anlamlı bir ilişki yoktu. ($r=-0,301$ $p=0,106$)

İhc skoru ile en geniş çap arasında negatif yönlü korelasyon bulgularına rastlanıldı ve bulgular istatistiksel olarak anlamlıydı. ($r=-0,536$ $p=0,001$)



Şekil 7. En geniş çap ile IHC skoru arasında korelasyon grafiği



Şekil 8. Tümör volümü ile IHC skoru arasında korelasyon grafiği

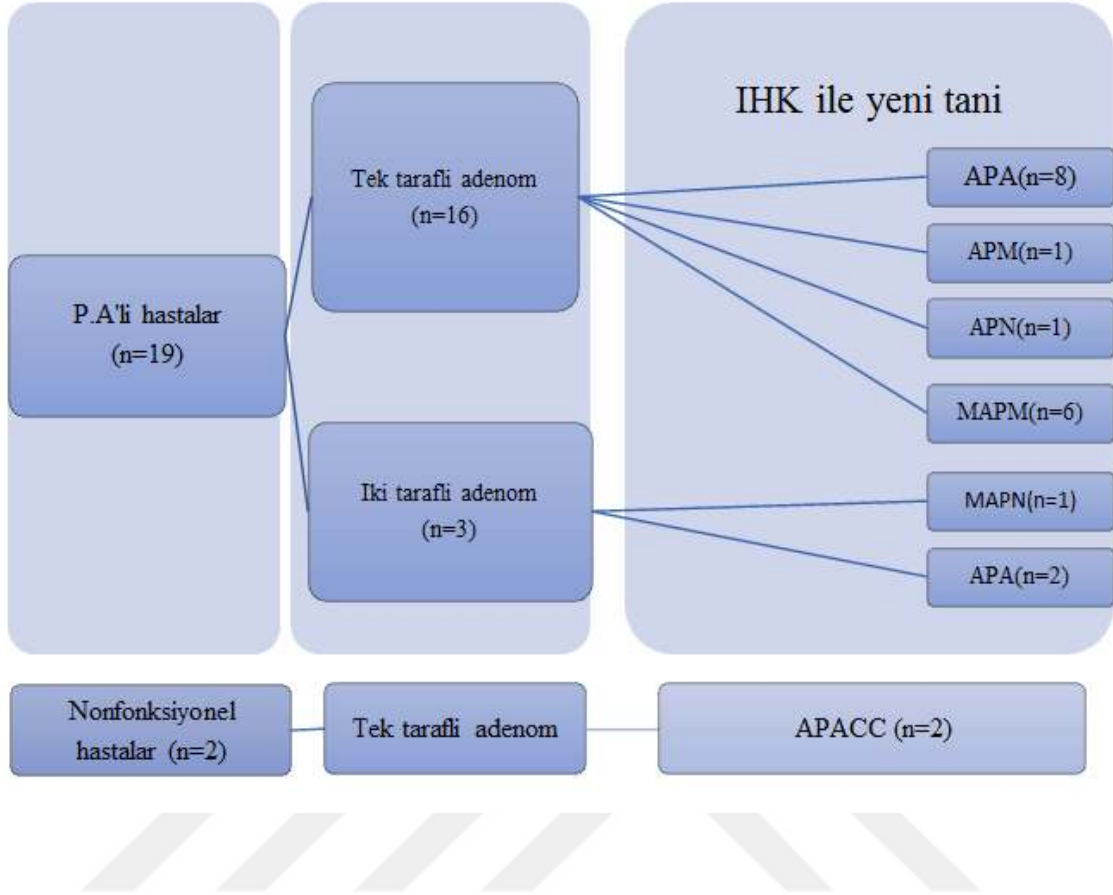
2.APA ve non-APA grupların karşılaştırılması

2.a Genel Özellikler

Patoloji preparatlarına yapılan ihk boyama sonrası gruplar, boyanma yoğunluğu ve yüzdesi değerlendirilerek HISTALDO kriterlerine göre yeniden ayrıştırıldı.

Toplam 21 hasta, yeni patolojik tanıları ile APA(n=10) ve non-APA(n=11) olarak gruplandırıldı. Non-APA grubunda APMM tanısı alan bir hasta, APN tanısı alan bir hasta, MAPN tanısı alan bir hasta, APACC tanısı alan 2 hasta ve MAPM tanısı alan 6 hasta mevcuttu.

Tablo 3. IHK ile yeni tanıya göre gruplama



2.b Biyokimyasal ve Hormonal parametrelerin değerlendirilmesi

Hastaların ameliyat öncesi potasyum, aldosteron, renin ve ARR oranları incelendiğinde potasyum için APA olan hastaların ortalaması $3,06 \pm 0,65$ mmol/l iken Non-APA olan hastalarda benzer şekilde ortalama $3,47 \pm 0,69$ mmol/L idi. (P değeri=0,197)

Aldosteron ortalaması APA'da $442,31 \pm 378,02$ ng/dl iken non-APA'da $311,76 \pm 189,72$ ng/dl idi. Renin ortalaması APA'da $1,83 \pm 2,25$ ng/ml/sa. iken non-APA'da $1,39 \pm 1,74$ ng/ml/sa. idi. (P değeri=0,696)

ARR oranları ortalaması APA'da $99,21 \pm 95,20$ iken non-APA'da $75,86 \pm 62,69$ idi. (P değeri=0,606)

2.c Klinik özelliklerin karşılaştırılması

Hastaların ameliyat öncesi sistolik hipertansiyon ortalaması $161,90 \pm 17,78$ iken diyastolik hipertansiyon ortalaması $95,23 \pm 9,80$ olarak saptandı.

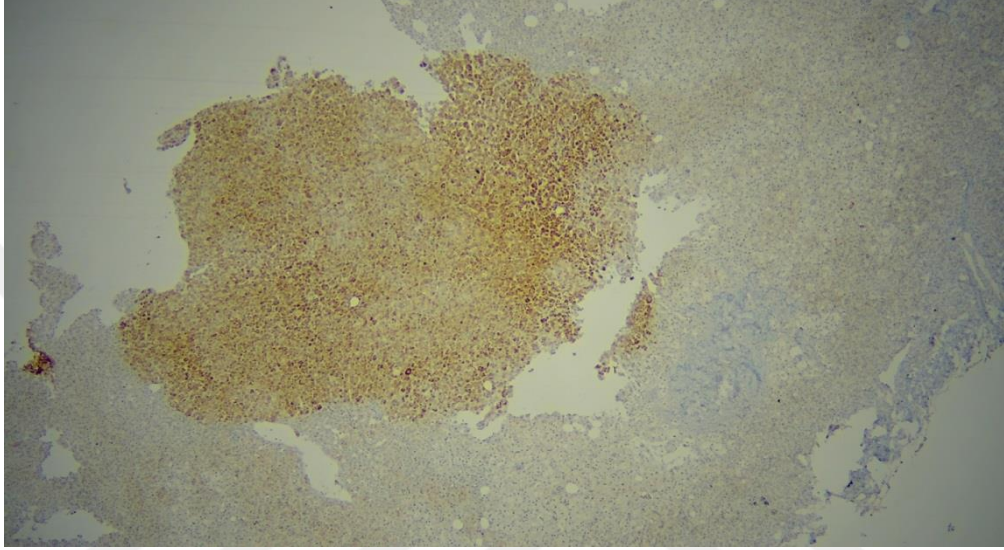
Tablo 4. Normal Adrenal Korteks ve Adenomun Fonksiyonel Karakterizasyonu

