

THAÍS CASTANHEIRA DE FREITAS RESENDE

**Avaliação dos testes da furosemida endovenosa e oral no diagnóstico
do hiperaldoosteronismo primário**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título
de Doutor em Ciências

Programa de Endocrinologia

Orientador: Prof. Dr. Madson Queiroz de Almeida

**São Paulo
2023**

THAÍS CASTANHEIRA DE FREITAS RESENDE

**Avaliação dos testes da furosemida endovenosa e oral no diagnóstico
do hiperaldoosteronismo primário**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título
de Doutor em Ciências

Programa de Endocrinologia

Orientador: Prof. Dr. Madson Queiroz de Almeida

**São Paulo
2023**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Resende, Thaís Castanheira de Freitas
Avaliação dos testes da furosemida endovenosa e
oral no diagnóstico do hiperaldosteronismo primário
/ Thaís Castanheira de Freitas Resende. -- São
Paulo, 2023.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Endocrinologia.
Orientador: Madson Queiroz de Almeida.

Descritores: 1.Hiperaldosteronismo 2.Hipertensão
3.Furosemida

USP/FM/DBD-013/23

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

*Aos meus pais Dalton e Sara, por me amarem,
apoiarem em todas as escolhas e incentivarem a
busca por conhecimento.*

*A minha irmã Bruna, pelo apoio e exemplo de
dedicação.*

*Ao meu marido Ricardo, que segurou a minha
mão durante todos esses anos.*

*A minha filha Júlia, que ressignificou a minha
vida.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais Dalton e Sara que desde o início me mostraram que nada seria impossível, desde que eu me dedicasse para isso. Me forneceram todos os instrumentos para que eu aproveitasse as oportunidades a minha frente, me apoiaram em minhas escolhas, mesmo se essas incluíssem colocar uma distância física entre nós, vibraram com todos os acertos, me apoiaram diante aos erros e juntos chegamos aqui.

Agradeço a Deus e Nossa Senhora que seguraram minha mão, me acalmaram e me permitiram trilhar com tranquilidade o caminho a minha frente, com fé, amor, alegria e respeito ao próximo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Madson Queiroz de Almeida, um exemplo de médico e professor que conheci durante a residência médica e após como preceptora, mas que descobri o real valor após tê-lo como meu orientador. Sua calma, dedicação, disponibilidade e tranquilidade, além de grande capacidade técnica como médico e pesquisador, o fazem ser um orientador brilhante.

Às Profas. Dras. Berenice Bilharinho de Mendonça e Ana Claudia Latronico, exemplos de mulheres pesquisadoras e líderes, que me inspiraram e auxiliaram grandemente na elaboração e conclusão desse projeto.

À Profa. Dra. Maria Cândida Barisson Villares Fragoso, pelo exemplo de médica, de cuidado com o paciente e de pesquisadora.

À Profa. Dra. Maria Adelaide Albergaria Pereira, por colaborar com esse projeto desde o início, pelos conselhos, sugestões, puxões de orelha e principalmente pelo ombro amigo que sei que sempre pude contar.

Às equipes da Unidade de Endocrinologia Geral, Unidade de Obesidade, Unidade de Lípidos, Unidade de Hipertensão do Instituto do Coração, Serviço de Nefrologia, Serviço de Urologia e Instituto de Radiologia do Hospital das Clínicas da FMUSP, em especial aos Drs. Luiz Bortolotto, Luciano Drager, Márcio Mancini, Edna Nakandakare, Andrea Abreu, Giovanio Silva, José Luis Chambô, Victor Srougi, Fábio Tanno, Francisco Carnevale, Aline Cristine Cavalcante, Bruna Pilan e Fernando Yamauchi, pela valiosa colaboração em nossos casos.

Aos funcionários da Disciplina e do Ambulatório de Endocrinologia, Rubens, Roberta, Rosana, Cida, Roseli, Francisca, Renata, Selma e todos os outros. Sempre disponíveis para ajudar com nossas demandas e dos pacientes, com certeza vocês são parte fundamental para o sucesso de qualquer projeto clínico.

A todas as funcionárias do Laboratório de Hormônios e Genética Molecular LIM42.

Aos queridos amigos da endocrinologia e pós-graduação, Marcela Rassi, Ana Alice Wolf Maciel, Janaina Petenuci, Amanda Meneses, Helaine Charchar, Carlos Eduardo Seraphim, Aline Guimarães, Gustavo Fagundes, Lara Bessa e Lygia Gayoso por terem dividido comigo as alegrias e frustrações desse caminho que escolhemos trilhar.

Aos membros participantes da minha banca de qualificação, Prof. Dr. Luiz Aparecido Bortolotto, Prof. Dr. Luciano Drager e Prof. Dr. Leonardo Vieira Neto, pela discussão enriquecedora frente ao projeto e sugestões valiosas.

À minha irmã, Bruna, por ser minha melhor amiga e pela certeza de que sempre terei seu apoio ao longo de qualquer jornada.

Ao meu marido Ricardo, meu grande companheiro durante todas as etapas importantes da minha vida acadêmica: faculdade de medicina, residência em clínica médica e residência nas nossas especialidades nessa grande instituição. Você me apoiou, incentivou e fez meus dias mais leves. Obrigada pelo amor e companheirismo.

À minha filha Júlia que nasceu durante essa jornada e me mostrou o amor mais profundo. Espero ser para você, minha filha, um exemplo de que você pode tudo nessa vida, desde que faça com amor, alegria, dedicação e respeito ao próximo.

À toda minha família, tios, tias, primas e primos que vibram comigo frente a cada etapa conquistada.

Aos meus amigos, por sempre estarem disponíveis, compreenderem o tempo reduzido, ouvirem minhas frustrações e saborearem comigo minhas vitórias. Amigos de Goiânia, São Paulo e de todas as partes do nosso país que meus anos nessa instituição me deram a oportunidade de conhecer.

Aos pacientes e seus familiares, o meu mais profundo agradecimento. Todo projeto tem suas dificuldades, um projeto clínico depende principalmente dos participantes e de sua disponibilidade. Nos meus anos de dedicação a esse projeto, tive contato com várias pessoas e sempre encontrei olhos e ouvidos abertos e atentos, vontade de ajudar e interesse. Obrigada por tanto.

“Progresso é a soma dos problemas solucionados. Evolução é a barreira vencida. Dificuldade é medida de resistência. Tribulação é o cadinho da fé.”

Chico Xavier

Agradecimentos Especiais

À CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior:

88882.461730/2019-01 - UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO) pela bolsa de doutorado.

À FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

pelo financiamento do projeto através do projeto Temático 2019/15873-6.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*.

Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentações; 2011.

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas	
Lista de tabelas	
Lista de quadros	
Lista de figuras	
Lista de gráficos	
Resumo	
Abstract	
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Hiperaldosteronismo Primário (HP).....	2
1.2 Testes Confirmatórios.....	9
1.2.1 Teste de supressão com fludrocortisona	10
1.2.2 Teste da infusão salina	11
1.2.3 Teste do captopril.....	12
1.2.4 Teste da furosemida endovenosa	13
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo Geral	17
2.2 Objetivos Específicos	17
3 MÉTODOS.....	18
3.1 Considerações Éticas	19
3.2 Pacientes	19
3.3 Desenho do Estudo	20
3.4 Critérios de Inclusão e Exclusão	22
3.5 Protocolo dos Testes Confirmatórios	23
3.6 Dosagens Hormonais	25
3.7 Análise Estatística.....	26
4 RESULTADOS.....	28
4.1 Características da Coorte Estudada	29
4.2 Teste da Furosemida Oral.....	32
4.2.1 Sensibilidade e especificidade do teste da furosemida oral	37
4.3 Teste da Furosemida Endovenosa e Outros Testes Confirmatórios	40
4.4 Pressão Arterial e Frequência Cardíaca Durante o Teste da Furosemida Oral	45
5 DISCUSSÃO.....	48
6 CONCLUSÕES	56
7 ANEXOS	58
8 REFERÊNCIAS.....	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH	- Hormônio adrenocorticotrópico
AOS	- Apneia obstrutiva do sono
APR	- Atividade plasmática de renina
AVC	- Acidente vascular cerebral
<i>CACNA1H</i>	- Gene que codifica a subunidade α 1H do canal de cálcio $Ca_v3.2$
CKD-EPI	- <i>Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration</i>
<i>CLCN2</i>	- Gene que codifica o canal de cloro ClC-2
CLIA	- Imunoensaio quimioluminescente
CAPPesq	- Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CVS	- Cateterismo de veias suprarrenais
DP	- Desvio padrão
EDTA	- Ácido etilenodiaminotetracético
EV	- Endovenosa
EP	- Erro padrão
HCFMUSP	- Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
GEE	- Modelo de equações de estimativas generalizadas
HA	- Hipertensão arterial
HF	- Hiperaldosteronismo familiar
InCor	- Instituto do Coração
HP	- Hiperaldosteronismo primário
IC	- Intervalo de confiança
<i>KCNJ5</i>	- Gene que codifica o canal de potássio GIRK 4
PA	- Pressão arterial

RAR	- Relação aldosterona/renina
TC	- Tomografia computadorizada
TCa	- Teste do captopril
TFE	- Teste da furosemida endovenosa
TFO	- Teste da furosemida oral
TIS	- Teste da infusão salina
TSF	- Teste de supressão com fludrocortisona

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Morbimortalidade cardiovascular nos pacientes com hiperaldosteronismo primário e hipertensão primária	3
Tabela 2 -	Frequência dos subtipos de hiperaldosteronismo primário.....	7
Tabela 3 -	Características clínicas e bioquímicas dos pacientes do grupo com HP e do grupo controle (HA primária) submetidos ao teste da furosemida oral	30
Tabela 4 -	Efeito de grupo e tempo nas medidas repetidas de aldosterona, potássio e renina nos grupos com HP e HA primária (controle) durante o teste da furosemida oral usando modelo de equações de estimativas generalizadas (GEE)	34

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Indicações para rastreamento do hiperaldosteronismo primário	4
Quadro 2 -	Protocolo de realização de testes confirmatórios para hiperaldosteronismo primário	10

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma para investigação diagnóstica do hiperaldosteronismo primário	5
Figura 2 - Distribuição dos grupos de pacientes de acordo com a atividade plasmática de renina (APR) após uso de furosemida 60 mg oral	14
Figura 3 - Fluxograma de recrutamento de pacientes hipertensos primários para o grupo controle.....	22
Figura 4 - Fluxograma de investigação diagnóstica e seguimento dos pacientes com hiperaldosteronismo primário (HP) incluídos no estudo	31

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Concentrações séricas de aldosterona basais, 2 e 3 horas após 80 mg de furosemida oral no grupo de pacientes com HP e HA primária (controle).....	32
Gráfico 2 -	Concentrações séricas de potássio basais, 2 e 3 horas após 80 mg de furosemida oral no grupo de pacientes com HP e HA primária (controle).....	32
Gráfico 3 -	Concentrações de renina basais, 2 e 3 horas após 80 mg de furosemida oral no grupo de pacientes com HP e HA primária (controle).....	33
Gráfico 4 -	Médias marginais estimadas (\pm EP) de renina durante diferentes tempos do teste da furosemida oral no grupo de casos com HP e nos controles com HA primária	35
Gráfico 5 -	Médias marginais estimadas (\pm EP) de aldosterona durante diferentes tempos do teste da furosemida oral no grupo de casos com HP e nos controles com HA primária	36
Gráfico 6 -	Médias marginais estimadas (\pm EP) de potássio durante diferentes tempos do teste da furosemida oral no grupo de casos com HP e nos controles com HA primária	37
Gráfico 7 -	Curva ROC mostrando os valores de corte para renina nos tempos 2 horas (A) e 3 horas (B) do teste da furosemida oral para diagnóstico de HP.....	38
Gráfico 8 -	Concentrações de renina basais, 2 e 3 horas após 80 mg de furosemida em 6 pacientes com HA com renina baixa (definidos como níveis supressos de renina e concentração de aldosterona <7 ng/dL)	39
Gráfico 9 -	Curva ROC mostrando os valores de corte para renina nos tempos 2 horas (A) e 3 horas (B) do teste da furosemida oral para diagnóstico de HP excluindo pacientes com HA com renina baixa do grupo controle	40
Gráfico 10 -	Concentrações de renina basais e 2 horas após 40 mg de furosemida endovenosa em 64 pacientes com HP	41
Gráfico 11 -	Concentrações de aldosterona basais e 2 horas após 40 mg de furosemida endovenosa em 64 pacientes com HP	42

Gráfico 12 -	Concentrações de potássio basais e 2 horas após 40 mg de furosemida endovenosa em 64 pacientes com HP	43
Gráfico 13 -	Correlação dos níveis de renina no tempo 2 horas do teste da furosemida oral e o teste da furosemida endovenosa em 64 pacientes com HP	44
Gráfico 14 -	Alteração na pressão arterial sistólica após 3 horas do teste da furosemida oral em comparação com a pressão sistólica basal nos pacientes dos grupos com HP e controle	45
Gráfico 15 -	Alteração na pressão arterial diastólica após 3 horas do teste da furosemida oral em comparação com a pressão sistólica basal nos pacientes dos grupos com HP e controle	46
Gráfico 16 -	Alteração na frequência cardíaca após 3 horas do teste da furosemida oral em comparação com a pressão sistólica basal nos pacientes dos grupos com HP e controle	47

RESUMO

C Freitas, T. *Avaliação dos testes da furosemida endovenosa e oral no diagnóstico do hiperaldosteronismo primário* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2022.

Introdução: O hiperaldosteronismo primário (HP) é a causa mais frequente de hipertensão (HA) endócrina. O rastreamento do HP deve ser feito a partir da determinação da relação Aldosterona/Renina com posterior realização de testes confirmatórios. Os testes confirmatórios mais utilizados são o teste da infusão salina (TIS), teste do captopril (TCa), teste da supressão com fludrocortisona ou teste da furosemida endovenosa (TFE). Os testes de sobrecarga de sódio são os mais empregados atualmente, mas são contraindicados em pacientes com HA não controlada, hipervolemia e hipocalcemia importante. Os testes confirmatórios são necessários na maioria dos pacientes com HP, mas constituem uma etapa complexa na investigação diagnóstica, principalmente nos pacientes com contraindicação a sobrecarga volêmica. O TFE não possui essas limitações, mas não foi validado com a determinação da concentração direta de renina. Além disso, o uso da furosemida via oral como teste confirmatório ainda não foi investigado para o diagnóstico do HP.

Objetivos: Avaliar a performance dos TFE e teste da furosemida oral (TFO) no diagnóstico do HP. **Métodos:** Esse estudo foi realizado de forma prospectiva e incluiu dois grupos de pacientes: Grupo casos, 64 indivíduos com diagnóstico de HP; Grupo controle, 22 indivíduos com HA primária com indicação para rastreamento do HP. O TFO consistiu na administração de 80 mg via oral (2 comprimidos de 40mg) com dosagens de aldosterona, renina e potássio nos tempos 0, 2 e 3 horas. Os pacientes de ambos os grupos realizaram o TFO. Os pacientes com HP também realizaram outros dois testes, o TFE e mais um teste já padronizado (TIS ou TCa para pacientes com contraindicação a sobrecarga volêmica). **Resultados:** O valor de corte de 7.6 $\mu\text{U/mL}$ de renina no tempo 2 horas após o TFO apresentou uma sensibilidade de 92%, especificidade de 82% e acurácia de 90% para o diagnóstico de HP. O valor de corte de 10 $\mu\text{U/mL}$ no tempo de 2 horas apresentou uma sensibilidade maior de 95,3%, mas uma especificidade menor de 73%. Em cinco de seis pacientes do grupo controle que apresentavam HA com renina suprimida, a renina permaneceu supressa após o teste. Excluindo esses seis controles com HA e renina baixa (já que podem representar um espectro do HP), o valor de corte de renina de 10 $\mu\text{U/mL}$ no tempo 2 horas apresentou uma sensibilidade de 95,3%, especificidade de 95% e acurácia de 95% para o diagnóstico de HP. A renina no

tempo 3 horas após o TFO não aumentou a performance diagnóstica do teste. Usando o valor de corte de 10 $\mu\text{U/mL}$, o TFO e o TFE foram concordantes em 62 de 64 pacientes (97%). Apenas 4 de 6 pacientes (6,4%) terminaram o TFO com níveis de potássio $<3.5 \text{ mEq/L}$. Hipotensão não foi evidenciada em nenhum dos pacientes com HP ao final do teste. A taxa de positividade do TFE foi superior ao TIS e TCa para o diagnóstico do HP **Conclusões:** O TFO foi seguro, bem tolerado e de fácil execução. O TFO apresentou uma elevada sensibilidade e especificidade par o diagnóstico de HP. Os valores de renina nos TFO e TFE se correlacionaram de forma significativa, com o valor de corte de 10 $\mu\text{U/mL}$ para renina em 2 horas sendo adequado em ambos os testes.

Descritores: Hiperaldosteronismo; Hipertensão; Furosemida.

ABSTRACT

C. Freitas, T. *Analysis of intravenous and oral furosemide tests in the diagnosis of primary hyperaldosteronism* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2022.

Introduction: Primary aldosteronism (PA) is the most frequent cause of endocrine hypertension (HA). PA screening is performed through determination of aldosterone to renin ratio with subsequent confirmation by dynamic tests. The most common tests are the saline infusion test (SIT), captopril challenging test (CCT), fludrocortisone suppression test and furosemide upright test (FUT). The sodium overloading tests are the most frequently used tests in clinical practice, but are not tolerated in patients with severe HA, hypervolemia and hypokalemia. Confirmatory tests are necessary in the majority of PA patients, but represent a very complex step in PA diagnosis, mostly in patients with contraindication to fluid overload. FUT does not have those limitations, but it has not been validated using direct renin concentration (DRC). Moreover, the oral furosemide as a new confirmatory test to simplify the confirmation of PA diagnosis was not investigated. **Objectives:** To evaluate the efficacy of intravenous and oral furosemide tests in PA diagnosis. **Methods:** We performed a prospective study with two groups: Group case, 64 patients with confirmed diagnosis of PA; Group control, 22 patients with primary HA and indication for PA screening. Renin, aldosterone and potassium levels were measured before, 2h and 3h after the oral 80 mg furosemide. The oral furosemide teste was performed in all patients from both groups. PA patients (group 1) underwent two additional confirmatory tests: FUT and SIT or CCT (when sodium overload was contra-indicated). **Results:** The cut-off of 7.6 $\mu\text{U}/\text{mL}$ for DRC at 2h after oral furosemide had a sensitivity of 92%, a specificity of 82% and an accuracy of 90% for PA diagnosis. The cut-off of 10 $\mu\text{U}/\text{mL}$ at 2h had a higher sensitivity of 95.3%, but a lower specificity of 73%. In five out of six controls with low-renin hypertension, which might represent a PA spectrum, renin remained suppressed. Excluding these six controls with low-renin hypertension, the DRC cut-off of 10 $\mu\text{U}/\text{mL}$ at 2h after oral furosemide had a sensitivity of 95.3%, a specificity of 93.7% and an accuracy of 95% for PA diagnosis. DRC after 3h of oral furosemide did not improve diagnostic performance. Using the cut-off of 10 $\mu\text{U}/\text{mL}$, the oral furosemide test and the FUT were concordant in 62 out of 64 (97%) PA patients. Only 4 out of 64 PA cases (6.4%) ended the oral furosemide test with potassium <3.5 mEq/L. Hypotension was not evidenced in any PA patient during the test. The true positive

rate of the FUT was higher than for SIT and CCT **Conclusions:** The oral furosemide test was safe, well-tolerated and represents an effective strategy for PA investigation. Moreover, the oral furosemide test had a high sensitivity and specificity for PA diagnosis. Renin levels after the oral furosemide teste and the FUT were significantly correlated. The renin cut-off level of 10 $\mu\text{U}/\text{mL}$ at 2 hours can be employed for both tests.

Descriptors: Hyperaldosteronism; Hypertension; Furosemide.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Hiperaldosteronismo Primário (HP)

A hipertensão arterial (HA) representa o principal fator de risco independente para morte prematura, afetando cerca de 10% a 40% da população mundial^{1,2}. A HA resistente é caracterizada pela ausência de controle pressórico apesar do uso de três ou mais drogas anti-hipertensivas em doses máximas toleradas (preferencialmente um diurético) ou pelo uso de quatro ou mais medicamentos na vigência de um controle pressórico adequado³.

O hiperaldosteronismo primário (HP) engloba um conjunto de alterações caracterizadas pelo aumento inapropriado de aldosterona para o status natrêmico. Sendo assim, a secreção de aldosterona é autônoma aos demais reguladores desse eixo hormonal: angiotensina, renina e concentração de potássio⁴. O HP traz como consequências elevação de pressão arterial (PA), dano cardiovascular, retenção de sódio e excreção de potássio que pode ser crônica e grave⁴.

O hiperaldosteronismo primário é a causa mais frequente de HA secundária de origem endócrina com uma prevalência estimada em 5%, chegando até 10% em centros de referência para HA resistente^{5,6}. Diversos estudos evidenciaram uma maior morbidade e mortalidade cardiovascular em pacientes com HP comparados a hipertensão primária, em consequência das ações extra-renais da aldosterona levando à lesão de órgãos alvos⁷⁻¹⁰ (Tabela 1). Em uma meta análise recente, observou-se um aumento do risco de acidente vascular cerebral (AVC), fibrilação atrial, doença

arterial coronariana e insuficiência cardíaca em pacientes com HP quando comparados a hipertensos primários⁷. Em relação aos parâmetros metabólicos, os pacientes com HP apresentavam maior chance de evoluir com diabetes mellitus tipo 2 e síndrome metabólica¹⁰. Tendo em vista que o HP é uma causa de hipertensão potencialmente curável e que quando não diagnosticado implica em elevada morbimortalidade, o diagnóstico precoce é de suma importância.

Tabela 1 - Morbimortalidade cardiovascular nos pacientes com hiperaldosteronismo primário e hipertensão primária

	Hiperaldosteronismo primário %	Hipertensão primária%	P
Eventos cardiovasculares			
Fibrilação atrial ⁹	3,9	1,1	0,001
Doença arterial coronariana ⁹	5,7	2,8	0,03
Insuficiência cardíaca ⁹	4,1	1,2	0,003
Infarto agudo do miocárdio ⁹	4,4	1,7	0,01
Acidente vascular cerebral ⁸	7,4	3,5	0,006
Alterações metabólicas			
Síndrome Metabólica ¹¹	41,1	29,6	0,05
Metabolismo anormal da glicose ¹² #	22,4	16,8	0,04

#Metanálise

Várias recomendações e algoritmos foram propostos para guiar a investigação diagnóstica do HP^{4,13,14}. Segundo o consenso para diagnóstico e tratamento do HP da Sociedade Americana de Endocrinologia (*The Endocrine Society*), o rastreamento do HP está indicado nas condições listadas no Quadro 1⁴. O rastreamento do HP deve ser feito partir da determinação da relação Aldosterona/Atividade Plasmática de Renina (APR) ou Aldosterona/Renina com posterior realização de testes confirmatórios nos pacientes com rastreamento positivo. O rastreio inicial do HP deve ser feito com dosagem de aldosterona e renina após o paciente ter deambulado por no mínimo 2 horas e estar sentado por 5 a 15 minutos. Deve-se corrigir a hipocalcemia antes

da realização do exame e recomenda-se não restringir o sal da dieta. O rastreio é considerado positivo se o valor da relação Aldosterona/APR for ≥ 30 ng/dL/ng/mL/h e uma aldosterona ≥ 10 ng/dL a 15 ng/dL⁴. Para evitar resultados falso negativos, deve-se suspender diuréticos e espironolactona por no mínimo de 4 a 6 semanas.

Quadro 1 - Indicações para rastreamento do hiperaldosteronismo primário

Indicações para rastreamento do hiperaldosteronismo primário

HA e hipocalemia espontânea ou induzida por diuréticos

HA e incidentaloma adrenal

PA >150/100 mmHg em três medidas em dias diferentes

HA resistente (pressão arterial não controlada apesar do uso de três ou mais anti-hipertensivos em doses otimizadas, incluindo-se preferencialmente um diurético; ou a necessidade do uso de quatro ou mais medicamentos para se atingir um bom controle pressórico)

HA e AOS

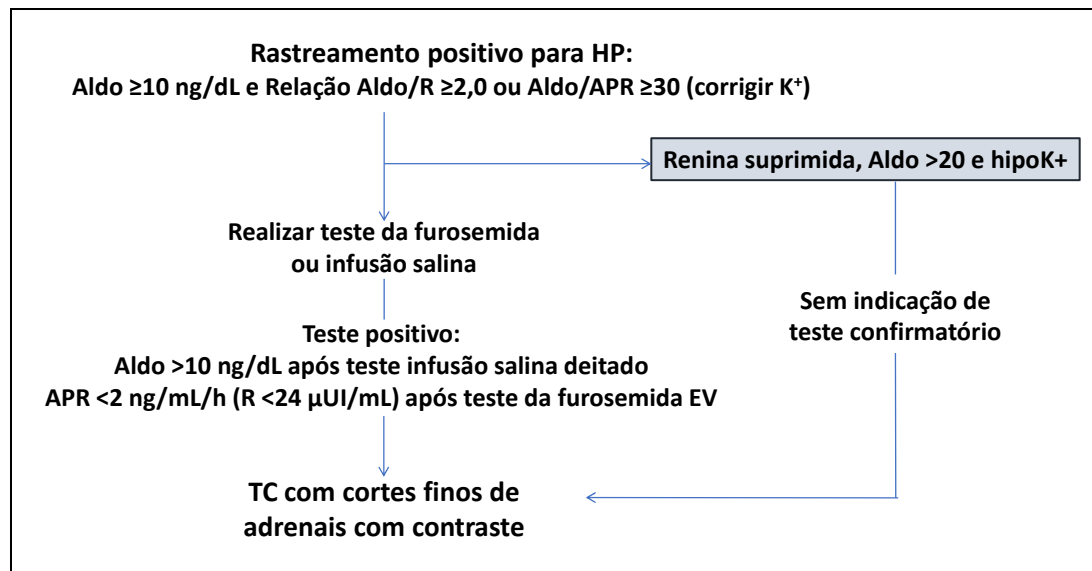
HA e história familiar de hipertensão precoce ou acidente vascular cerebral <40 anos

HA e parentes de primeiro grau com diagnóstico de HP

HA: hipertensão arterial; AOS: apneia obstrutiva do sono; PA: pressão arterial

Recentemente, foi demonstrado que quase 40% dos pacientes com HP apresentam pelos menos um rastreamento com aldosterona <15 ng/dL. Já um valor de aldosterona >10 ng/dL com renina suprimida (<4 μ UI/mL) em dois rastreamentos possui uma taxa de positividade de 95% para o diagnóstico de HP¹⁵. Em virtude disso, foi utilizado um valor de corte de aldosterona de 10 ng/dL associado a uma relação Aldosterona/Renina (RAR) ≥ 2 ng/dL/ μ UI/mL para definir um rastreamento positivo para HP. Atualmente, o método de dosagem mais empregado internacionalmente para a dosagem da aldosterona e renina é o ensaio de quimioluminescência automatizado da *DiaSorin* (Instrumento *LIAISON XL*). Com a determinação da renina por esse ensaio, pode-se usar o fator de conversão de 12 para conversão da renina em APR (Renina/12= APR)⁴. A RAR >2,0 tem uma sensibilidade de 92%, especificidade de 91,8% e um valor preditivo negativo de 98,8% para o diagnóstico de HP¹⁶. O fluxograma de investigação diagnóstica do HP no Hospital das Clínicas da Faculdade

de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) está representado na Figura 1. O hipercortisolismo deve ser investigado em todos os pacientes com HP, já que a cossecreção de cortisol pode ocorrer em até 30% dos pacientes com HP¹⁷.



Fonte: Adaptado de Vilela *et al.*¹⁸

Aldo: aldosterona; R: concentração direta de renina; APR: atividade plasmática de renina; TC: tomografia computadorizada

Figura 1 - Fluxograma para investigação diagnóstica do hiperaldosteronismo primário

Os testes confirmatórios têm como objetivo demonstrar a autonomia do sistema renina-angiotensina-aldosterona utilizando estratégias que visam suprimir a aldosterona ou desbloquear a renina¹⁹. Os testes confirmatórios não são mandatórios para todos os indivíduos em investigação para HP. O consenso para diagnóstico e tratamento do HP da *Endocrine Society* dispensa a realização de testes confirmatórios quando a aldosterona é >20 ng/dL na vigência de renina suprimida e hipocalemia⁴. Essa recomendação baseia-se no fato de que, em indivíduos nas condições acima, os testes confirmatórios são positivos em quase 100% dos casos²⁰. Nos demais casos, está indicada a realização de pelo menos um teste confirmatório para excluir falsos positivos no rastreamento do HP.

Todos os pacientes com HP devem ser submetidos a tomografia computadorizada (TC) de adrenais na determinação da etiologia para excluir o carcinoma adrenocortical. A ressonância magnética não tem vantagem sobre a TC na avaliação do subtipo de HP⁴. A distinção adequada entre produção unilateral e bilateral é crucial, porque o primeiro é tratado com adrenalectomia e a hiperplasia bilateral com antagonistas de receptores de mineralocorticoides. Para o diagnóstico destes dois subtipos, utiliza-se TC adrenal e/ou cateterismo de veias suprarrenais (CVS). A tomografia computadorizada adrenal tem várias limitações, sendo sua acurácia para o diagnóstico de aldosteronomas de aproximadamente 60%²¹. Ela pode revelar adrenais de aparência normal, mas o paciente pode ter um aldosteronoma pequeno, abaixo do limite de detecção da TC. Além disso, os incidentalomas adrenais unilaterais têm uma prevalência de 7% em indivíduos com >40 anos em estudos de imagem²². Nessa situação, um aldosteronoma pode ser diagnosticado incorretamente em um paciente com hiperplasia bilateral e incidentaloma adrenal²³. Em uma situação diferente, os nódulos adrenais bilaterais podem ser interpretados como hiperplasia bilateral com base nos achados da TC, mas o paciente pode ter um aldosteronoma e um incidentaloma adrenal contralateral. Recomenda-se que a TC de adrenais seja realizada com cortes finos e contraste para avaliação da anatomia das veias suprarrenais, caso haja indicação de CVS (Figura 1).

O consenso para diagnóstico e tratamento do HP da *Endocrine Society* recomenda não realizar CVS em pacientes jovens (<35 anos) com hipocalcemia espontânea, elevação importante de aldosterona e lesões adrenais unilaterais com características radiológicas consistentes com adenoma adrenal na TC⁴. Nesta situação, a probabilidade de um incidentaloma adrenal é muito baixa. No HCFMUSP, considera-se a idade ao diagnóstico da HA, já que ainda existe um

elevado atraso no diagnóstico do HP em pacientes com HA. Não é indicada CVS em pacientes diagnóstico da HA antes dos 40 anos e lesão unilateral >1,5 cm e adrenal contralateral sem espessamento. Desta forma, o CVS está indicado nas seguintes situações: a) TC de adrenais normal; b) TC com espessamento adrenal ou nódulos bilaterais; c) Se lesão adrenal unilateral em pacientes com diagnóstico da HA após 40 anos em virtude da maior prevalência de incidentaloma adrenal nesta faixa etária¹⁸. O protocolo detalhado para realização de CVS encontra-se no Anexo A.

As principais etiologias do HP são: hiperplasia adrenal cortical bilateral ou hiperaldosteronismo idiopático e aldosteronomas (Tabela 2)²⁴. O hiperaldosteronismo idiopático é causado por hiperplasia bilateral da zona glomerulosa cortical, sendo responsável por 50% a 60% dos casos de HP. Na TC é caracterizado por glândulas adrenais normais, espessamento bilateral ou alterações assimétricas (nódulo e espessamento). Os aldosteronomas são adenomas medindo usualmente entre 1cm e 3 cm e representam 40% a 50% dos casos de HP^{5,24}. O carcinoma adrenocortical é uma causa bastante rara de HP e deve ser suspeitado em pacientes com HP e massa adrenal >4 cm⁴. Hiperplasia adrenal cortical unilateral e as formas familiares de HP são causas raras, correspondendo a <1% dos casos⁴.