Vaka no	Klinik Tanı	Yeni Tanı	Tümör			Sekil
			En uzun çap(cm)	Volüm(cm ³)	IHC skoru	
1	PA	APN	1,3	1,95	30	1
2	PA	APA	2,3	6,3	220	
3	PA	APA	1,2	1,8	220	2
4	PA	APA	1,4	4	230	
5	PA	APM	1,3	-	100	3
6	PA	MAPM	1,4	1,2	120	
7	PA	MAPM	1,1	1	5	
8	PA	APA	4,6	30	5	
9	PA	APA	2,2	9	140	
10	PA	MAPM	4,5	-	5	
11	PA	APA	3,1	16,5	130	
12	PA	MAPN	3	-	150	4
13	PA	APA	1,5	4,32	200	
14	PA	MAPM	1	-	230	5
15	PA	MAPM	1	-	80	
16	PA	APA	2,2	8,58	70	
17	PA	APA	1,5	6,6	80	
18	PA	APA	3,5	21,8	71	
19	PA	MAPM	1	-	220	
20	NF	APACC	13	-	5	
21	NF	APACC	9,5	720	10	

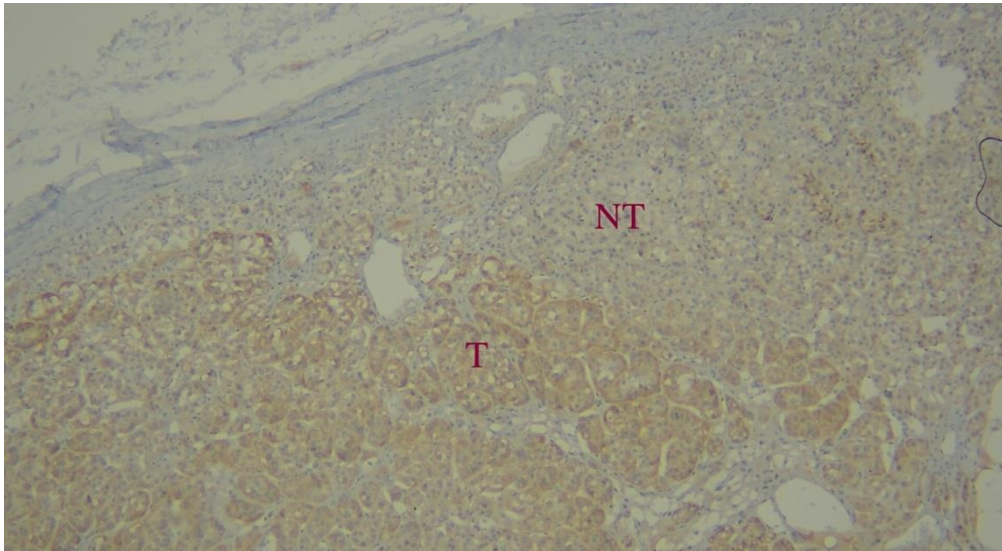
APA grubunda en geniş çap ortalama $2,35 \pm 1,38$ iken non-APA grubunda ortalama $3,46 \pm 4,07$ idi. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ($p=0,282$) Tümör volümleri ortalamaları APA grubunda $10,89 \pm 9,05$ non-APA grubunda ise $181,03 \pm 359,30$ bulundu.

Hastaların tedaviye yanıtlarının değerlendirilmesinde APA grubundaki 10 hastanın 8'inde tam yanıt görülürken non-APA grubundaki 11 hastanın 7'sinde yanıt görülmüş diğer hastalar ameliyat sonrası yanıtızsız olarak değerlendirilmiştir.

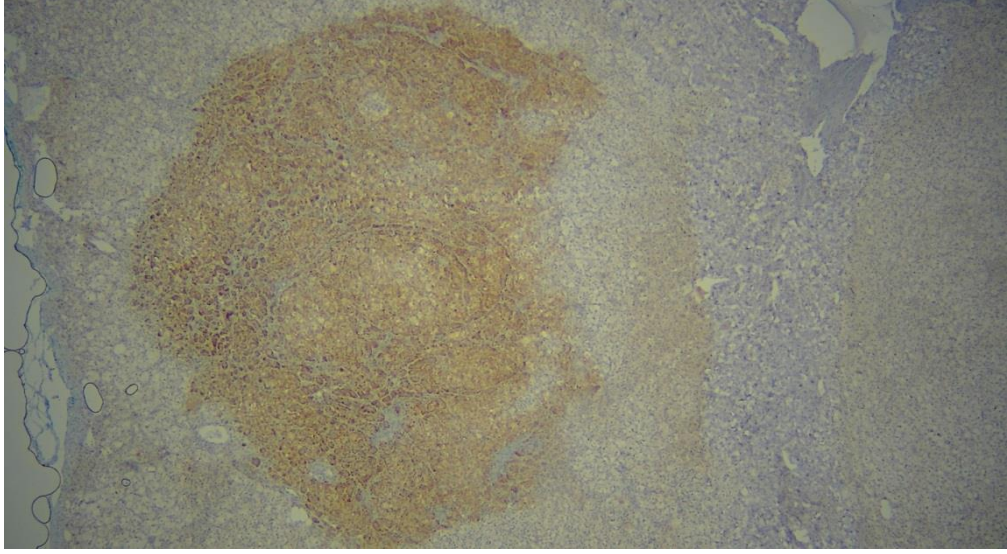
Ameliyat sonrası takiplerde bakılan potasyum değerlerine incelendiğinde en düşük 2 mmol/l en yüksek 4,7 mmol/l olduğu belirlendi. İki grup ortalamalarına bakıldığında APA için $3,06 \pm 0,65$ non-APA için $3,47 \pm 0,69$ olduğu görüldü. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi. ($P=0,197$)



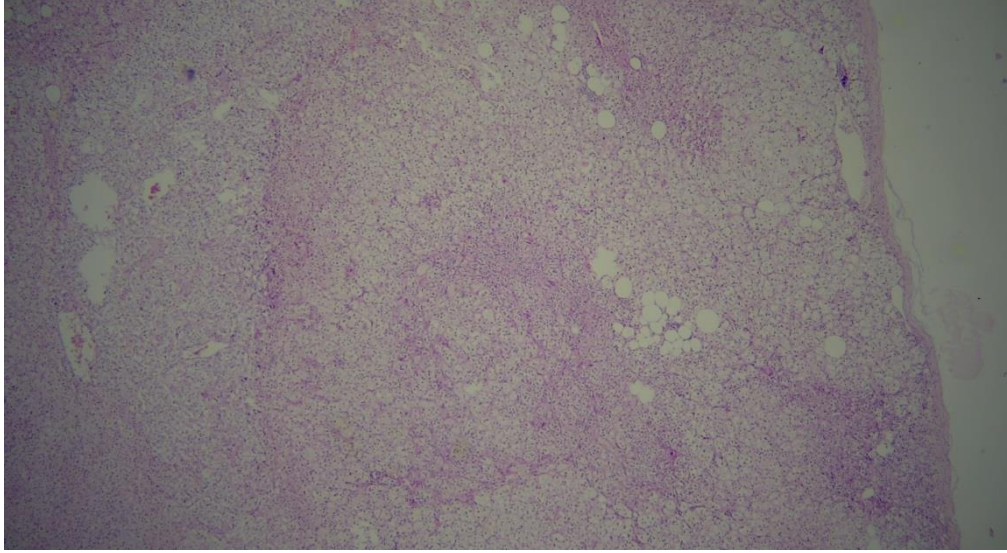
Resim 1. Vaka 1 (APN) Cyp11b2 antikoruna ile boyanma (x40)



Resim 2. Vaka 3 (APA) Cyp11b2 antikoruna ile boyanma (x100) Tümör(T) ve tümör olmayan(NT) bölgelerin görünümü