Tabela 2 - Frequência dos subtipos de hiperaldosteronismo primário

Subtipos	Frequência
Hiperaldosteronismo idiopático (hiperplasia adrenal cortical bilateral)	60%
Adenoma produtor de aldosterona (aldosteronoma)	40%
Hiperplasia adrenal cortical unilateral	< 1%
Carcinoma cortical adrenal	< 1%
Hiperaldosteronismo familiar	< 1%
HF Tipo I (Hiperaldosteronismo supressível por glicocorticoide)	
HF Tipo II (variante patogênica germinativa no <i>CLCN2</i>)	
HF Tipo III (variante patogênica germinativa no <i>KCNJ5</i>)	
HF Tipo IV (variante patogênica germinativa no <i>CACNA1H</i>)	

CLCN2: Gene que codifica o canal de cloro ClC-2; *CACNA1H*: Gene que codifica a subunidade α 1H do canal de cálcio Cav3.2; *KCNJ5*: Gene que codifica o canal de potássio GIRK 4.; HF: Hiperaldosteronismo familiar

A elucidação etiológica é importante pois o tratamento difere de acordo com as causas de HP. A produção unilateral (aldosteronoma ou hiperplasia adrenal cortical unilateral) é tratada através da remoção cirúrgica da glândula adrenal acometida. Já os casos de produção hormonal bilateral, o tratamento é com antagonista de mineralocorticoide (espironolactona ou eplerenona). Tanto o tratamento cirúrgico quanto o medicamentoso estão associados à redução da morbidade cardiovascular causada pelo excesso de aldosterona^{25,26}.

A avaliação após as medidas de tratamento visa confirmar a cura bioquímica. Na adrenalectomia unilateral, a cura do HP é definida pelo desbloqueio da renina, correção da hipocalemia e aldosterona usualmente <10 ng/dL, com normalização da relação Aldosterona/Renina²⁶. Para os pacientes com aldosterona ≥ 10 ng/dL e relação Aldosterona/Renina >2 , está indicada a realização de um teste confirmatório para exclusão de persistência de HP²⁶. A cura bioquímica do HP é alcançada na maioria dos pacientes, porém a taxa de remissão de HA, determinada por PA $<140 \times 90$ mmHg sem uso de medicações anti-hipertensivas, é bastante variável (35% a 80%) após adrenalectomia⁵. Na presente coorte de HP, a frequência de remissão da HA em pacientes com HP unilateral após adrenalectomia foi 37%²⁷. História familiar de HA primária e um longo período de HA antes do diagnóstico de HP estão associados com ausência de remissão da HA no pós-operatório^{28,29}. Variantes patogênicas somáticas no *KCNJ5* foram associadas a uma maior chance de remissão completa da HA após adrenalectomia²⁷.

Os casos de HP bilateral são tratados através do uso de antagonistas de mineralocorticoides, como a espironolactona ou eplerenona. No Brasil, dispõe-se apenas da espironolactona. O uso da espironolactona (50 mg/d a 400 mg/d) tem

como objetivo controlar a PA, normalizar os níveis séricos de potássio e desbloquear a renina³⁰. O uso de espironolactona pode causar ginecomastia e redução da libido em homens em virtude da sua ação antagonista no receptor androgênico¹⁸. A eplerenona é um antagonista seletivo de mineralocorticoide, tendo, portanto, menos efeitos colaterais pela ausência de ação antiandrogênica. O alvo principal do tratamento medicamentoso deve ser o desbloqueio da renina, já que uma APR >1 ng/mL/h foi associada a redução da incidência cumulativa de eventos cardiovasculares^{10,31}.

1.2 Testes Confirmatórios

O consenso da *Endocrine Society* para diagnóstico e tratamento do HP não estabelece um teste confirmatório padrão ouro⁴. Os centros especializados escolhem o teste confirmatório de acordo com a sua própria experiência. Os testes confirmatórios mais amplamente utilizados são o teste da infusão salina (TIS), o teste do captopril (TCa) e o teste da supressão com fludrocortisona (TSF)^{4,19}. O teste da furosemida endovenosa (TFE) é largamente utilizado no Japão e indicado como teste confirmatório de escolha pela Sociedade Japonesa de Endocrinologia³². A Sociedade Francesa de Endocrinologia recomenda o TIS para confirmação diagnóstica¹⁴. Apesar do número de testes confirmatórios disponíveis, poucos estudos retrospectivos compararam o desempenho dos testes. Além disso, o ponto de corte dos valores de aldosterona para definir um teste como positivo é variável nos diferentes estudos¹⁹. O Quadro 2 mostra os testes confirmatórios disponíveis, o protocolo de realização e critérios de positividade.

Quadro 2 - Protocolo de realização de testes confirmatórios para hiperaldosteronismo primário

	Metodologia	Sensibilidade e Especificidade	Efeitos Colaterais	Resultado positivo
Teste da Infusão Salina	2L SF 0,9% por 4 horas, dosagem de R e A no início e A após 4h	Sensib. 90% Especif. 84%	Crise hipertensiva, hipervolemia e hipocalemia	Deitado: <i>cut-off</i> de A varia de 6,8- 10 ng/dL. Sentado: 6,0-10 ng/dL
Teste do Captopril	Captopril 50 mg, dosagem de A, R e cortisol no início e após 2 horas.	Sensib. 70% Especif. 74%	Hipotensão	Supressão da A sérica >30% ou um valor de A >8,5-13,9 ng/dL
Teste da Fludrocortisona	0,1 mg fludro 6/6h por 4d, controle de K a cada 6h. Dosar A e R no 5d.	Considerado padrão ouro	Crise hipertensiva, hipocalemia intensa e arritmia cardíaca	A >6 ng/dL
Teste da Furosemida EV	40 mg Furosemida EV e coletar A, APR e K antes e após 2 horas de deambulação intermitente.	Sensib. 85%	Hipotensão, tontura, hipocalemia	APR <2 ng/mL/h

A: aldosterona; EV: endovenosa; Renina: concentração direta de renina; APR: atividade plasmática de renina; K: potássio

1.2.1 Teste de supressão com fludrocortisona

O TSF é considerado o mais potente para avaliar a supressão da aldosterona, porém é um teste pouco prático por ser feito em ambiente intra-hospitalar, requerendo internação de 4 dias³³. O TSF consiste na administração de 0,1 mg de fludrocortisona via oral a cada 6 horas por 4 dias, com controle de potássio a cada 6 horas e determinação da renina e aldosterona sérica ao final do quarto dia. É considerado positivo se aldosterona permanecer >6 ng/dL^{4,19}. Os estudos que comparam o TSF com outros testes partem do pressuposto que o TSF é o padrão ouro, sem utilizar muitas vezes nenhum critério clínico maior (como a cura bioquímica do HP após cirurgia no caso dos aldosteronomas)³⁴⁻³⁶. Os efeitos

colaterais possíveis são crise hipertensiva, hipocalemia intensa e arritmia cardíaca. Os testes de sobrecarga de sódio (TSF, TIS e sobrecarga oral de sódio) possuem as mesmas contraindicações: HA não controlada, hipervolemia (cardiopatia ou doença renal crônica grave) e hipocalemia importante. A realização do TSF é considerada muito difícil na prática clínica, já que a maior parte dos pacientes em investigação para HP têm HA resistente e não há como internar todos os pacientes com indicação de teste confirmatório.

1.2.2 Teste da infusão salina

O teste da infusão salina é o teste mais utilizado e consiste em administrar uma sobrecarga salina por via endovenosa na tentativa de suprimir a aldosterona sérica. O paciente irá receber dois litros de soro fisiológico 0,9% por 4 horas, com determinações de renina e aldosterona no início e após 4 horas¹⁹. O valor de corte da aldosterona sérica para confirmar o diagnóstico do HP varia de 6,8 ng/dL a 10 ng/dL^{19,37}. O valor de corte de aldosterona de 6,8 ng/dL foi apontado como o de maior sensibilidade para o diagnóstico de HP quando o TIS é realizado em decúbito³⁸. Em 2014, Ahmed *et al.*³⁵ demonstraram que a realização do TIS na posição sentada aumenta consideravelmente a sensibilidade do teste, utilizando um valor de corte de aldosterona de 6 ng/dL. As contraindicações para o TIS são as mesmas para os TSF.

1.2.3 Teste do captopril

O teste do captopril é seguro, com poucas restrições na sua indicação, com recomendação apenas de monitorização de PA durante a realização^{4,19}. A administração de 25 mg a 50 mg de captopril tem como objetivo bloquear agudamente o eixo renina-angiotensina-aldosterona. As medidas de aldosterona, renina e cortisol são realizadas no início e após 2 horas. Os critérios de interpretação desse teste são bastante variáveis, o que dificulta sua reprodutibilidade. Para confirmação do diagnóstico de HP é necessária uma supressão da aldosterona sérica < 30% ou um valor de aldosterona >8,5 ng/dL a 13,9 ng/dL ou uma relação Aldosterona/APR >25-35 ng/dL/ng/mL/h^{19,38-40}. Caso haja uma queda do cortisol ao final do teste, a queda percentual do cortisol deve ser subtraída da queda da aldosterona para eliminar o efeito do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) na secreção de aldosterona dos aldosteronomas. O teste do captopril foi associado com uma alta taxa de falsos positivos ou negativos (36%) em pacientes com HP normocalêmico³⁹.

Mulatero *et al.*³⁴ compararam o TSF (considerado o padrão ouro) com TIS. O TIS apresentou sensibilidade de 90% e especificidade de 84%. A sensibilidade e especificidade do TIS variam de 75% a 92% em diferentes estudos, principalmente pelo uso de diferentes valores de corte de aldosterona e pela referência utilizada como padrão ouro¹⁹. O teste do captopril, apesar de ser um teste seguro e relativamente de fácil execução, ainda tem sua acurácia questionada³⁴. Rossi *et al.*²⁴ avaliaram o desempenho do TCa em mais de 300 pacientes hipertensos e encontraram sensibilidade de apenas 70% e especificidade de 74%. Em uma coorte Chinesa de 101 pacientes com HA primária e 135 com HP, o TIS e o TCa apresentaram sensibilidade e especificidade similares, que variaram de 80% a 90%⁴¹.

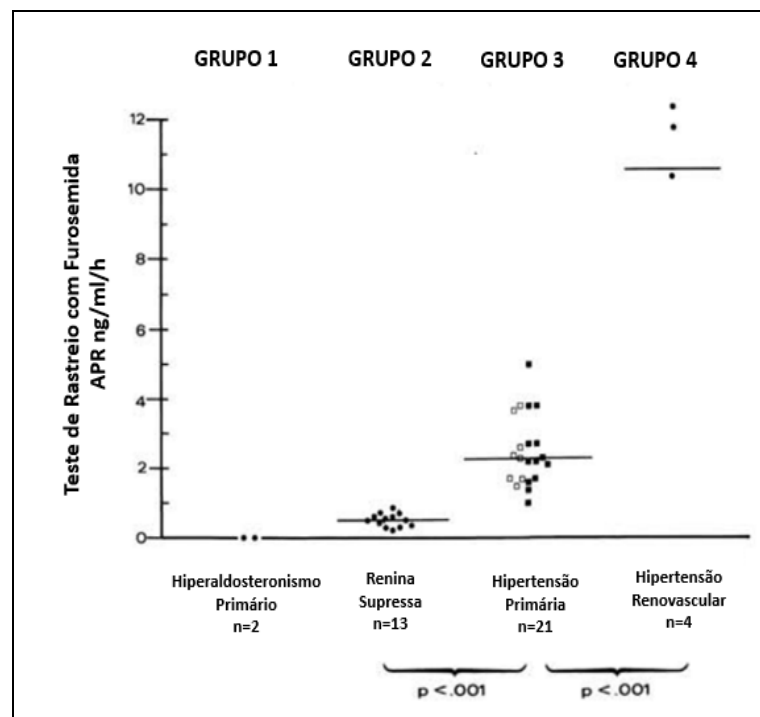
1.2.4 Teste da furosemida endovenosa

O TFE foi estudado somente na população Japonesa e consiste na avaliação do desbloqueio da renina após 2 horas de estímulo com furosemida endovenosa^{19,32}. Este teste não tem contraindicação em pacientes com hipervolemia (cardiopatias ou doença renal crônica) ou HA grave não controlada, necessitando de maior atenção em pacientes hipocalêmicos. O TFE foi validado somente com a determinação da APR (positivo se APR <2,0 ng/mL/h ao final do teste). Atualmente, a maioria dos laboratórios determinam a concentração direta da renina, sendo necessária a aplicação de um fator de conversão para a obtenção da APR. Desta forma, o TFE nunca foi validado com a determinação de concentração direta de renina. Em 2012, Nanba *et al.*²⁰ compararam a acurácia diagnóstica dos seguintes do TIS e TCa com o TFE. O teste da furosemida endovenosa teve uma maior acurácia (85%) quando comparada ao TIS (65%) e foi semelhante ao TCa (86%).

Na prática clínica, a realização de qualquer teste confirmatório é de difícil execução, já que os testes confirmatórios para o diagnóstico do HP não entram na lista de procedimentos da Agência Nacional de Saúde. Muitas vezes, é necessário internar o paciente somente para a realização do teste confirmatório, já que sala de testes funcionais é disponível em poucos laboratórios, principalmente fora de São Paulo. Desta forma, é fundamental a elaboração de estratégias para facilitar a execução dos testes confirmatórios para o diagnóstico do HP, uma doença muito prevalente e que vem apresentando taxas de diagnóstico crescentes no Brasil. Uma alternativa seria a realização de um teste confirmatório que dispensasse medicação endovenosa e fosse realizado ambulatorialmente, a semelhança do teste oral com dexametasona com posterior dosagem de cortisol para o diagnóstico de hipercortisolismo.

Apesar da boa acurácia diagnóstica do TFE, a possibilidade de uso da furosemida via oral como teste confirmatório ainda não foi levantada. Em 1975, um único estudo avaliou a resposta da APR ao uso da furosemida administrada por via oral, tentando classificar o tipo de hipertensão baseado na APR após a furosemida oral⁴². Duzentos pacientes receberam furosemida 60 mg oral com APR determinada após 5 horas. Os pacientes foram classificados em quatro grupos (Figura 2):

- a) Hiporeninemia (indicativo de HP): APR não mensurável (100% dos pacientes deste grupo tiveram HP confirmado).
- b) Renina suprimida (hipertensão com supressão de APR): APR 0,2-0,75 ng/ml/h (23% confirmaram diagnóstico de HP).
- c) Renina normal (hipertensão primária): APR 1-5 ng/mL/h.
- d) Renina elevada (hipertensão renovascular): APR 4-7,7 ng/mL/h.



Fonte: Wallach *et al.*⁴²

Figura 2 - Distribuição dos grupos de pacientes de acordo com a atividade plasmática de renina (APR) após uso de furosemida 60 mg oral

Os resultados da Figura 2 sugerem que o uso da furosemida oral pode ter uma boa acurácia diagnóstica para o HP por meio da identificação de uma renina indetectável ou abaixo do valor de corte ao final do teste⁴². No grupo de renina suprimida (APR baixa, mas mensurável), a diferenciação entre HP e HA poderia ser feita adotando-se um valor de corte de aldosterona. O uso da medicação oral como ferramenta diagnóstica teria como benefício principal a praticidade, já que o paciente poderia tomar a medicação em casa e ir ao laboratório após 2 ou 3 horas para coletar o exame. Atualmente, os testes confirmatórios são realizados em sala de testes por cerca de 2 a 4 horas com coleta seriada de amostras.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a eficácia do teste da furosemida oral (TFO) no diagnóstico do hiperaldosteronismo primário.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a sensibilidade, especificidade e segurança do teste da furosemida oral no diagnóstico do HP.
- Comparar a eficácia do teste da furosemida oral com outros testes confirmatórios já estabelecidos (TIS e TCa) para o diagnóstico do HP.
- Determinar a taxa de positividade do TFE para o diagnóstico do HP e estabelecer um valor de corte de concentração direta de renina para esse teste.

3 MÉTODOS

3.1 Considerações Éticas

O projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) (15739619.2.0000.0068), da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Anexo B). O termo de consentimento livre e esclarecido por escrito foi assinado por todos os pacientes (Anexo C). Este projeto foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP processo 2019/15873-6).

3.2 Pacientes

Os pacientes com HP foram recrutados para o estudo a partir de 2019 no serviço de Endocrinologia do HCFMUSP, na Unidade de Hipertensão do Instituto do Coração (InCor) e na Unidade de Hipertensão da Nefrologia do HCFMUSP. A investigação e diagnóstico do HP foi realizada como previamente descrito^{4,18,43}.

Após o diagnóstico de HP os pacientes foram classificados em produção de aldosterona unilateral (baseado na lateralização do CVS ou na cura bioquímica após adrenalectomia unilateral) ou bilateral (baseado no resultado do CVS ou ausência de cura bioquímica após adrenalectomia unilateral com imuno-histoquímica positiva para aldosterona sintase na adrenal ressecada).

A cura bioquímica do HP foi definida pela correção da hipocalemia, desbloqueio da renina, aldosterona usualmente <10 ng/dL com normalização da relação Aldosterona/Renina⁴⁴. Em caso de persistência da RAR >2 no pós-operatório, realizou-se um teste confirmatório para confirmação da cura bioquímica do HP¹⁰.