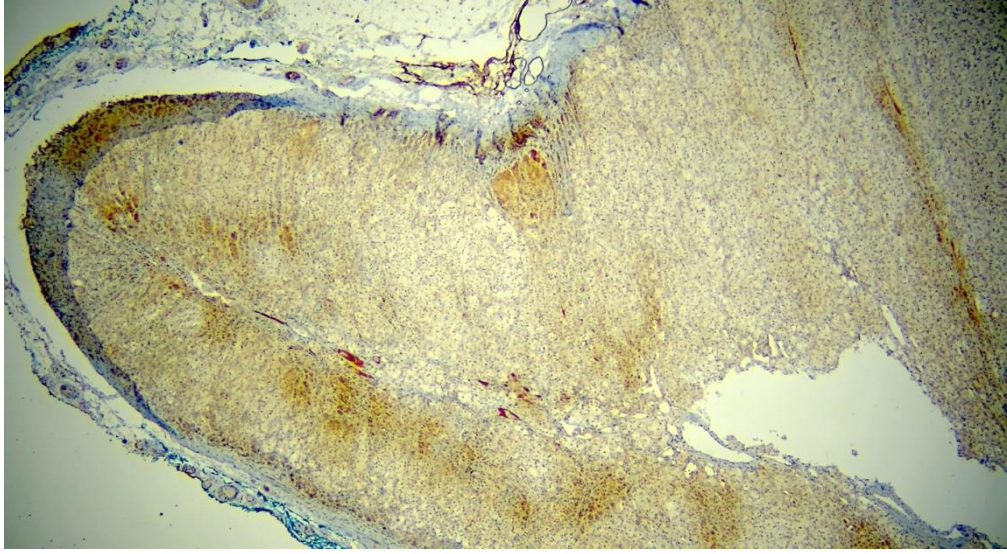


(A)

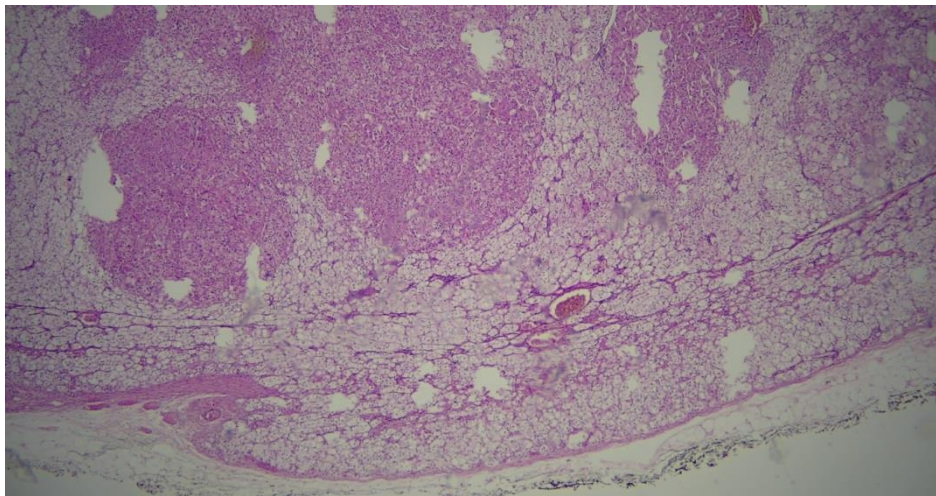
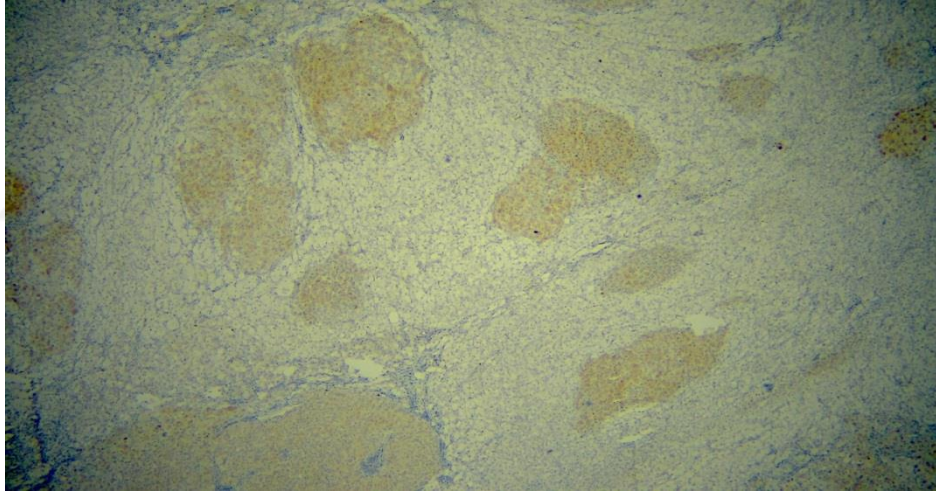


(B)

Resim 3. Vaka 5(APM) A: Cyp11b2 antikoruna ile boyanma (x100) IHK, B: HE(x100)



Resim 4. Vaka 12(MAPN) Cyp11b2 antikoru ile boyanma (x40)



Resim 5. Vaka 14(MAPM) A: Cyp11b2 antikoru ile boyanma (x40), B: HE(x40)

2.d IHC skorlarının karşılaştırılması

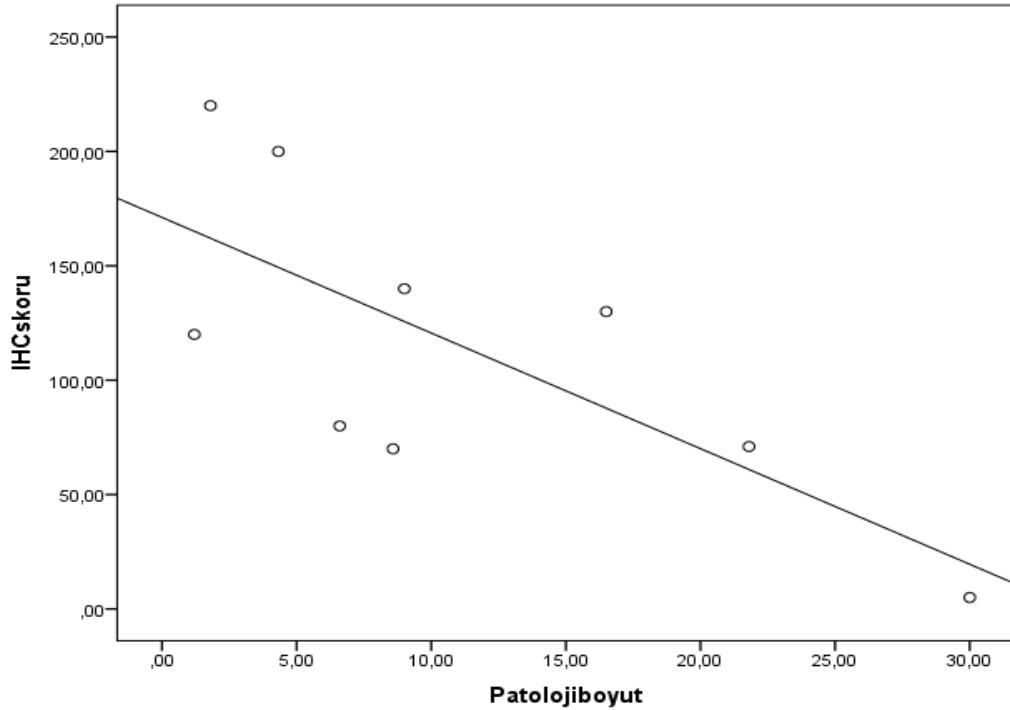
Hastaların ihc skoru ortalaması APA grubunda $136,6 \pm 78,86$ iken non-APA grubunda $86,81 \pm 85,30$ bulundu. APA ve non-APA grubunda benzer şekilde en düşük skora sahip hasta 5 puana, en yüksek skora sahip hasta 230 puana sahipti. (Tablo 5)

Tablo 5. Hastaların IHC skorlarının karşılaştırılması

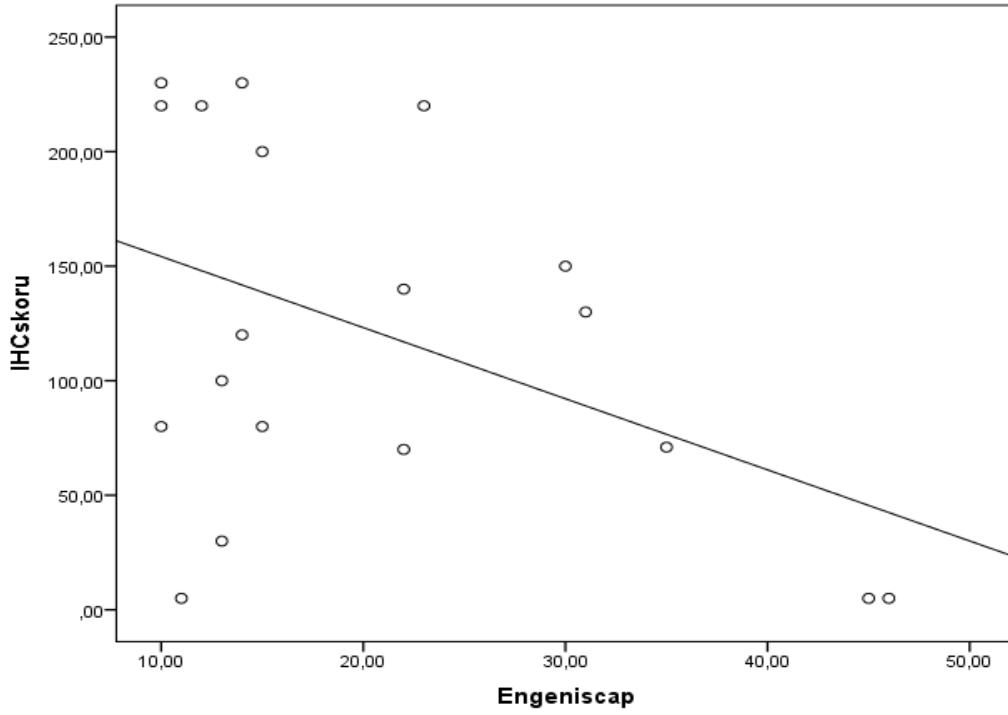
	Ort $\pm$ SS	Med (Min-Maks)
APA	$136,6 \pm 78,86$	135(5-230)
Non-APA	$86,81 \pm 85,3$	80(5-230)

PA'lı hastalarda tümör volümü ile ihc skoru değerleri arasında negatif yönlü korelasyon bulgularına rastlanıldı.

PA'lı hastalarda en geniş çap ile ihc skoru arasında negatif yönlü korelasyon bulgularına rastlanıldı. ($r=-0,521$ $p=0,015$)



Şekil 9. Patolojik boyut ile ihc skoru korelasyonu grafiği

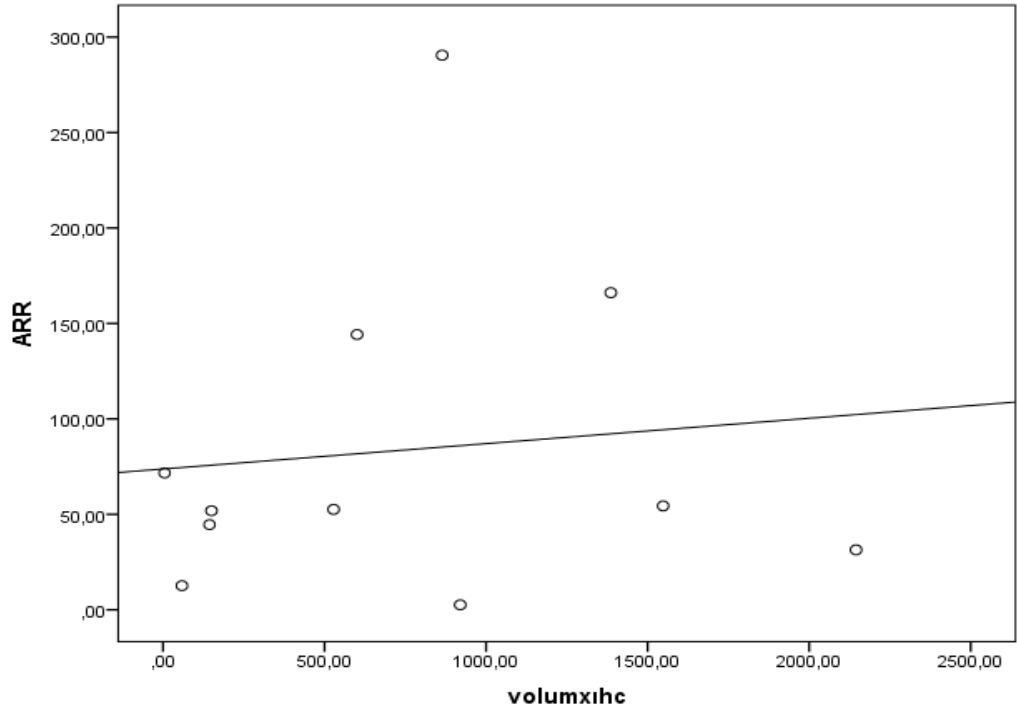


Şekil 10. En geniş çap ile ihc skoru korelasyonu grafiği

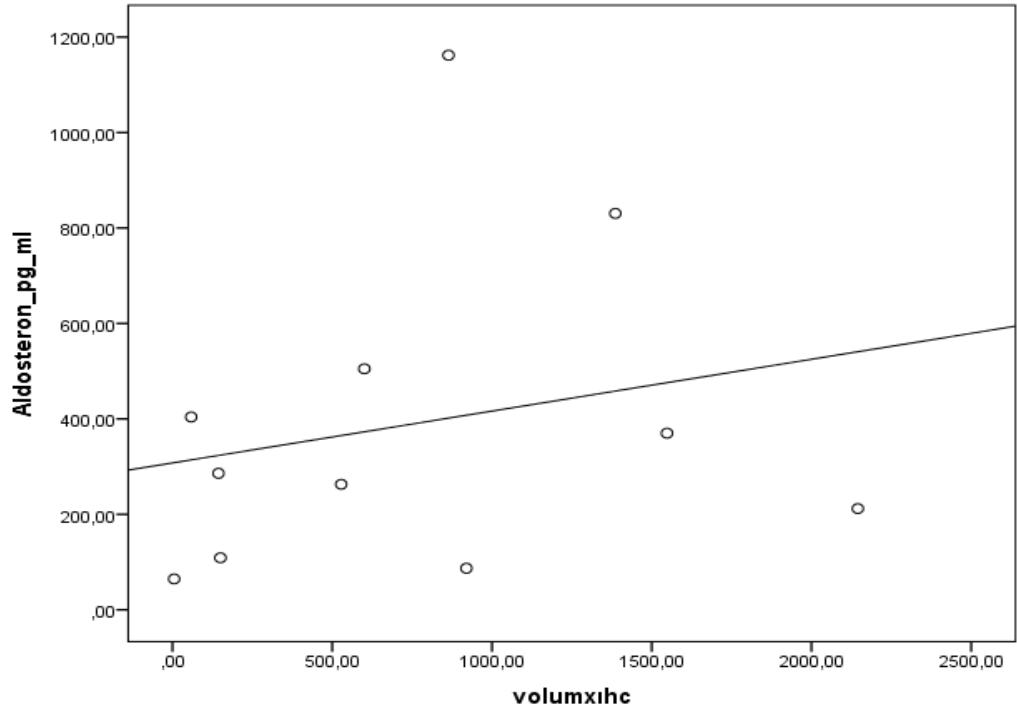
PA'lı hastalarda ihc skoru ile ameliyat öncesi potasyum değeri ve ARR arasında korelasyon bulgularına rastlanmadı.