O sucesso clínico completo foi definido como remissão da HA, ou seja, uma PA $<140 \times 90$ mmHg na ausência de qualquer medicação anti-hipertensiva após 6 meses de seguimento. O ponto de corte da PA $\geq 140 \times 90$ mmHg é empregado para definir HA estágio I nas diretrizes brasileiras e europeias para o manejo da HA^{43,45}.

3.3 Desenho do Estudo

Esse estudo foi realizado de forma prospectiva e incluiu dois grupos de pacientes: Grupo 1, indivíduos com diagnóstico de HP; Grupo 2, indivíduos com HA primária com indicação para rastreamento do HP. Os pacientes com antecedente de hipocalemia foram incluídos somente se os níveis séricos de potássio estivessem normais em vigência de reposição com cloreto de potássio oral.

- Grupo 1: 64 pacientes com rastreamento positivo para HP realizaram o TFO. Todos os pacientes incluídos nesse grupo realizaram também o TFE e mais um teste já padronizado (TIS ou TCa para pacientes com contraindicação a sobrecarga volêmica).
- Grupo 2: 22 pacientes com HA primária e com indicação de rastreamento para HP realizaram o teste da furosemida oral.

O grupo controle incluiu pacientes com diagnóstico de HA primária com indicação de rastreamento para rastreio de HP provenientes do HCFMUSP. Como os pacientes estavam em uso de medicações anti-hipertensivas que interferem na

dosagem de aldosterona e renina, a conduta foi realizar a troca das medicações por clonidina, verapamil e hidralazina, sempre que possível, 4 semanas antes da realização do teste da furosemida oral.

Para a seleção dos pacientes do grupo controle, foram analisados os prontuários de 290 pacientes hipertensos dos ambulatórios de Obesidade e Dislipidemia da Divisão de Endocrinologia e do ambulatório de HA do InCor (Figura 3). Em virtude da dificuldade de trocar as medicações em pacientes com comorbidades cardiovasculares ou por insucesso no contato telefônico, foi possível convocar 62 pacientes. Dos 62 pacientes com TFO agendado, somente 22 pacientes compareceram para a realização do teste. Atribuímos essa baixa taxa de comparecimento à pandemia pelo vírus Coronavírus e a dificuldade em trocar as medicações anti-hipertensivas e aguardar 4 semanas para realização do teste. Muitos pacientes relataram não sentir segurança em alterar o esquema anti-hipertensivo habitual e outros citaram esquecimento devido ao longo tempo para agendamento. Alguns pacientes compareceram ao teste agendado, mas não realizaram a troca de todos os anti-hipertensivos interferentes devido à dificuldade no controle pressórico. Nessa situação, o TFO foi realizado com as medicações anti-hipertensivas em uso.

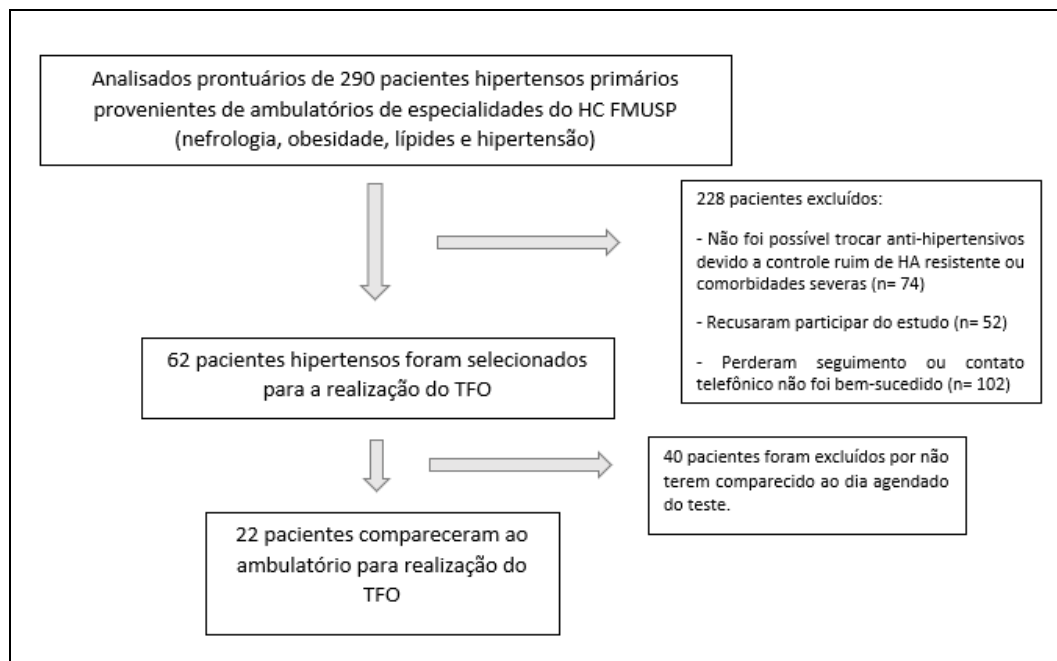


Figura 3 - Fluxograma de recrutamento de pacientes hipertensos primários para o grupo controle. TFO, teste da furosemida oral

3.4 Critérios de Inclusão e Exclusão

Os pacientes de qualquer idade com rastreamento positivo para HP (aldosterona >10 ng/dL e RAR ≥ 2) foram avaliados para inclusão no estudo.

A espironolactona foi suspensa pelo menos 4 semanas antes do rastreio para HP. Pacientes usando espironolactona antes do primeiro rastreio para HP só foram incluídos se a renina estivesse suprimida (<4 $\mu\text{U/mL}$), aldosterona >15 ng/dL e a descontinuação de espironolactona não fosse possível (exemplo: hipertensão refratária ou hipocalcemia muito severa com histórico de arritmia ou parada cardiorrespiratória).

Para pacientes com níveis de aldosterona ≤ 15 ng/dL ou renina não suprimida (>10 $\mu\text{U/mL}$), espironolactona e diuréticos foram interrompidos e as outras medicações anti-hipertensivas foram modificadas para hidralazina, bloqueadores dos canais de cálcio e doxazosina quando possível. Beta-bloqueadores foram modificados para verapamil, exceto na presença de doença coronariana.

Os critérios de exclusão do estudo foram: 1) Clearance de creatinina <60 mL/min (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration* [CKD-EPI]); 2) Potássio < 3,5 mEq/L em vigência de reposição oral com cloreto de potássio.

3.5 Protocolo dos Testes Confirmatórios

Antes do início dos testes, foram dosadas aldosterona e renina para confirmar o rastreamento positivo de HP. Os níveis séricos de potássio foram dosados antes e durante os testes. Adicionalmente, PA e frequência cardíaca foram aferidos no início e ao final dos testes.

- **Teste da infusão salina:** dosagens de aldosterona, renina e potássio antes e após a infusão de 2 litros de soro fisiológico 0,9% em 4 horas: aldosterona >10 ng/dL confirma o diagnóstico¹⁷.
- **Teste do captopril:** administrado 50 mg de captopril oral e realizada dosagens de renina, aldosterona e cortisol nos tempos 0, 60 e 120 min. O teste é considerado positivo se não houver queda >30% da aldosterona sérica ou aldosterona sérica for >12 ng/dL¹⁹. Como aldosteronomas podem responder ao ACTH, a variação percentual dos níveis de cortisol deve ser deduzida da variação percentual da aldosterona durante o teste.
- **Teste da furosemida endovenosa:** administrado furosemida 40 mg endovenosa e coletado aldosterona, renina e potássio antes e após 2 horas de deambulação intermitente³². O teste é considerado positivo se APR <2ng/mL/h ao final do teste.
- **Teste da furosemida oral:** administrado 80 mg via oral (2 comprimidos de 40 mg) e realizada dosagens de aldosterona, renina e potássio nos tempos 0, 120 e 180 minutos (com deambulação intermitente).

O efeito diurético da furosemida ocorre dentro de 15 minutos da administração de uma dose endovenosa e dentro de 1 hora da administração de uma dose oral⁴⁶. O aumento dose-dependente da diurese e natriurese foi demonstrado em indivíduos saudáveis recebendo doses de furosemida de 10 mg até 100 mg. A duração da ação foi de aproximadamente 3 horas após uma dose endovenosa de 20 mg e de 3 a 6 horas após uma dose oral de 40 mg⁴⁶. A furosemida foi rapidamente absorvida pelo trato gastrointestinal. O tempo máximo de absorção foi de 1 a 1,5 hora para os comprimidos de 40 mg. A biodisponibilidade da furosemida em voluntários saudáveis foi de aproximadamente 50% a 70% para os comprimidos, com absorção oral de cerca de 60%. O tempo para a ação máxima do medicamento na formulação oral foi 45 minutos mais longo do que na formulação endovenosa⁴⁷. Sendo assim, optou-se por dosagens seriadas nos tempos 0, 120 e 180 minutos. Baseado nessas informações, uma dose oral de furosemida 80 mg (60% de absorção= 48 mg) seria equivalente a 40 mg de furosemida administrada endovenosa.

A furosemida é uma medicação segura e a maioria dos efeitos colaterais relatados se relacionam ao uso contínuo da medicação⁴⁷. Efeitos colaterais leves são mais comuns e tendem a ser autolimitados: dispepsia, sede, tontura, fraqueza e câimbras. Efeitos mais graves são menos comuns: distúrbios eletrolíticos como hipocalcemia (sugere-se a correção desses antes da medicação), ototoxicidade; alteração renal (quando em uso contínuo e mais comum em idosos), alteração hepática, diabetes e hipoproteinemia⁴⁷.

Os efeitos colaterais podem ser potencializados por interações medicamentosas e, portanto, o uso de furosemida concomitante às seguintes medicações é desencorajado: lítio, digoxina, citalopram, metadona e risperidona⁴⁷. Com o objetivo de minimizar a ocorrência de efeitos colaterais, foi pesquisada

qualquer comorbidade ou uso de medicação pelo paciente, que aumentasse a chance de eventos adversos na ocorrência do teste.

A hipocalcemia é uma preocupação no uso da furosemida, já que muitos pacientes já possuem potássio sérico reduzido pelo excesso de aldosterona. Assim, antes dos testes confirmatórios com furosemida, foi necessário dosar e corrigir, se necessário, os níveis séricos de potássio. Hipocalcemia exclusiva pelo uso de furosemida é vista em pacientes com uso diário em doses superiores a 80 mg/dia⁴⁷. Como o teste proposto da furosemida oral consiste em dose única de 80 mg é pouco provável a ocorrência de hipocalcemia em indivíduos sem HP com potássio normal.

3.6 Dosagens Hormonais

As avaliações hormonais foram realizadas no Laboratório de Hormônios e Genética Molecular - LIM 42, Divisão de Endocrinologia e Metabologia do HCFMUSP.

O ensaio utilizado para a dosagem de aldosterona foi o LIAISON^R (*DiaSorin S.p.A. Saluggia, Italy*) que utiliza o imunoensaio quimioluminescente (CLIA) e detecta aldosterona em amostras de soro humano. Um anticorpo monoclonal de ovelha foi utilizado para esse ensaio competitivo no equipamento LIAISON^R *Analyzer*.

A dosagem de concentração direta de renina foi realizada em amostras de plasma humano obtido com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) pelo ensaio LIAISON^R *Direct Renin* (*DiaSorin S.p.A. Saluggia, Italy*), utilizando a técnica de quimioluminescência. Trata-se de um imunoensaio sanduíche, que utiliza anticorpo monoclonal de ratos específicos somente para a renina (excluindo a pró-renina da dosagem final). O teste foi executado utilizando a linha de analisadores LIAISON^R *Analyzer*.

A sensibilidade funcional (menor concentração na qual um analito pode ser detectado adequadamente) para aldosterona foi de 3 ng/dL e para renina foi de 4 uUI/mL. O nível normal de renina na posição sentada variou de 4,6 a 46 μ U/mL. O coeficiente de variação entre ensaios para aldosterona variou de 12% nas menores concentrações a 6% nas maiores concentrações. O coeficiente de variação entre ensaios para renina foi de 5,5%.

3.7 Análise Estatística

O cálculo da amostragem foi realizado estimando um poder do estudo de 80%, área sobre a curva ROC de 0,7 e considerando um erro tipo alfa de 0,05 no programa *MedCalc (MedCalc Software Ltd, Version 20,009, Ostend, Bélgica)*. Foi utilizada a proporção de dois casos para um controle (2:1). Por meio desses dados foi estimado 45 casos e 23 controles para a realização dos testes da furosemida via oral.

A análise estatística foi realizada utilizando o programa SPSS (*IBM SPSS Statistics, Version 24,0 Armonk, EUA*). A análise descritiva dos dados foi realizada inicialmente. A distribuição de frequências absoluta (n) e relativa (%) foram fornecidas para as variáveis qualitativas e as medidas de posição e de dispersão fornecidas para as variáveis quantitativas. Com o objetivo de avaliar uma possível associação das variáveis qualitativas em relação aos desfechos de interesse, o teste exato de Fisher ou o teste de qui-quadrado foi aplicado. A comparação dos dados das variáveis quantitativas em relação a variável de grupo foi realizada por meio do teste não paramétrico U de Mann-Whitney ou pelo teste paramétrico T de Student. Já as comparações em relação à variável com três grupos foram realizadas por meio do teste de Kruskal-Wallis seguido da comparação múltipla com correção de

Bonferroni, quando necessário. O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para avaliar a normalidade dos dados em cada um dos grupos. No caso de violação da suposição de normalidade, o teste não paramétrico foi aplicado.

Dados contínuos (renina, aldosterona e potássio) antes e após os testes foram analisados através do modelo de Equações de Estimativas Generalizadas (GEE). O software livre R versão 4.0 foi utilizado para análise do modelo GEE. Esse método de análise de dados longitudinais possibilita analisar desfechos contínuos, mesmo quando a variável não apresenta distribuição normal. Além disso, mesmo quando há perda de informações de algum indivíduo da amostra, é possível a inclusão de todos os indivíduos (situação que pode evitar algum tipo de viés de seleção). O modelo GEE é superior em relação à ANOVA-MR nesse caso, pois necessita de um tamanho amostral menor para conseguir evidenciar o mesmo tamanho de efeito com um poder de 80%. Devido a forma da distribuição dos dados, a distribuição Gama foi considerada assumindo uma função de ligação log.

O nível de significância adotado foi de 5% em todas as análises considerando um teste do tipo bilateral. Assim, resultados cujos valores de p são menores que 0,05 são considerados estatisticamente significativos.

4 RESULTADOS

4.1 Características da Coorte Estudada

De 95 pacientes consecutivos com diagnóstico confirmado de HP, 64 pacientes foram incluídos no estudo. As causas de exclusão foram: CICr <60 mL/min (n= 19), hipocalcemia refratária a reposição oral de cloreto de potássio (n= 8) e recusa em participar do estudo (n= 4). As características clínicas e hormonais da população do estudo estão listadas na Tabela 3. Os pacientes com HP tinham mediana de idade ao diagnóstico de HA de 38 anos (variação 14 a 64 anos), significativamente mais jovens do que os pacientes controles com HA primária (57 anos, 21-75 anos) ($p < 0,0001$). No entanto, a idade ao diagnóstico do HP foi similar à idade ao diagnóstico da HA no grupo controle. Ambos os grupos tinham critérios para rastreamento do HP. Dentre os 22 pacientes com HA primária, seis pacientes possuíam hipertensão com baixos níveis de renina ($<4 \mu\text{U/mL}$) e baixos níveis de aldosterona ($<7 \text{ ng/dL}$; 194 pmol/L). O rastreio de HP foi repetido nesses pacientes e a concentração de aldosterona permaneceu $<7 \text{ ng/dL}$, excluindo HP de acordo com os critérios diagnósticos vigentes.