Bu çalışmada tümör volümü ile ihc skoru çarpanı kullanılmış olup bu değerler APA grubunda ortalama $979,74 \pm 607,19$ ve non-APA grubunda ortalama $1851,87 \pm 3565,87$ bulunmuş olup istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. ($p=0,188$)

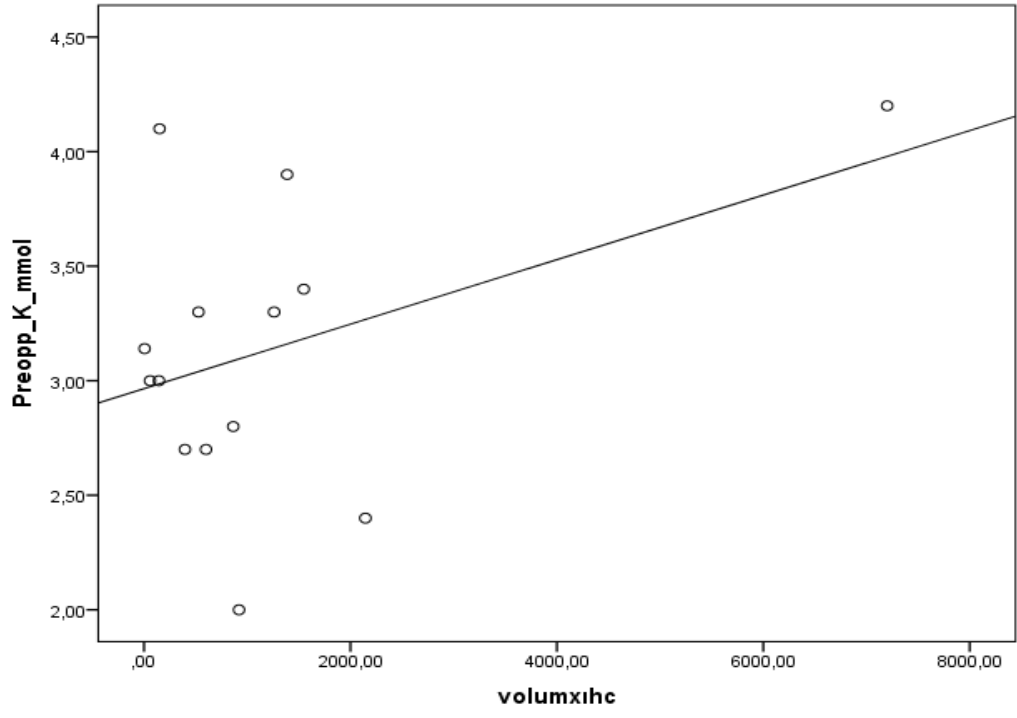
Tümör volümü ile ihc skoru çarpanı tüm grupta ameliyat öncesi ARR, Aldosteron ve potasyum ile korelasyon göstermedi.



Şekil 11. Tümör volüm x ihc ile ARR korelasyonu grafiği



Şekil 12. Volüm x ihc ile Aldosteron korelasyonu grafiği



Şekil 13. Volüm x ihc ile Preopp K korelasyonu grafiği

5.TARTIŞMA

P.A sekonder hipertansiyonun en sık nedenlerinden biridir. Baskılanmış plazma renin aktivitesi, artmış adrenal Aldosteron sekresyonu ve arteriyel hipertansiyon ile karakterizedir. Hipertansif hastalarda prevalansı %.4-10, dirençli hipertansif hastalarda %6-23 arasındadır.⁷¹

Çalışmamızda tarama testi olarak kullanılan ARR ve Aldosteron seviyesi ameliyat öncesi dönemde Cushing kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek bulundu ancak tanı alan tüm hastalarda yüksek oran görülmez. Yapılan bir çalışmada ARR %31 ihtimalle normal olabilir.⁷²

Bu nedenle ARR ve aldosteron yüksekliği olmasa dahi çoğu zaman görüntüleme ve doğrulama testlerine ihtiyaç vardır. Bir steroid metabolom çalışmasında: PA'lı 174 hasta (103 APA, 71 IHA); 162 sağlıklı kontrol; non fonksiyonel adrenal adenomu olan 56 hasta; Hafif derecede subklinik glukokortikoid salgılayan 104 hasta ve adrenal bağımlı Cushing sendromlu 47 hasta grubu karşılaştırılmıştır. P.A' li hastalarda kortizol ve glukokortikoid atılımı kontrol ve subklinik Cushing gruba göre daha yüksek görülmüştür. Bununla birlikte APA'lı hastalarda tek taraflı adrenalectomi hem mineralokortikoid hem glukokortikoid fazlalığını düzeltir ve MRA tedavi ile tam olarak önlenemeyen glukokortikoid bağımlı metabolik riski önlemede medikal tedaviye göre daha etkilidir.⁷³

Cushing grubunda ameliyat öncesi bakılan kortizol seviyesi, 24 saat idrarda kortizol miktarı daha yüksek bulunmuştur. Renin seviyesi primer aldosteronizm grubunda olduğu gibi baskılanmadığından bu grupta istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek görülmüştür. Hipertansiyon primer aldosteronizmin önemli bir bulgusudur. Bunun yanında Cushing'te hastaların yaklaşık %80'ini etkiler.24 saatlik idrar kortizol atılımının >55ug/24 saat olması Cushing için anlamlıdır. Daha ileri tetkik, yatmadan önce 1 mg deksametazon supresyon testi ve ertesi sabah plazma kortizol konsantrasyonunun ölçülmesini içerir (kesme noktası 1,8 mg/dl) ⁷⁴

Cushing'te yüksek endojen kortizol salgısı nedeniyle obezite, glukoz intoleransı ve diyabet sıklığı artmıştır ancak çalışmamızdaki hastaların diyabet tedavisi sebebiyle açlık plazma glikozu ve Hba1c seviyeleri görece normal kalmıştır. Çalışmamızda tümör

boyutu ve en geniş çap Cushing grubunda daha yüksekti. Bazı çalışmalarda tümör volümü ve en geniş çap boyutu P.A hastalarında Cushing hastalarına göre anlamlı oranda daha yüksek bulundu. Bu farklılığın her zaman adenom yapısında olmayan nodül benzeri patolojilerin P.A 'da varlığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Adrenal adenomdan klinik açıdan önemli miktarda kortizol salgılanması tümör boyutu ile ilişkilidir. Tipik olarak adenom çapı 2 cm üstündedir. P.A hastalarında genellikle adenom çapı 1,5 cm üzerinde olduğunda dehidroepiandrosteron sülfat testi ve 1 mg DST yapılır. Şüpheli kortizol salınımı araştırılır.^{75,76}

İn situ hibridizasyon kullanılarak CYP11B2 mRNA ekspresyonuna ilişkin bir çalışmada tümör volümüne göre ayarlanmış enzim skoru 24 saatlik idrar aldosteronu ile pozitif korelasyon gösterdiği ve plazma potasyum konsantrasyonu ile negatif korelasyon gösterdiği gösterilmiştir.⁷⁷