Tabela 3 - Características clínicas e bioquímicas dos pacientes do grupo com HP e do grupo controle (HA primária) submetidos ao teste da furosemida oral

	HP n= 64	HA Primária n= 22	P
Sexo feminino n (%)	41 (64)	17 (77,3)	0,254
Idade ao diagnóstico de HA (anos)	38 (14 - 64)	57 (21 - 75)	<0,0001
Idade ao diagnóstico de HP (anos)	51 (23 - 76)		
≥3 Drogas para o tratamento de HA n (%)	44 (68,8)	6 (27,3)	0,001
Aldosterona (ng/dL)*	19,9 (7,3 - 217)	7,1 (3,5 - 27,7)	<0,0001
Renina (μU/mL)	4,0 (4,0 - 8,8)	8,9 (4,0 - 147)	<0,0001
Relação A/R*	4,6 (1,8 - 36)	1,0 (0,1 - 2,2)	<0,0001
Critério para rastreamento de HP			
PA >150x100mmHg em >3 ocasiões	64 (100)	12 (54,5)	<0,0001
HA resistente	43 (67,2)	5 (22,7)	0,001
Hipocalemia e HA	35 (54,7)	1 (4,5)	<0,0001
Incidentaloma adrenal e HA	4 (18,2)	3 (13,6)	0,274
História familiar de HA precoce ou AVC < 40 anos	21 (32,8)	2 (9,1)	0,017
AOS e HA	6 (9,4)	5 (22,7)	<0,0001

*Mediana (variação); HA: hipertensão primária; HP: hiperaldosteronismo primário; Definir AOS: A/R

Dentre os pacientes portadores de HP, quase 70% tinham HA resistente e estavam em uso de mais três tipos de anti-hipertensivos. Hipocalemia foi descrita em 35 de 64 (54,7%) pacientes com HP. O rastreamento para HP foi repetido em todos os casos em que a medida inicial de aldosterona foi <10 ng/dL. Todos os 64 pacientes do grupo casos realizaram o TFO, o TFE e um terceiro teste confirmatório (TIS em 50 casos e TCa em 14 casos). Os 14 pacientes que realizaram o TCa possuíam contraindicação para sobrecarga volêmica. No grupo controle, as indicações mais frequentes para o rastreamento do HP foram PA >150x100 mmHg em três ocasiões diferentes (54,5%), HA resistente (22,7%) e AOS (22,7%).

A taxa de sucesso do CVS foi de 88,6% (39 de 44 casos). Em relação a lateralização do excesso de aldosterona, 26 casos (40,6%) tinham doença bilateral e 22 casos (34,4%) doença unilateral. A lateralização do HP foi considerada indeterminada em 16 casos (25%): cateterização inadequada no CVS e não

submetido a tratamento cirúrgico (n= 3), recusa ou falta de condições clínicas para cirurgia (n= 5) e perda de seguimento (n= 8) (Figura 4). Dentre os pacientes que realizaram adrenalectomia unilateral, 22 de 24 casos (91,6%) apresentaram sucesso bioquímico completo e 10 de 24 casos (41,6%) apresentaram sucesso clínico completo.

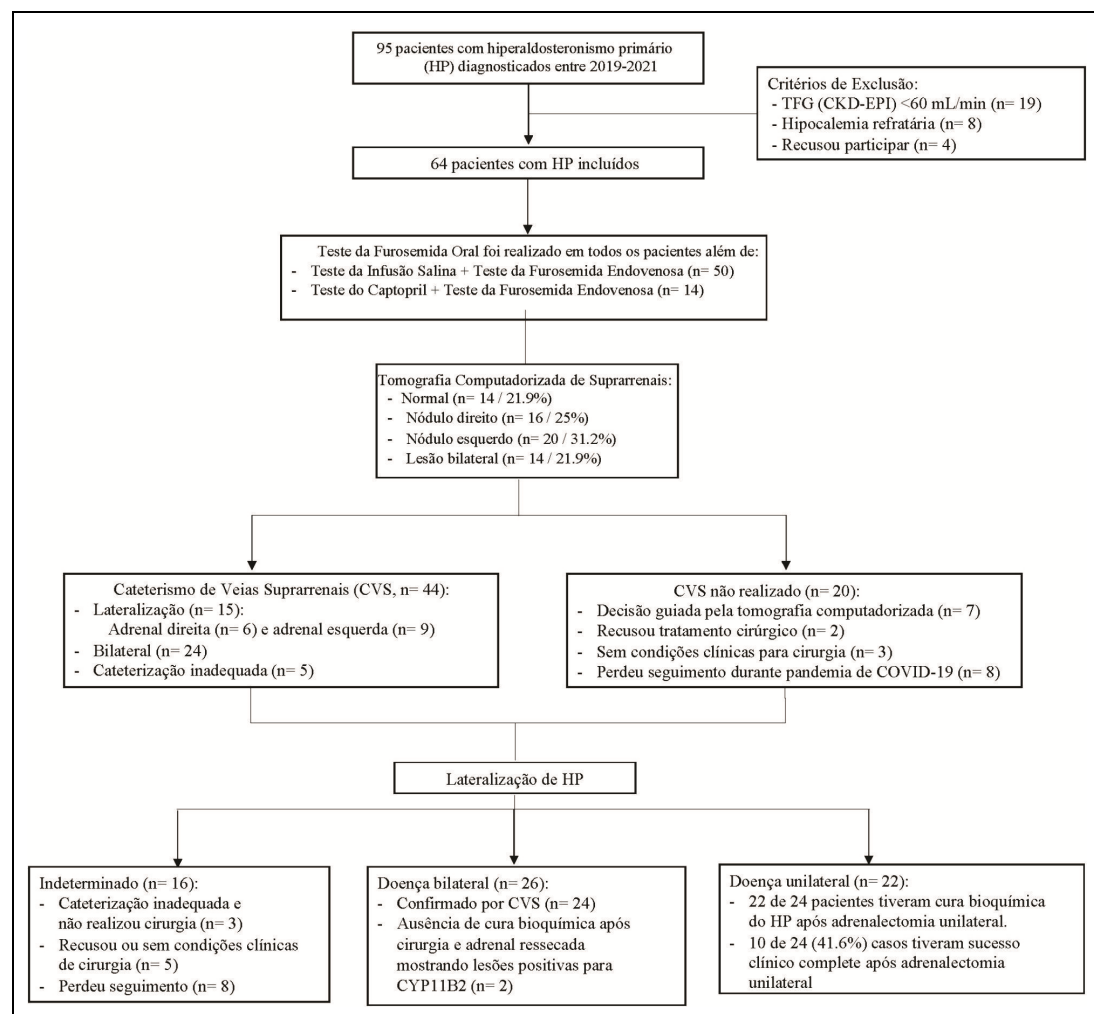


Figura 4 - Fluxograma de investigação diagnóstica e seguimento dos pacientes com hiperaldosteronismo primário (HP) incluídos no estudo

4.2 Teste da Furosemida Oral

As concentrações de aldosterona, potássio e renina no tempo basal, 2 e 3 horas durante o TFO estão representadas para todos os casos com HP e HA primária (controle) (Gráficos de 1 a 3).

Gráfico 1 - Concentrações séricas de aldosterona basais, 2 e 3 horas após 80 mg de furosemida oral no grupo de pacientes com HP e HA primária (controle)

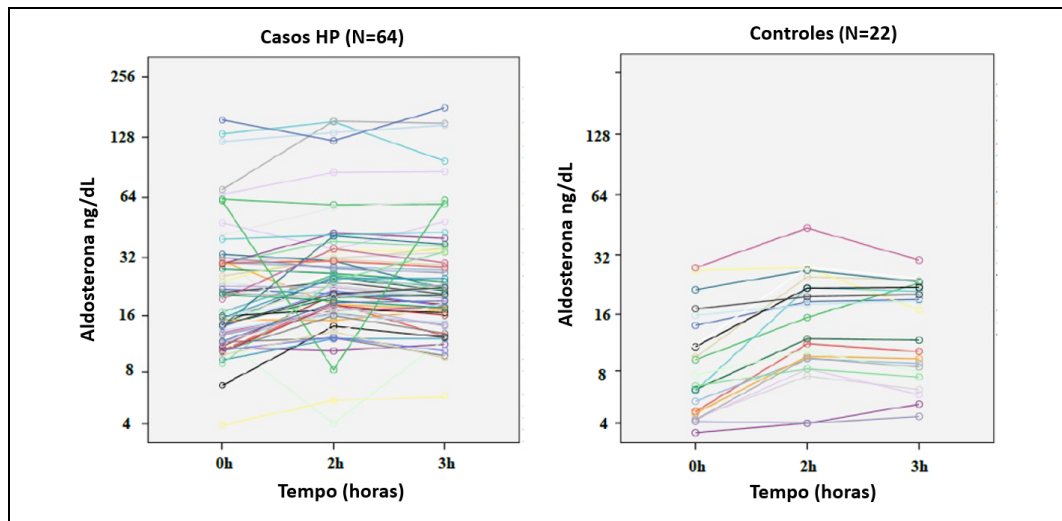


Gráfico 2 - Concentrações séricas de potássio basais, 2 e 3 horas após 80 mg de furosemida oral no grupo de pacientes com HP e HA primária (controle)

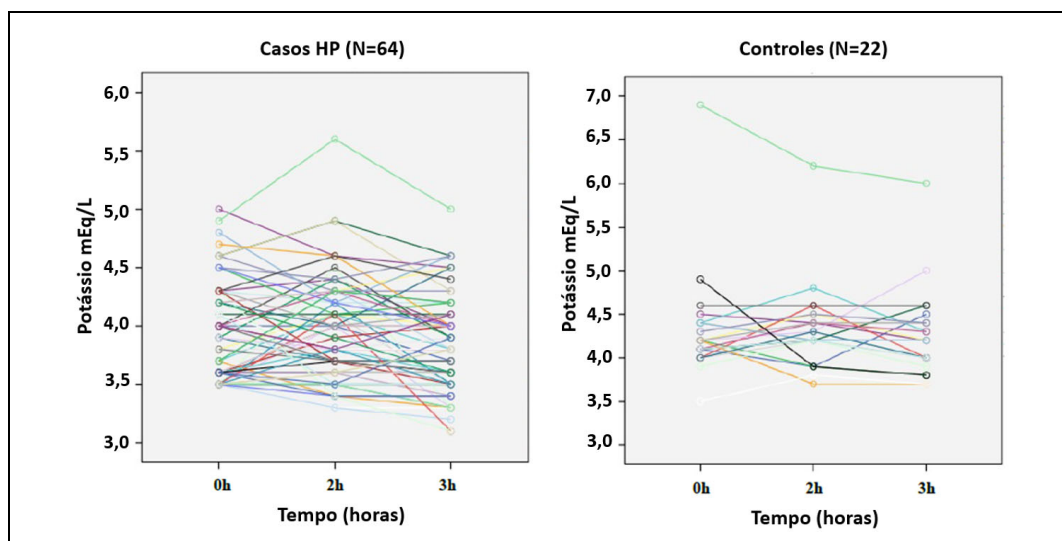
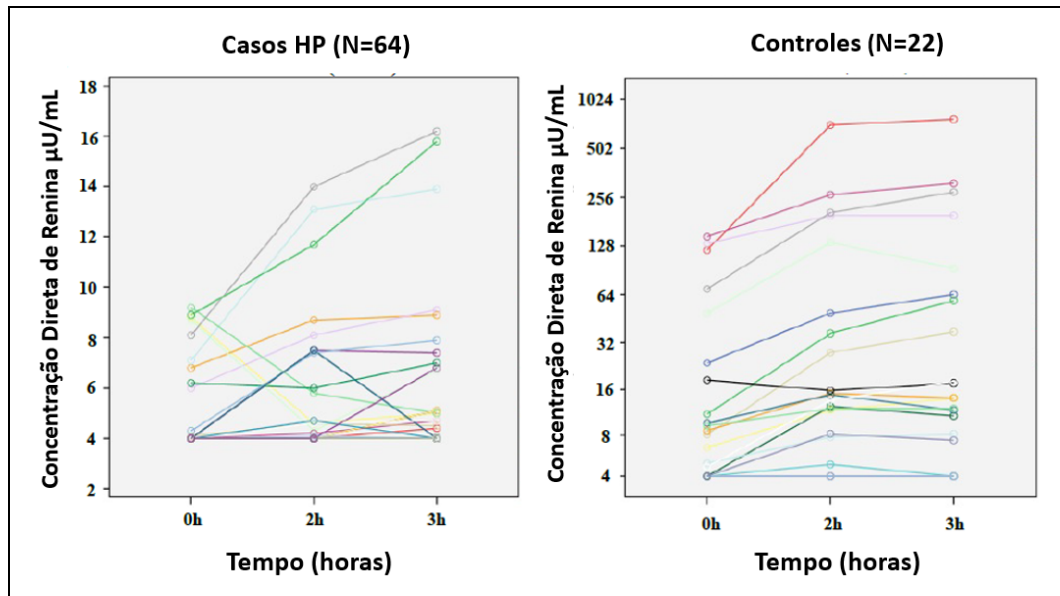


Gráfico 3 - Concentrações de renina basais, 2 e 3 horas após 80 mg de furosemida oral no grupo de pacientes com HP e HA primária (controle)



As medidas seriadas de aldosterona, renina e potássio foram analisadas utilizando o modelo GEE para avaliar se houve efeito de interação entre grupo e tempo nos dois grupos. O modelo GEE mostrou que houve uma interação significativa entre grupo e tempo para as medidas de aldosterona e renina (Tabela 4).

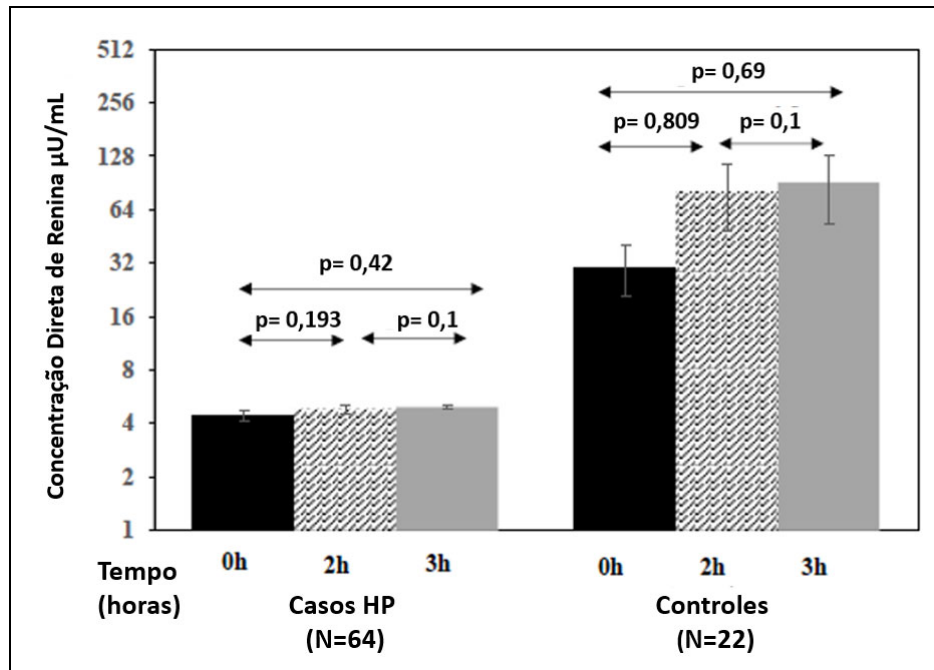
Tabela 4 - Efeito de grupo e tempo nas medidas repetidas de aldosterona, potássio e renina nos grupos com HP e HA primária (controle) durante o teste da furosemida oral usando modelo de equações de estimativas generalizadas (GEE)

Variáveis	Categoria	Coefficiente (B)	DP	Exp(B)	IC (95%)	P
Aldosterona						
Ordenada na origem		2,32	0,14	10,22	7,63 - 13,7	<0,001
Grupo	Caso (HP)	1,08	0,18	2,97	2,05 - 4,29	<0,001
	Controle	Ref		1		
Tempo	3 horas	0,38	0,1	1,46	1,18 - 1,79	<0,001
	2 horas	0,47	0,08	1,6	1,37 - 1,87	<0,001
	Basal	Ref		1		
Potássio						
Ordenada na origem		1,46	0,03	4,32	4,06 - 4,59	<0,001
Grupo	Caso (HP)	-0,12	0,03	0,88	0,83 - 0,94	<0,001
	Controle	Ref		1		
Tempo	3 horas	-0,02	0,01	0,98	0,96 - 1,0	0,049
	2 horas	0,02	0,01	1,02	0,99 - 1,048	0,125
	Basal	Ref		1		
Concentração Direta de Renina						
Ordenada na origem		3,41	0,31	30,51	16,68 - 55,79	<0,001
Grupo	Caso (HP)	-1,91	0,31	0,14	0,08 - 0,27	<0,001
	Controle	Ref		1		
Tempo	3 horas	1,09	0,25	2,98	1,82 - 4,87	<0,001
	2 horas	0,98	0,24	2,67	1,65 - 4,34	<0,001
	Basal	Ref		1		

Ref: referência da categoria; DP: desvio padrão; IC: intervalo de confiança; HP: hiperaldosteronismo primário; IC: intervalo de confiança

A renina foi significativamente menor no grupo com HP do que nos controles e apresentou aumento ao longo do tempo. Depois da correção de Bonferroni para comparações múltiplas, a renina basal do grupo com HP ($4,53 \pm 0,17 \mu\text{U/mL}$) não foi significativamente diferente da renina no tempo 2 horas ($4,88 \pm 0,27 \mu\text{U/mL}$, $p=0,193$) e 3 horas ($5,03 \pm 0,32 \mu\text{U/mL}$, $p=0,42$). Apesar do modelo GEE mostrar um efeito significativo de tempo para renina, esse efeito não foi demonstrado no grupo controle após comparações múltiplas devido ao elevado desvio padrão entre as medidas de renina no grupo controle (Gráfico 4).