Bu da Cyp11b2 antikorunun immunhistokimya boyanması ile in situ hibridizasyonun benzer sonuçlara sahip olduğunu göstermektedir. Literatürde normal adrenal bez immunhistokimyası ve özellikle primer aldosteronizmde enzim ekspresyonu ile ilgili bilgiler kısıtlıdır. Son zamanlarda immunhistokimya boyama kullanılarak hastalığın patofizyolojisi araştırılmaktadır. Nishimoto'nun 24 Aldosteron üreten adenom ile yaptığı cyp11b1 ve cypb2 immunboyamasında 3 tip hücre tipinden oluştuğunu göstermiştir. (Cyp11b1 pozitif, Cyp11b2 pozitif ve çift negatif)⁷⁸

Normal Zona Glomerulosa'nın aksine aldosteron üreten adenomlar Cyp11b2'yi farklı derecelerde eksprese ederler.⁷⁹

Çalışmamızda da P.A tanılı vakalar skorlamada boyanmanın yoğunluğuna ve yüzdesine göre farklı puanlar aldılar ve çeşitli derecelerde enzim ekspresyonu olabildiği gösterildi. Normal diyet sodyumu koşullarında Zona Glomerulosa 'da yalnızca küçük bir hücre grubu B2'yi eksprese ederken Zona Fasikulata'daki hücrelerin tamamı B1 eksprese eder.⁸⁰

Bununla birlikte, iki CYP11B proteininin lokalizasyonu hakkında çok az şey bilinmektedir, çünkü iki enzime yönelik immünohistokimyasal teknikler, rutin histopatolojik incelemeler için hazırlanan insan örnekleri için oluşturulmamıştır.⁸¹

Bu çalışmada primer aldosteronizm hastaları adrenal korteksin diğer patolojilerine göre daha yüksek Cyp11b2 ihk skoruna sahip olmuştur. Literatürde benzer çalışmalar mevcuttur.^{78,82}

Hastalığın tanısında patolojik bulgularla desteklenmesi açısından bu boyamanın kullanılmasının önemi ortaya çıkmaktadır. Ayrıca hastalığın alt tip tayininin yapılması kolaylaşmaktadır. İnsanlarda adrenalektomi materyallerinde yapılan çalışmalarda Tümör boyutu ile CYP11B2 enzim ekspresyon miktarı ters orantılı olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda benzer şekilde tümör boyutu (en geniş çap) kullanılarak cyp11b2 immünohistokimyasal enzim skorları karşılaştırıldığında ters orantılığı olduğu görülmüştür. Makroadenomlarda mikroadenomlara kıyasla daha düşük bir skor ortalaması mevcuttur. Literatürde bu yönde benzer sonuçları olan çalışmalar mevcuttur.^{77,82,83}

P.A klinik tanısına sahip hastaların adrenalektomi materyallerinde yapılan bir çalışmada Tümör volümüne göre ayarlanmış CYP11b2 enzim skoru ile ameliyat öncesi ARR ve PAC pozitif korele; serum potasyumu negatif korelasyon göstermiştir.⁸⁴

Ancak bizim çalışmamızda Tümör volümü ve iHC skor çarpanının operasyon öncesi potasyum ve ARR ile korelasyonu görülmeydi. Sadece en geniş çap ile bu çarpım arasında negatif korelasyon gösterildi.

Çalışmamızda tümör volümü ve iHC skoru çarpanının APA ve non-APA grubunda kıyaslanması mümkün olmadı. Bunun sebebi non-APA grubundaki patolojilerde (mikronodüller, diffüz hiperplazi gibi) tümör volümünün net olarak değerlendirilememesidir.

Nanba ve arkadaşlarının çalışmasında P.A hastalarında 23 tümörünün 4'ünde CYP11B2 immün boyaması görülmeydi; bu, PA hastalarında BT ile tespit edilen adrenal tümörlerin hiperaldosteronizmden her zaman sorumlu olmayabileceğini göstermektedir.

O yüzden bu antikor boyaması ile yeni bir sınıflama sistemi kullanılmıştır.⁸⁴

Bu çalışmada tek taraflı adrenal tümörlerin yeni HISTALDO sınıflamasına göre daha önce adenom veya nodüler hiperplazi olarak değerlendirilen patolojik tanılar yeniden değerlendirilmiş ve alt tip tayini daha doğru bir şekilde yapılmıştır.^{2,3}

Çalışmamıza benzer şekilde bir çalışmada primer aldosteronizm ile opere olmuş hastaların tedavi sonuçları ve enzim ekspresyonları immunohistokimya ile karşılaştırıldı. Adrenalektomi sonrası klinik iyileşme görülmeyen hastalar tam klinik iyileşme görülen hastalara göre daha yüksek Cyp11b2 ekspresyonu gösterdiler.⁸²

Eksik tedavi, artan yan etki oranıyla ilişkilidir. Esansiyel hipertansiyonla, MR antagonistleriyle tedavi edilen P.A sonuçları karşılaştırıldığında kardiyovasküler olaylar renal etkiler ve mortalite P.A hastalarında daha yüksek oranlarda görüldü ancak yüksek dozlarla tedavi edilen, renin aktivitesi baskılanmamış (saatte ≥ 1 $\mu\text{g/L}$) hastalarda riskler benzer oranlardaydı.^{85,86}



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma primer aldosteronizmli hastalarda aldosteron sentezi için kilit rol oynayan CYP11B2 enziminin immünohistokimyasal olarak araştırılmasını amaçlıyordu.

Cyp11b2 enzim ekspresyonunun p.a hastalarının klinik özellikleri ve tedavi sonuçları ile ilişkisini gösterdik.

PA'daki steroidojenik Cyp11b2 enziminin ekspresyon seviyeleri, adrenal Cushing sendromundan önemli ölçüde farklıydı.

Çalışmada gösterilen her bir alt tipin göreceli prevalansı potansiyel olarak numunelerin seçim yanlılığından(bias) etkilense de PA'da birçok histolojik alt tipin olduğu açıkça gösterilmiştir. Dolayısıyla bu sonuçlar, CYP11B2 immün boyamasının, hiperaldosteronizm ve alt tip tanısından sorumlu lezyonların tanımlanmasında güçlü bir araç olduğunu göstermektedir.

Son yıllarda sporadik ve ailesel primer aldosteronizmin patofizyolojisinde gelişmeler kaydedilmektedir. Hastalığın etkin tedavi edilmesi, kardiyovasküler ve renal sonuçların önlenmesi ile morbidite mortalitenin azaltılması için patofizyolojisinin aydınlatılması önemlidir.

CYP11B2 ekspresyonunun; tümör büyüklüğünün, aldosteron üretiminin ve hiperaldosteronizmin klinik belirtilerinin belirleyicilerinden olduğunu göstermektedir.

Ayrıca immünohistokimyanın in situ hibridizasyona göre daha hızlı ve daha ucuz olduğu ve genel patolojik tanıda daha yaygın olarak uygulanabileceği unutulmamalıdır.

KAYNAKLAR

1. **Gomez-Sanchez, C.E., et al.,** Disordered CYP11B2 expression in primary aldosteronism. Hormone and Metabolic Research, **2017**. 49(12): p. 957-962.
2. **Mete, O., et al.,** Overview of the 2022 WHO classification of adrenal cortical tumors. Endocrine pathology, **2022**. 33(1): p. 155-196.
3. **Williams, T.A., et al.,** International histopathology consensus for unilateral primary aldosteronism. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, **2021**. 106(1): p. 42-54.
4. **Kempná, P. and C.E. Flück,** Adrenal gland development and defects. Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism, **2008**. 22(1): p. 77-93.
5. **Rosol, T.J., et al.,** Adrenal gland: structure, function, and mechanisms of toxicity. Toxicologic pathology, **2001**. 29(1): p. 41-48.
6. **Payne, A.H. and D.B. Hales,** Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones. Endocrine reviews, **2004**. 25(6): p. 947-970.
7. **White, P.C.,** Aldosterone synthase deficiency and related disorders. Molecular and cellular endocrinology, **2004**. 217(1-2): p. 81-87.
8. **Stowasser, M. and R.D. Gordon,** Primary aldosteronism: changing definitions and new concepts of physiology and pathophysiology both inside and outside the kidney. Physiological reviews, **2016**. 96(4): p. 1327-1384.
9. **Williams, D.M.,** Clinical pharmacology of corticosteroids. Respiratory care, **2018**. 63(6): p. 655-670.
10. **Conn, J.W.,** Presidential address: Part I. Painting background Part II. Primary aldosteronism, a new clinical syndrome. The Journal of laboratory and clinical medicine, **1955**. 45(1): p. 3-17.