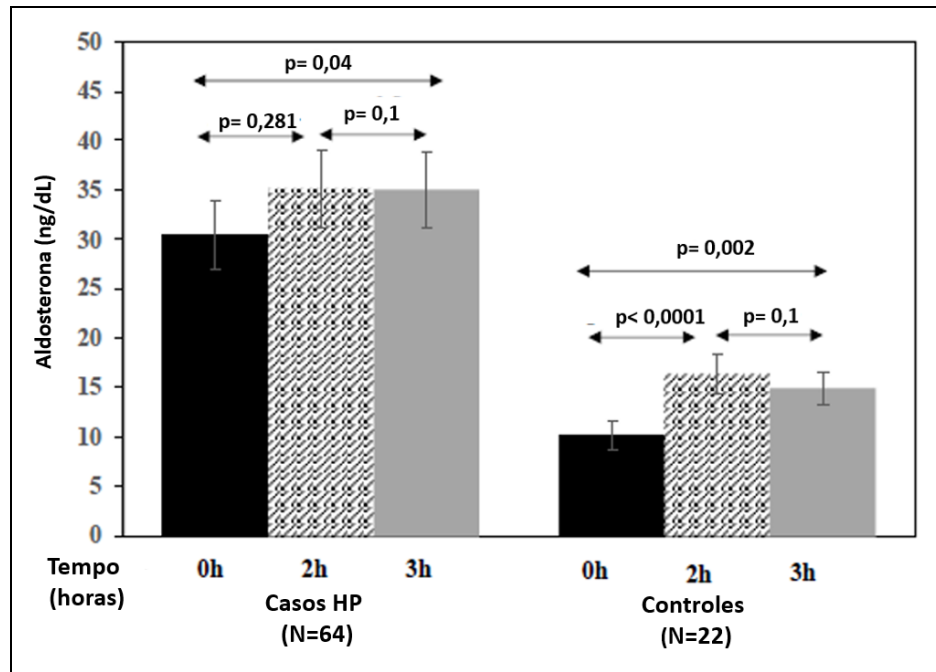
Gráfico 4 - Médias marginais estimadas (\pm EP) de renina durante diferentes tempos do teste da furosemida oral no grupo de casos com HP e nos controles com HA primária



EP: Erro padrão; HP: hiperaldosteronismo primário; HA: hipertensão

Um efeito significativo de tempo e grupo também foi observado para as concentrações de aldosterona (Tabela 4). No grupo com HP, a concentração de aldosterona aumentou significativamente no tempo 3 horas quando comparado com os níveis basais ($32,31 \pm 4,13$ ng/dL vs. $27,87 \pm 3,61$ ng/dL, respectivamente; $p = 0,04$) (Gráfico 5). No grupo controle, os níveis de aldosterona aumentaram significativamente no tempo 2 horas ($16,37 \pm 2,09$ ng/dL) e no tempo 3 horas ($14,95 \pm 1,69$ ng/dL) quando comparados com os níveis basais ($10,23 \pm 1,56$ ng/dL; $p < 0,0001$ e $p = 0,002$, respectivamente).

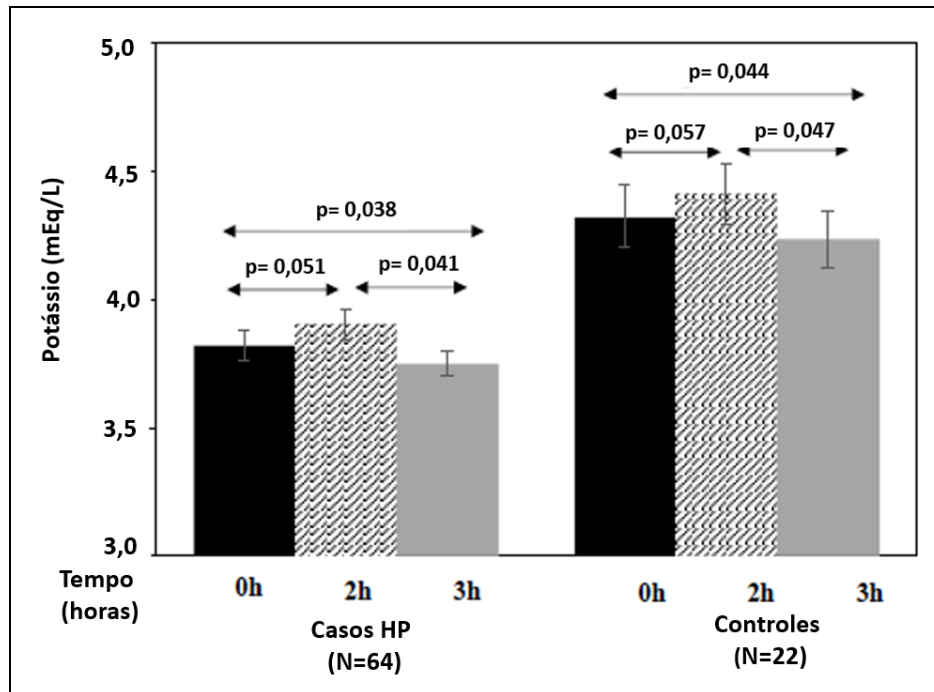
Gráfico 5 - Médias marginais estimadas (\pm EP) de aldosterona durante diferentes tempos do teste da furosemida oral no grupo de casos com HP e nos controles com HA primária



EP: Erro padrão; HP: hiperaldosteronismo primário; HA: hipertensão

Os níveis de potássio eram menores no grupo com HP em comparação com o grupo controle e reduziram discretamente no tempo 3 horas (2% em média) (Tabela 4). Nos pacientes com HP, os níveis de potássio reduziram no tempo 3 horas ($3,82 \pm 0,05$ mEq/L) quando comparados com os níveis basais ($3,93 \pm 0,05$ mEq/L, $p = 0,038$) e no tempo 2 horas ($3,98 \pm 0,05$ mEq/L, $p = 0,041$). De forma similar, os níveis de potássio reduziram no tempo 3 horas ($4,26 \pm 0,1$ mEq/L) em comparação com o basal ($3,93 \pm 0,05$ mEq/L, $p = 0,038$) e 2 horas ($3,98 \pm 0,05$ mEq/L, $p = 0,041$) no grupo controle (Gráfico 6). Dentre os pacientes com HP, somente 2 casos (3,1%) no tempo 2 horas e 4 (6,2%) de 64 casos no tempo 3 horas apresentaram níveis de potássio abaixo do valor de normalidade, mas entre 3,0 e 3,5 mEq/L.

Gráfico 6 - Médias marginais estimadas (\pm EP) de potássio durante diferentes tempos do teste da furosemida oral no grupo de casos com HP e nos controles com HA primária

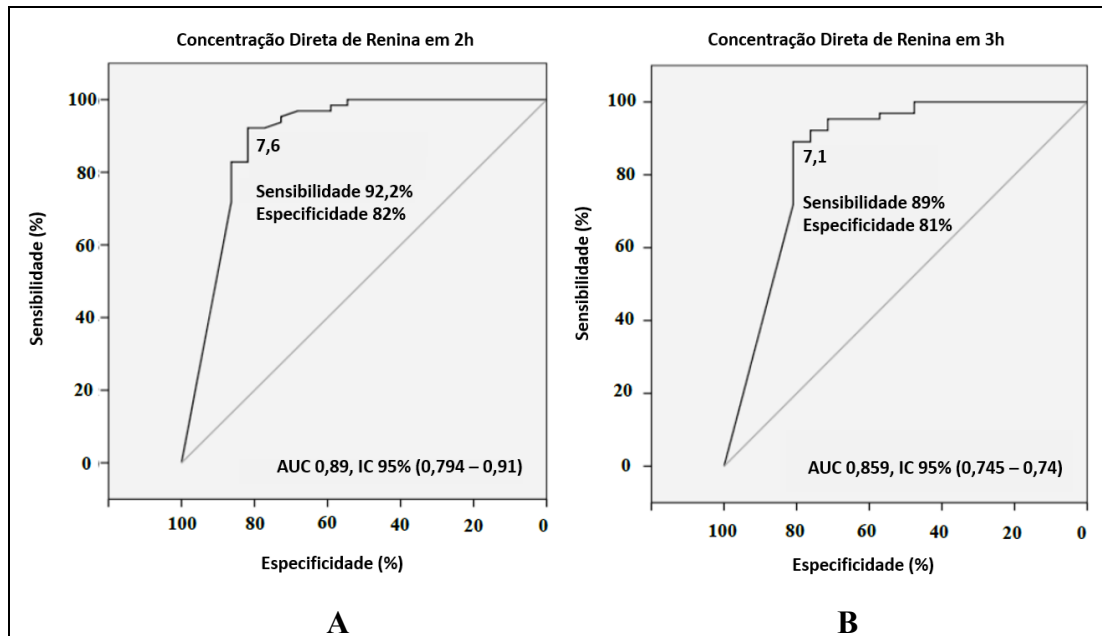


EP: Erro padrão; HP: hiperaldosteronismo primário; HA: hipertensão

4.2.1 Sensibilidade e especificidade do teste da furosemida oral

A curva ROC mostrou que o valor de corte de $7,6 \mu\text{U/mL}$ para a renina no tempo 2 horas do TFO teve uma sensibilidade de 92% e especificidade de 82% para o diagnóstico de HP. Os valores preditivos positivo e negativo para esse valor de corte foram 93,7% e 78,3%, respectivamente. A acurácia diagnóstica para o valor de corte de $7,6 \mu\text{U/mL}$ no tempo 2 horas foi de 90%. No tempo 3 horas do teste da furosemida oral, o valor de corte de $7,1 \mu\text{U/mL}$ para renina foi associado a uma sensibilidade de 89% e especificidade de 81% para o diagnóstico de HP (Gráfico 7). O valor de corte de $10 \mu\text{U/mL}$ no tempo de 2 horas apresentou uma sensibilidade maior de 95,3%, mas uma especificidade menor de 73%.

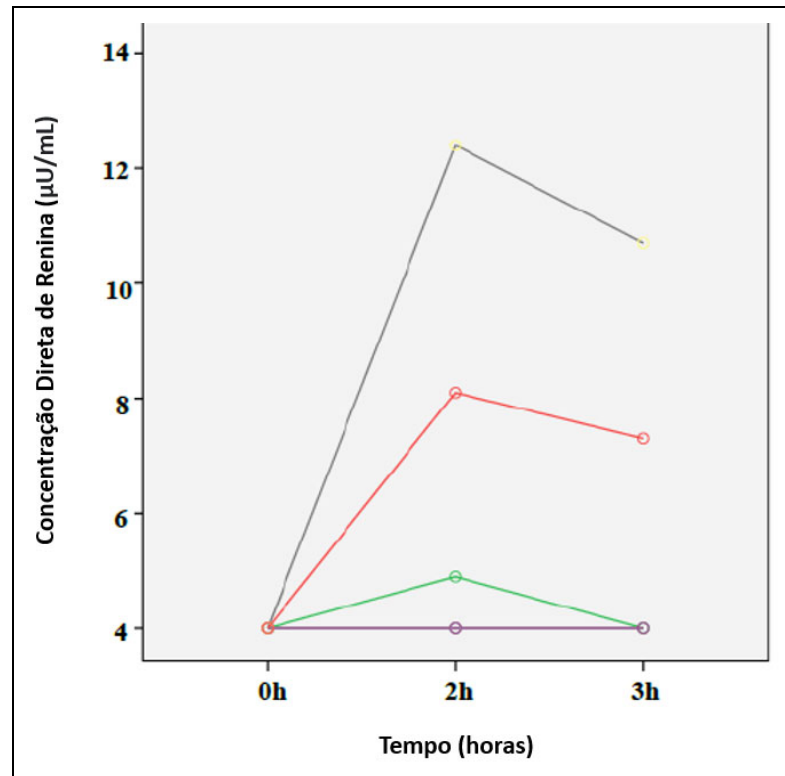
Gráfico 7 - Curva ROC mostrando os valores de corte para renina nos tempos 2 horas (A) e 3 horas (B) do teste da furosemida oral para diagnóstico de HP



HP: hiperaldosteronismo primário

Seis de 22 pacientes com HA primária apresentavam HA com renina baixa (renina supressa, porém com valores de aldosterona < 7 ng/dL após medidas repetidas), mas com rastreamento negativo para HP. Dentre esses seis casos, quatro permaneceram com valores de renina $< 7,6$ $\mu\text{U/mL}$ no tempo 2 horas e $< 7,1$ $\mu\text{U/mL}$ no tempo 3 horas do TFO (Gráfico 8).

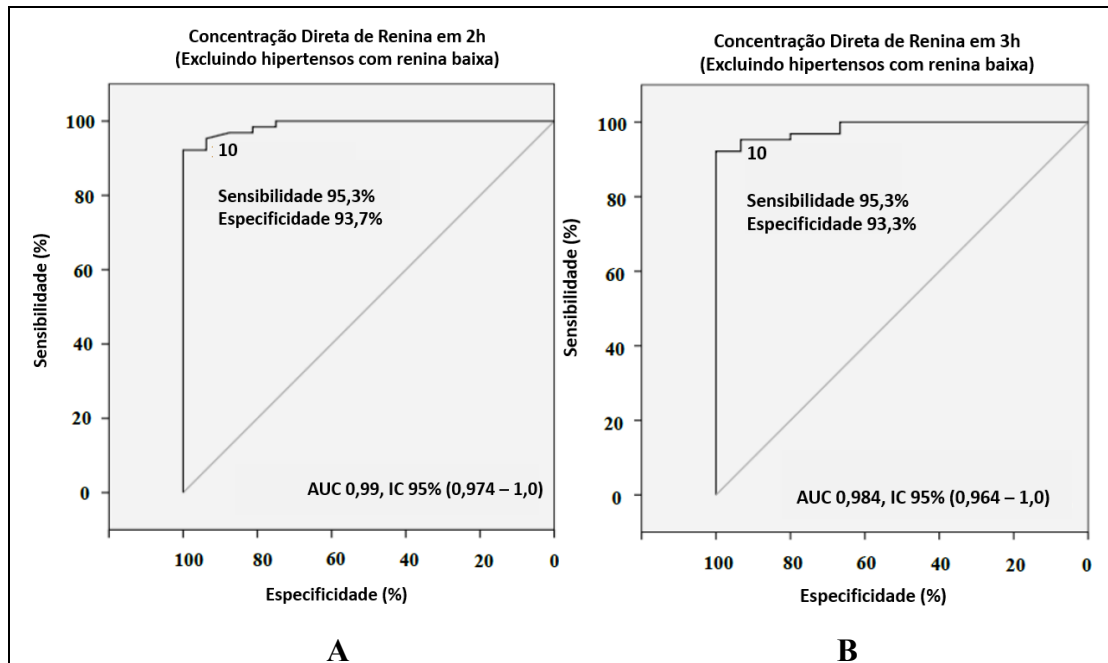
Gráfico 8 - Concentrações de renina basais, 2 e 3 horas após 80 mg de furosemida em 6 pacientes com HA com renina baixa (definidos como níveis supressos de renina e concentração de aldosterona <7 ng/dL)



HA: hipertensão

A HA com renina baixa foi recentemente considerada um espectro de autonomia da secreção de aldosterona⁴⁸. Baseado nessa evidência, foram reanalisados os dados excluindo os casos de HA com renina baixa do grupo controle (Gráfico 9). Nesse cenário, o valor de corte de 10 µU/mL para renina no tempo 2 horas teve uma sensibilidade de 95,3% e especificidade de 93,7% para o diagnóstico de HP. Usando o valor de corte de 10 µU/mL no tempo 2 horas, os valores preditivo positivo e negativo foram de 98,4% e 83,3%, respectivamente. A acurácia diagnóstica para o valor de corte de 10 µU/mL foi 95% no tempo 2 horas. O valor de corte de 10 µU/mL no tempo 3 horas ofereceu a mesma performance diagnóstica demonstrada em 2 horas.