11. **Conn, J.W., et al.,** Normokalemic primary aldosteronism: a detectable cause of curable essential hypertension. *Jama*, **1965**. 193(3): p. 200-206.
12. **Vaidya, A., et al.,** The expanding spectrum of primary aldosteronism: implications for diagnosis, pathogenesis, and treatment. *Endocrine reviews*, **2018**. 39(6): p. 1057-1088.
13. **August, J.T., D.H. Nelson, and G.W. Thorn,** Response of normal subjects to large amounts of aldosterone. *The Journal of clinical investigation*, **1958**. 37(11): p. 1549-1555.
14. **Hall, J., et al.,** Role of renal hemodynamics and arterial pressure in aldosterone" escape". *Hypertension*, **1984**. 6(2_pt_2): p. I183.
15. **Wang, X.-Y., et al.,** The renal thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter as mediator of the aldosterone-escape phenomenon. *The Journal of clinical investigation*, **2001**. 108(2): p. 215-222.
16. **Yokota, N., et al.,** Atrial natriuretic factor significantly contributes to the mineralocorticoid escape phenomenon. Evidence for a guanylate cyclase-mediated pathway. *The Journal of clinical investigation*, **1994**. 94(5): p. 1938-1946.
17. **Guyton, A.C.,** Blood pressure control—special role of the kidneys and body fluids. *Science*, **1991**. 252(5014): p. 1813-1816.
18. **Zennaro, M.-C., S. Boulkroun, and F.L. Fernandes-Rosa,** Pathogenesis and treatment of primary aldosteronism. *Nature Reviews Endocrinology*, **2020**. 16(10): p. 578-589.
19. **Calhoun, D.A.,** Is there an unrecognized epidemic of primary aldosteronism?(Pro). *Hypertension*, **2007**. 50(3): p. 447-453.
20. **Young Jr, W.F.,** Management approaches to adrenal incidentalomas: a view from Rochester, Minnesota. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, **2000**. 29(1): p. 159-185.
21. **Monticone, S., et al.,** Prevalence and clinical manifestations of primary aldosteronism encountered in primary care practice. *Journal of the American College of Cardiology*, 2017. 69(14): p. 1811-1820.

22. **Mosso, L., et al.**, Primary aldosteronism and hypertensive disease. *Hypertension*, **2003**. 42(2): p. 161-165.
23. **Douma, S., et al.**, Prevalence of primary hyperaldosteronism in resistant hypertension: a retrospective observational study. *The Lancet*, **2008**. 371(9628): p. 1921-1926.
24. **Young, W.F.**, Primary aldosteronism: renaissance of a syndrome. *Clinical endocrinology*, **2007**. 66(5): p. 607-618.
25. **Young Jr, W.F. and G.G. Klee**, Primary aldosteronism: diagnostic evaluation. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, **1988**. 17(2): p. 367-395.
26. **Funder, J.W., et al.**, The management of primary aldosteronism: case detection, diagnosis, and treatment: an endocrine society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **2016**. 101(5): p. 1889-1916.
27. **Baguet, J.-P., et al.** SFE/SFHTA/AFCE consensus on primary aldosteronism, part 1: Epidemiology of PA, who should be screened for sporadic PA? in *Annales d'Endocrinologie*. **2016**. Elsevier.
28. **Monticone, S., et al.**, Cardiovascular events and target organ damage in primary aldosteronism compared with essential hypertension: a systematic review and meta-analysis. *The lancet Diabetes & endocrinology*, **2018**. 6(1): p. 41-50.
29. **Mulatero, P., et al.**, Increased diagnosis of primary aldosteronism, including surgically correctable forms, in centers from five continents. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **2004**. 89(3): p. 1045-1050.
30. **Weinberger, M.H. and N.S. Fineberg**, The diagnosis of primary aldosteronism and separation of two major subtypes. *Archives of Internal Medicine*, **1993**. 153(18): p. 2125-2129.
31. **Stowasser, M., et al.**, Factors affecting the aldosterone/renin ratio. *Hormone and Metabolic Research*, 2012. 44(03): p. 170-176.

32. **Naruse, M., et al.,** Japan Endocrine Society clinical practice guideline for the diagnosis and management of primary aldosteronism **2021**. Endocrine journal, **2022**. 69(4): p. 327-359.
33. **Reincke, M., et al.,** Diagnosis and treatment of primary aldosteronism. The lancet Diabetes & endocrinology, **2021**. 9(12): p. 876-892.
34. **Young Jr, W.F., et al.,** Role for adrenal venous sampling in primary aldosteronism. Surgery, **2004**. 136(6): p. 1227-1235.
35. **Rossi, G.P., et al.,** An expert consensus statement on use of adrenal vein sampling for the subtyping of primary aldosteronism. Hypertension, **2014**. 63(1): p. 151-160.
36. **Dekkers, T., et al.,** Adrenal vein sampling versus CT scan to determine treatment in primary aldosteronism: an outcome-based randomised diagnostic trial. The lancet Diabetes & endocrinology, **2016**. 4(9): p. 739-746.
37. **Bravo, E.L., et al.,** The changing clinical spectrum of primary aldosteronism. The American journal of medicine, **1983**. 74(4): p. 641-651.
38. **Sechi, L.A., et al.,** Long-term Renal Outcomes in Patients With Primary Aldosteronism. JAMA, **2006**. 295(22): p. 2638-2645.
39. **Rossi, G.P., et al.,** A prospective study of the prevalence of primary aldosteronism in 1,125 hypertensive patients. Journal of the American College of Cardiology, **2006**. 48(11): p. 2293-2300.
40. **Young, D.B.,** Quantitative analysis of aldosterone's role in potassium regulation. American Journal of Physiology-Renal Physiology, **1988**. 255(5): p. F811-F822.
41. **Kassirer, J.P., et al.,** On the pathogenesis of metabolic alkalosis in hyperaldosteronism. The American journal of medicine, **1970**. 49(3): p. 306-315.
42. **Milliez, P., et al.,** Evidence for an increased rate of cardiovascular events in patients with primary aldosteronism. Journal of the American College of Cardiology, **2005**. 45(8): p. 1243-1248.

43. **Yoshihara, F., et al.,** Left ventricular structural and functional characteristics in patients with renovascular hypertension, primary aldosteronism and essential hypertension. *Am J Hypertens*, **1996**. 9(6): p. 523-8.
44. **Stowasser, M., et al.,** Evidence for abnormal left ventricular structure and function in normotensive individuals with familial hyperaldosteronism type I. *J Clin Endocrinol Metab*, **2005**. 90(9): p. 5070-6.
45. **Reincke, M., et al.,** Risk factors associated with a low glomerular filtration rate in primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab*, **2009**. 94(3): p. 869-75.
46. **Gregoire, J.R.,** Adjustment of the osmostat in primary aldosteronism. *Mayo Clin Proc*, **1994**. 69(11): p. 1108-10.
47. **Hanslik, G., et al.,** Increased prevalence of diabetes mellitus and the metabolic syndrome in patients with primary aldosteronism of the German Conn's Registry. *European Journal of Endocrinology*, **2015**. 173(5): p. 665-675.
48. **Young Jr, W.F.,** The incidentally discovered adrenal mass. *New England Journal of Medicine*, **2007**. 356(6): p. 601-610.
49. **Else, T., et al.,** Adrenocortical carcinoma. *Endocrine reviews*, **2014**. 35(2): p. 282-326.
50. **Hess, K.R., et al.,** Metastatic patterns in adenocarcinoma. *Cancer*, **2006**. 106(7): p. 1624-1633.
51. **Nieman, L.K., et al.,** The diagnosis of Cushing's syndrome: an endocrine society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **2008**. 93(5): p. 1526-1540.
52. **Lacroix, A., et al.,** Cushing's syndrome. *The lancet*, **2015**. 386(9996): p. 913-927.
53. **Hopkins, R.L. and M.C. Leinung,** Exogenous Cushing's syndrome and glucocorticoid withdrawal. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, **2005**. 34(2): p. 371-384.