Gráfico 9 - Curva ROC mostrando os valores de corte para renina nos tempos 2 horas (A) e 3 horas (B) do teste da furosemida oral para diagnóstico de HP excluindo pacientes com HA com renina baixa do grupo controle

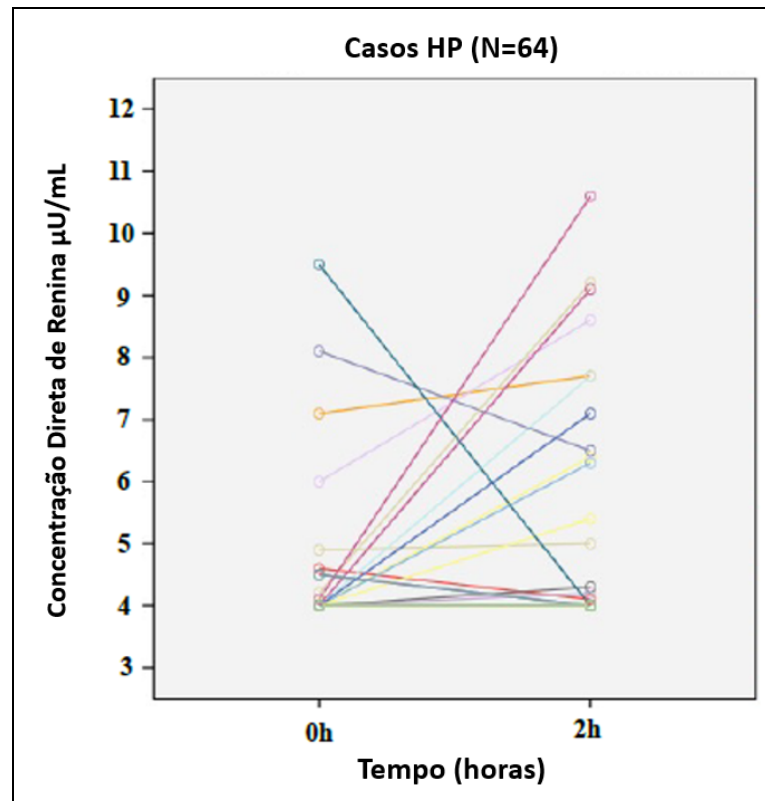


HP: hiperaldosteronismo primário; HA: hipertensão

4.3 Teste da Furosemida Endovenosa e Outros Testes Confirmatórios

A fim de comparar o efeito da furosemida oral e endovenosa sobre a renina, todos os 64 pacientes com HP também realizaram o TFE. Após 2 horas da injeção endovenosa de furosemida, a renina não aumentou significativamente nos pacientes com HP quando comparados com o tempo basal ($4,67 \pm 0,19 \mu\text{U/mL}$ vs. $4,28 \pm 0,12 \mu\text{U/mL}$, respectivamente; $p= 0,058$) (Gráfico 10).

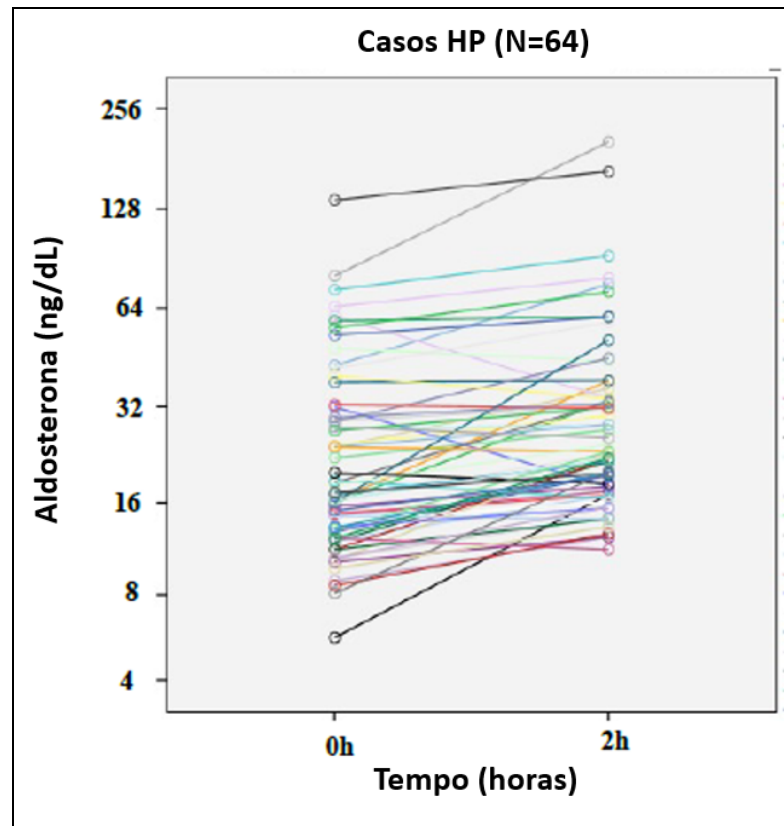
Gráfico 10 - Concentrações de renina basais e 2 horas após 40 mg de furosemida endovenosa em 64 pacientes com HP



HP: hiperaldosteronismo primário

Os níveis de aldosterona aumentaram significativamente após 2 horas do TFE quando comparados com os níveis basais ($32,8 \pm 4,13$ ng/dL vs. $26,25 \pm 2,78$ ng/dL, respectivamente; $p < 0,0001$) (Gráfico 11).

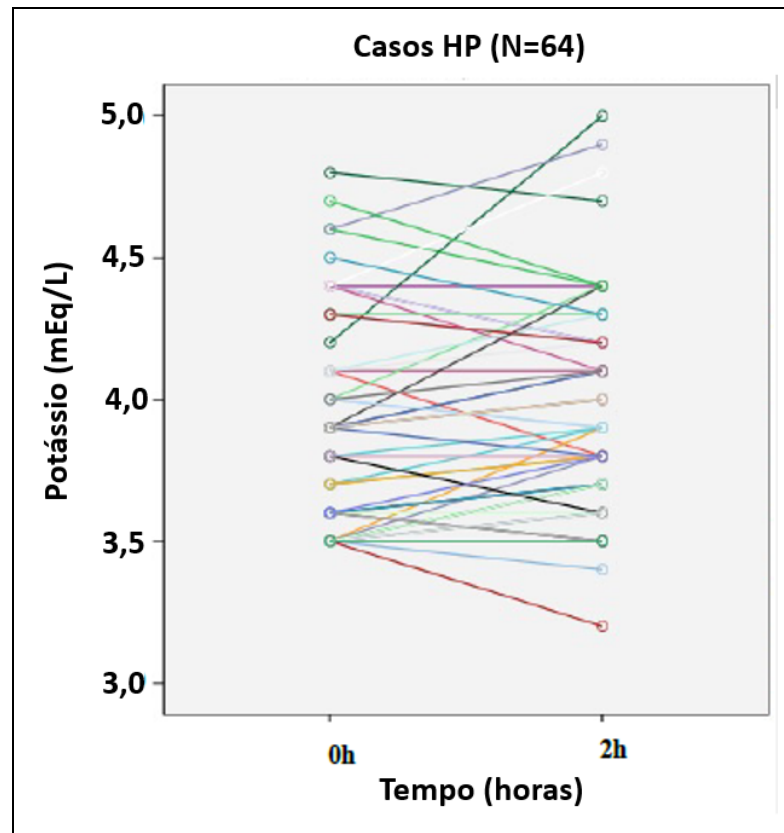
Gráfico 11 - Concentrações de aldosterona basais e 2 horas após 40 mg de furosemida endovenosa em 64 pacientes com HP



HP: hiperaldosteronismo primário

Os níveis de potássio não reduziram ao final do TFE (Gráfico 12). Considerando o valor de corte de APR de 2 ng/mL/h previamente proposto para o TFE (compatível com valor de concentração direta de renina de 24 μ U/mL usando o fator de conversão de 12), o TFE foi positivo em todos os pacientes portadores de HP. No entanto, o percentil 97,5 para concentração direta de renina ao final do TFE foi 9,8 μ U/mL.

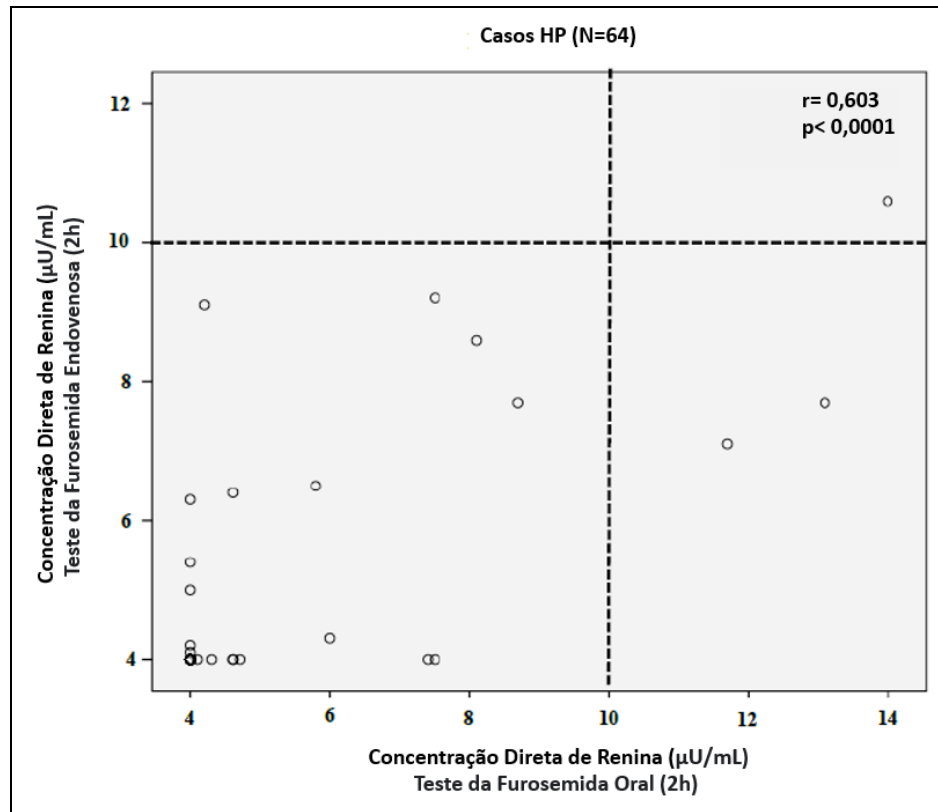
Gráfico 12 - Concentrações de potássio basais e 2 horas após 40 mg de furosemida endovenosa em 64 pacientes com HP



HP: hiperaldosteronismo primário

A renina no tempo 2 horas do TFO correlacionou-se significativamente com a renina no tempo 2 horas do TFE ($r= 0,603$, $p< 0,0001$) (Gráfico 13). Usando o valor de corte de $10 \mu\text{U/mL}$, o TFO e o TFE foram concordantes em 62 de 64 casos de pacientes com HP (97%). Em relação aos outros testes confirmatórios, o TIS foi positivo em 38 de 50 casos de pacientes com HP (76%) usando o valor de corte de aldosterona de 10 ng/dL . Já usando o valor de corte de aldosterona de $6,8 \text{ ng/dL}$, a taxa de positividade do TIS foi 86% (43 de 50 casos). O TCa foi positivo em 12 de 14 casos (85,7%).

Gráfico 13 - Correlação dos níveis de renina no tempo 2 horas do teste da furosemida oral e o teste da furosemida endovenosa em 64 pacientes com HP

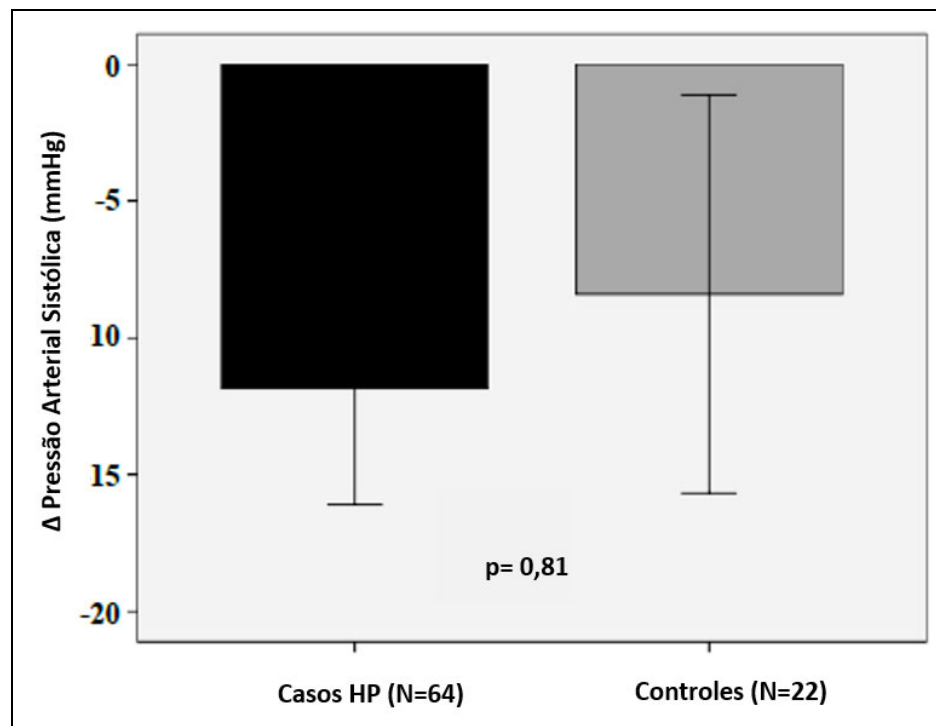


HP: hiperaldosteronismo primário

4.4 Pressão Arterial e Frequência Cardíaca Durante o Teste da Furosemida Oral

Durante o TFO, a pressão arterial sistólica reduziu similarmente no grupo caso e controle ($\Delta -11,8 \pm 2,12$ mmHg e $-8,4 \pm 3,6$ mmHg, respectivamente; $p= 0,81$) (Gráfico 14).

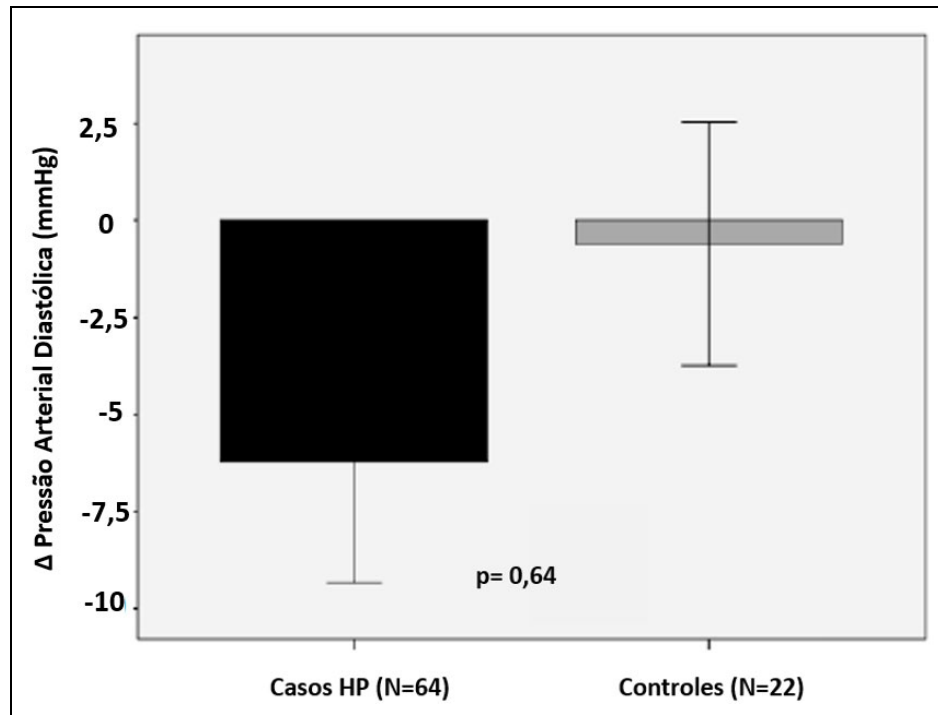
Gráfico 14 - Alteração na pressão arterial sistólica após 3 horas do teste da furosemida oral em comparação com a pressão sistólica basal nos pacientes dos grupos com HP e controle



HP: hiperaldosteronismo primário

A redução da pressão arterial diastólica não foi significativamente diferente em ambos os grupos (casos $-6,2 \pm 1,55$ mmHg vs. controle $-0,6 \pm 1,57$ mmHg, $p= 0,64$) (Gráfico 15).