54. **Arnaldi, G., et al.,** Diagnosis and complications of Cushing's syndrome: a consensus statement. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **2003**. 88(12): p. 5593-5602.
55. **Nieman, L.K., et al.,** Treatment of Cushing's syndrome: an endocrine society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **2015**. 100(8): p. 2807-2831.
56. **Kawamoto, T., et al.,** Role of steroid 11 beta-hydroxylase and steroid 18-hydroxylase in the biosynthesis of glucocorticoids and mineralocorticoids in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **1992**. 89(4): p. 1458-1462.
57. **Hattangady, N.G., et al.,** Acute and chronic regulation of aldosterone production. *Molecular and cellular endocrinology*, **2012**. 350(2): p. 151-162.
58. **Bureik, M., M. Lisurek, and R. Bernhardt,** The human steroid hydroxylases CYP11B1 and CYP11B2. **2002**.
59. **Curnow, K.M., et al.,** The product of the CYP11B2 gene is required for aldosterone biosynthesis in the human adrenal cortex. *Molecular Endocrinology*, **1991**. 5(10): p. 1513-1522.
60. **Neville, A.M. and M. O'hare,** Histopathology of the human adrenal cortex. *Clinics in endocrinology and metabolism*, **1985**. 14(4): p. 791-820.
61. **Young Jr, W.,** Diagnosis and treatment of primary aldosteronism: practical clinical perspectives. *Journal of Internal Medicine*, **2019**. 285(2): p. 126-148.
62. **Sawka, A.M., et al.,** Primary aldosteronism: factors associated with normalization of blood pressure after surgery. *Annals of internal medicine*, **2001**. 135(4): p. 258-261.
63. **Parthasarathy, H.K., et al.,** A double-blind, randomized study comparing the antihypertensive effect of eplerenone and spironolactone in patients with hypertension and evidence of primary aldosteronism. *Journal of hypertension*, **2011**. 29(5): p. 980-990.
64. **Ganguly, A. and M.H. Weinberger,** Triamterene-thiazide combination: Alternative therapy for primary aldosteronism. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, **1981**. 30(2): p. 246-250.

65. **Gritting, G.T., et al.**, Amiloride in primary hyperaldosteronism. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, **1982**. 31(1): p. 56-61.
66. **Sarwar, A., et al.**, Clinical outcomes following percutaneous radiofrequency ablation of unilateral aldosterone-producing adenoma: comparison with adrenalectomy. *Journal of Vascular and Interventional Radiology*, **2016**. 27(7): p. 961-967.
67. **Freeman, M.W., et al.**, Phase 2 trial of baxdrostat for treatment-resistant hypertension. *New England Journal of Medicine*, **2023**. 388(5): p. 395-405.
68. **Freeman, M.W., et al.**, Results from a phase 1, randomized, double-blind, multiple ascending dose study characterizing the pharmacokinetics and demonstrating the safety and selectivity of the aldosterone synthase inhibitor baxdrostat in healthy volunteers. *Hypertension Research*, **2023**. 46(1): p. 108-118.
69. **Laffin, L.J., et al.**, Aldosterone synthase inhibition with lorundrostat for uncontrolled hypertension: the target-HTN randomized clinical trial. *Jama*, **2023**. 330(12): p. 1140-1150.
70. **Zarnegar, R., et al.**, The aldosteronoma resolution score: predicting complete resolution of hypertension after adrenalectomy for aldosteronoma. *Annals of surgery*, **2008**. 247(3): p. 511-518.
71. **Rimoldi, S.F., U. Scherrer, and F.H. Messerli**, Secondary arterial hypertension: when, who, and how to screen? *European heart journal*, **2014**. 35(19): p. 1245-1254.
72. **Tanabe, A., et al.**, Variability in the renin/aldosterone profile under random and standardized sampling conditions in primary aldosteronism. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **2003**. 88(6): p. 2489-2494.
73. **Arlt, W., et al.**, Steroid metabolome analysis reveals prevalent glucocorticoid excess in primary aldosteronism. *JCI insight*, **2017**. 2(8).
74. **Findling, J.W., H. Raff, and D.C. Aron**, The low-dose dexamethasone suppression test: a reevaluation in patients with Cushing's syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **2004**. 89(3): p. 1222-1226.

75. **Tang, L., et al.,** Clinical characteristics of aldosterone-and cortisol-coproducing adrenal adenoma in primary aldosteronism. *International Journal of Endocrinology*, **2018**. 2018.
76. **Dennedy, M.C., et al.,** Low DHEAS: a sensitive and specific test for the detection of subclinical hypercortisolism in adrenal incidentalomas. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **2017**. 102(3): p. 786-792.
77. **Nishimoto, K., et al.,** Adrenocortical zonation in humans under normal and pathological conditions. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **2010**. 95(5): p. 2296-2305.
78. **Fallo, F., et al.,** Quantitative assessment of CYP11B1 and CYP11B2 expression in aldosterone-producing adenomas. *European Journal of Endocrinology*, **2002**. 147(6): p. 795-802.
79. **Ogishima, T., et al.,** Zone-specific expression of aldosterone synthase cytochrome P-450 and cytochrome P-45011 beta in rat adrenal cortex: histochemical basis for the functional zonation. *Endocrinology*, **1992**. 130(5): p. 2971-2977.
80. **Enberg, U., et al.,** Postoperative differentiation between unilateral adrenal adenoma and bilateral adrenal hyperplasia in primary aldosteronism by mRNA expression of the gene CYP11B2. *European Journal of Endocrinology*, **2004**. 151(1): p. 73-85.
81. **Ahn, C.H., et al.,** Expression of CYP11B1 and CYP11B2 in adrenal adenoma correlates with clinical characteristics of primary aldosteronism. *Clinical Endocrinology*, **2022**. 96(1): p. 30-39.
82. **Monticone, S., et al.,** Immunohistochemical, genetic and clinical characterization of sporadic aldosterone-producing adenomas. *Molecular and cellular endocrinology*, **2015**. 411: p. 146-154.
83. **Ono, Y., et al.,** Different expression of 11 β -hydroxylase and aldosterone synthase between aldosterone-producing microadenomas and macroadenomas. *Hypertension*, **2014**. 64(2): p. 438-444.
84. **Nanba, K., et al.,** Histopathological diagnosis of primary aldosteronism using CYP11B2 immunohistochemistry. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **2013**. 98(4): p. 1567-1574.

85. **Hundemer, G.L., et al.,** Renal outcomes in medically and surgically treated primary aldosteronism. *Hypertension*, **2018**. 72(3): p. 658-666.
86. **Hundemer, G.L., et al.,** Cardiometabolic outcomes and mortality in medically treated primary aldosteronism: a retrospective cohort study. *The lancet Diabetes & endocrinology*, **2018**. 6(1): p. 51-59.