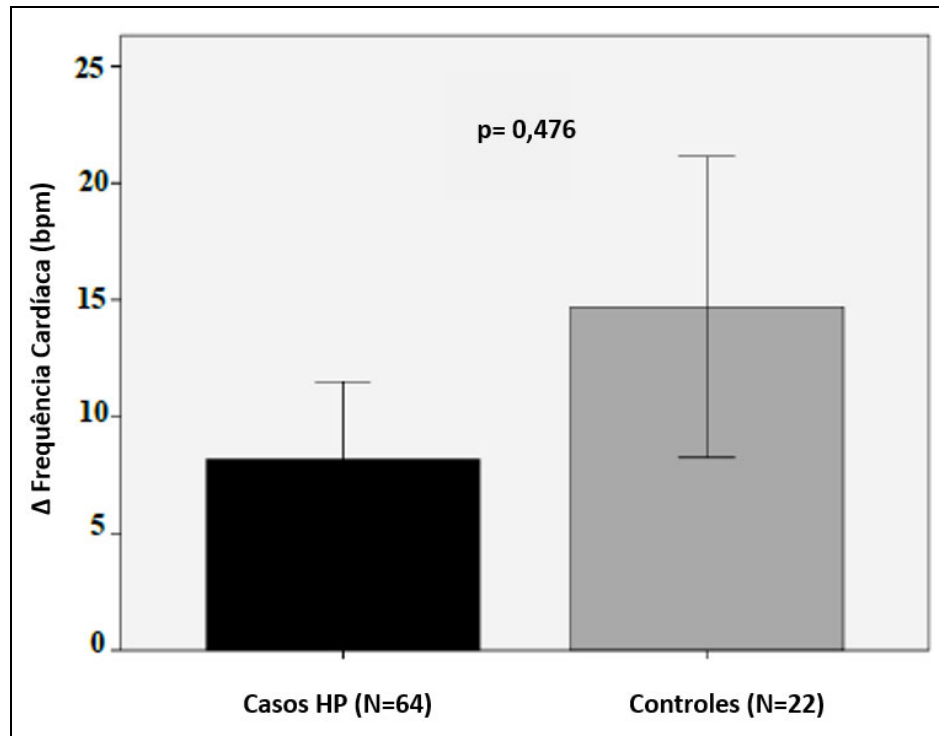
Gráfico 15 - Alteração na pressão arterial diastólica após 3 horas do teste da furosemida oral em comparação com a pressão sistólica basal nos pacientes dos grupos com HP e controle



HP: hiperaldosteronismo primário

O aumento da frequência cardíaca foi similar nos dois grupos ($\Delta 8,2 \pm 1,7$ bpm e $14,7 \pm 3,2$ bpm, respectivamente; $p= 0,476$) (Gráfico 16). Hipotensão arterial não foi observada ao final do TFO em nenhum paciente dos dois grupos.

Gráfico 16 - Alteração na frequência cardíaca após 3 horas do teste da furosemida oral em comparação com a pressão sistólica basal nos pacientes dos grupos com HP e controle



HP: hiperaldosteronismo primário

5 DISCUSSÃO

A hipertensão arterial é uma doença muito prevalente, estimando-se a existência de cerca de 1 bilhão de hipertensos no mundo⁴⁹. A maioria dos casos é considerada primária. O hiperaldosteronismo primário é a causa mais frequente de HA endócrina, sendo caracterizado por uma produção autônoma de aldosterona independente do sistema renina-angiotensina que culmina em aumento de PA e efeitos deletérios extra-renais⁷. A prevalência de HP varia de 5-20% dos hipertensos, aumentando de acordo com a gravidade da hipertensão⁵. Apesar da alta prevalência e complicações associadas, o HP permanece subdiagnosticado, com uma taxa de rastreamento de somente 4% entre indivíduos com HA e hipocalemia grave⁵⁰.

O objetivo primário do estudo foi investigar o papel de um novo teste confirmatório para o diagnóstico de HP. O TFO apresentou excelente acurácia diagnóstica. Além disso, o TFO foi seguro e bem tolerado. O prolongamento do TFO até 3 horas não aumentou a performance diagnóstica e, portanto, não parece necessário. A alta complexidade do fluxograma diagnóstico de HP contribuiu para a baixa taxa de rastreamento da doença. Vários testes confirmatórios foram propostos para confirmar o diagnóstico de HP após um rastreamento positivo¹⁹. O TSF exige internação hospitalar com monitorização intensiva de PA e potássio, o que é particularmente complicado em uma doença muito prevalente e em indivíduos com HA resistente ou hipocalemia severa. Mesmo não requerendo internação hospitalar, os outros testes dinâmicos recomendados, como o TIS, TCa e TFE, exigem

supervisão médica em sala de testes dinâmicos durante a realização. Infelizmente, salas de testes dinâmicos não são amplamente disponíveis no Brasil e em muitos países, o que se torna uma limitação para a investigação de HP.

O teste da infusão salina é o confirmatório mais empregado para o diagnóstico de HP⁴. No entanto, a indicação do TIS deve ser feita de maneira cautelosa nos pacientes com HA resistente, doença renal crônica e/ou insuficiência cardíaca congestiva, o que representa uma parcela significativa dos pacientes portadores de HP. A acurácia do TIS para o diagnóstico de HP varia significativamente em diferentes coortes dependendo do protocolo do teste empregado e do valor de corte da aldosterona estabelecido^{20,35,37,41}. No presente estudo, a taxa de detecção de HP após o TIS variou de 76 a 86% (dependendo do valor de corte de aldosterona), o que foi inferior ao TFE e ao TFO. Na coorte do presente estudo, valor de corte de 6,8 ng/dL para aldosterona ao final do TIS foi associado a uma taxa de positividade maior que o valor de 10 ng/dL, como previamente demonstrado para o TIS deitado⁵¹. Em concordância com os achados do presente estudo, Nanba *et al.*²⁰ demonstraram que a TFE tem uma acurácia diagnóstica superior ao TIS para diagnóstico de HP.

Recentemente, Leung *et al.*⁵¹ realizaram uma revisão sistemática e metanálise da performance dos testes confirmatórios para o diagnóstico de HP. Essa metanálise incluiu estudos com TIS na posição deitada, TIS na posição sentada, teste com sobrecarga oral de sódio, TSF e TCa. Houve grandes variações em como os testes confirmatórios foram conduzidos e interpretados, resultando em excesso de casos não diagnosticados na maioria das situações. Poucos estudos avaliaram TIS em comparação com outros testes confirmatórios padrão^{34,36,52}. A performance do TFE não foi incluída nesta metanálise, já

que poucos estudos avaliaram o TFE. Dessa forma, a recomendação e escolha dos testes confirmatórios a serem empregados ainda necessita ser reavaliada.

O perfil de segurança dos testes confirmatórios constitui um ponto fundamental na escolha do teste confirmatório. Em 2019, Heinrich *et al.*⁵³ avaliaram a segurança do TIS e demonstraram que 20% dos pacientes apresentaram efeitos colaterais consideráveis, principalmente crises hipertensivas durante a infusão salina. Aproximadamente 80% dos pacientes submetidos ao TIS precisaram de medicação anti-hipertensiva de resgate durante o teste. O teste do captopril possui um melhor perfil de segurança em relação ao TIS, porém o TCa possui relatos de baixa reprodutibilidade³⁹. Além disso, o valor de corte da aldosterona no TCa é variável na literatura e para a sua interpretação correta deve-se levar em conta o efeito do ACTH sobre os níveis de aldosterona, o que torna a interpretação do TCa ainda mais problemática e pode explicar a sua performance diagnóstica irregular. A hipocalcemia é um efeito colateral preocupante em decorrência do uso de diuréticos como a furosemida, especialmente quando se trata de uma população com tendência a maior excreção renal de potássio, como ocorre no HP. No entanto, não foi observada queda significativa dos níveis de potássio após o TFO e o TFE. Esse achado está de acordo com o conceito prévio que distúrbios eletrolíticos e efeitos colaterais mais graves ocorrem com o uso crônico da furosemida⁴⁷. Nos últimos anos, o TFE tem sido o teste confirmatório na investigação diagnóstica do HP no HCFMUSP, no entanto esse teste ainda não apresentava valor de corte definido com a utilização da concentração direta de renina. O teste da furosemida endovenosa apresenta um excelente perfil de segurança para a população de hipertensos resistentes, que apresentam contraindicação a realização de testes confirmatórios com sobrecarga de

sódio. Nesse estudo, o valor de corte de renina de 9,8 $\mu\text{U/mL}$ (podendo aproximar para 10 $\mu\text{U/mL}$) foi associado a uma taxa de positividade de 97,5% e teve uma concordância de 97% com o TFO, se ao ser empregado o mesmo valor de corte.

O hiperaldosteronismo primário tem sido definido como uma doença de amplo espectro, variando de formas subclínicas até quadros mais exuberantes⁵⁴⁻⁵⁶. Evidências crescentes têm demonstrado que a secreção inapropriada de aldosterona também tem um papel relevante nos subtipos de HA^{57,58}. Recentemente, Brown *et al.*⁴⁸ mostraram que níveis de aldosterona urinária em 24 horas após teste de sobrecarga de sódio oral continuaram aumentando de acordo com a gravidade HA dos pacientes, variando de 11% nos normotensos até 22% nos hipertensos resistentes, sugerindo a presença de um *continuum* de produção de aldosterona independente da renina em pacientes hipertensos⁴⁸. Baseado nesses achados, a distinção entre “hiperaldoesteronismo primário” e “produção de aldosterona independente de renina” é arbitrária. Sendo assim, HP seria melhor definido como uma síndrome de produção de aldosterona independente de renina^{48,54}.

O fenótipo de hipertensão com renina baixa já foi previamente caracterizado^{59,60}. Conn *et al.*⁶¹ em 1965 sugeriram que indivíduos ainda normotensos poderiam apresentar autonomia na secreção de aldosterona. Em 1972, Liddle *et al.*⁶² reconheceram que a espironolactona normalizava a PA de pacientes com renina supressa e não daqueles com renina elevada. No estudo PATHWAY-2, pacientes com HA resistente não controlada foram aleatoriamente tratados de maneira sequencial e alternada com espironolactona, bisoprolol, doxazosina e placebo⁶³. A eficácia da espironolactona foi superior em pacientes com níveis de renina baixos sem HP⁶³. Esse achado sustenta o conceito de um espectro de produção

de aldosterona independente da renina. No presente estudo, seis pacientes hipertensos com renina supressa e níveis baixos de aldosterona foram incluídos no grupo controle. Como esses pacientes pode representar um espectro bioquímico mais leve do HP, optou-se por reanalisar os dados excluindo esses casos do grupo controle para reavaliar o valor de corte para renina no TFO. Cinco dos seis pacientes controles hipertensos com renina suprimida permaneceram com renina $<10 \mu\text{U/mL}$ ao final do TFO. Nesse cenário, o valor de corte de $10 \mu\text{U/mL}$ no tempo de 2 horas aumentou a sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de HP. Embora, essa conclusão seja preliminar, já que somente 6 casos com HA com renina suprimida foram analisados, foi considerado o valor de corte de renina de $10 \mu\text{U/mL}$ como o mais adequado para o TFO no tempo 2 horas.

Recentemente, diversos estudos demonstraram uma importante variabilidade intraindividual nos valores de aldosterona basais em pacientes com HP^{15,64}. Yozamp *et al.*⁶⁴ mostraram que aproximadamente 30% dos pacientes com HP tiveram pelo menos um valor de aldosterona $<10 \text{ ng/dL}$ e 50% dos pacientes pelo menos um valor de aldosterona $<15 \text{ ng/dL}$. Quando o rastreamento foi baseado em duas dosagens de aldosterona, somente 6% dos pacientes com HP tiveram aldosterona $<10 \text{ ng/dL}$, mas 30% dos pacientes ainda tiveram as duas dosagens de aldosterona $<15 \text{ ng/dL}$. Recentemente, foi demonstrado um coeficiente de variação intraindividual de 27% para aldosterona, o que confirma a pulsatilidade da secreção autônoma de aldosterona¹⁵. Esses dados sugerem que o rastreamento do HP não deve ser baseado em uma única dosagem de aldosterona e renina para excluir HP, principalmente em indivíduos com renina suprimida e aldosterona $<10 \text{ ng/dL}$. Levando-se em consideração todos esses dados, a supressão da renina vem ganhando uma grande

importância no diagnóstico do HP, tanto pela variabilidade intraindividual da aldosterona como pelo diagnóstico de pacientes com espectro mais leve do HP, que provavelmente se beneficiariam do tratamento mais precoce com espironolactona. Dessa forma, a utilização de um teste confirmatório como a furosemida, que avalia o desbloqueio da renina ao invés do nível da aldosterona, parece ter uma importância diagnóstica maior na caracterização desse espectro de autonomia da secreção de aldosterona.

Um ponto forte do neste estudo foi a análise de um novo teste confirmatório que foi comparado com outros dois testes confirmatórios padrões em todos os pacientes com HP. Adicionalmente, o TFE foi primeiramente avaliado usando concentração direta de renina ao invés de APR. Pode-se destacar também a investigação da resposta da renina após o TFO em pacientes com hipertensão e baixos níveis de renina. Uma limitação foi o uso de anti-hipertensivos interferentes em alguns pacientes. Já que maioria dos pacientes portadores de HP possuem hipertensão grave, não é possível na prática clínica mudar todas as medicações que afetam o eixo renina-aldosterona. Apesar disso, deve-se enfatizar que pacientes com HP usando anti-hipertensivos interferentes somente foram incluídos se os níveis de renina estavam supressos no momento do teste. Outro potencial limitação foi o fato que não foram investigados todos os pacientes com hipertensão primária referenciados ao HCFMUSP devido à dificuldade em alterar as medicações anti-hipertensivas em pacientes com hipertensão resistente e baixa probabilidade de HP (renina > 30-50 μ U/mL em uso de medicamentos interferentes).

Pode-se propor um teste confirmatório novo e eficaz que pode ser executado de maneira segura como um procedimento ambulatorial. Pacientes em investigação

para HP (com ausência de hipocalcemia ou níveis normais de potássio sob reposição) podem tomar 80 mg de furosemida oralmente e irem a um laboratório 2 horas depois coletar uma amostra de renina. Essa nova abordagem pode facilitar o diagnóstico de HP em centros que não possuem estrutura para pacientes ambulatoriais ou salas de testes dinâmicos. Concluindo, o TFO foi seguro, bem tolerado e representa uma estratégia eficaz para a investigação de HP.

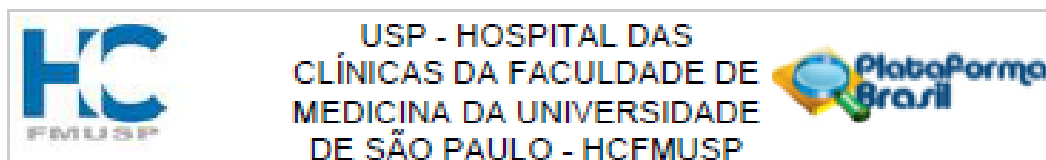
6 CONCLUSÕES

- O TFO foi seguro, bem tolerado e de fácil execução.
- O nível de renina de 7,6 $\mu\text{UI/mL}$ no tempo 2 horas do TFO apresentou sensibilidade de 90% e especificidade de 81% para o diagnóstico de HP.
- Excluindo do grupo controle os pacientes com HA e baixos níveis de renina, o valor de corte para renina de 10 $\mu\text{U/mL}$ no tempo 2 horas foi associado a uma maior sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de HP (95,3% e 93,7%, respectivamente).
- O prolongamento do TFO até 3 horas não contribuiu para o aumento da sensibilidade e especificidade.
- A redução dos níveis de potássio após 3 horas do TFO foi discreta e não significativa.
- O teste da furosemida endovenosa e o teste da furosemida oral apresentaram uma taxa de positividade superior ao TIS e TCa para o diagnóstico de HP.
- O valor de renina nos TFO e TFE se correlacionaram de forma significativa, com o valor de corte de 10 $\mu\text{U/mL}$ para renina em 2 horas sendo adequado em ambos os testes.

Anexo A - Protocolo do Cateterismo das Veias Adrenais

- 1 - **Agendamento:** Marcar sempre às quintas com a Dra. Aline Cristine Barbosa. Agendar o cateterismo com 30 dias de antecedência e informar ao Dr. Madson Almeida (celular: 11 98154-9911) para que a compra da ampola de cortrosina (não fornecida pelo HCFMUSP) seja solicitada. Sete dias antes da data agendada, confirmar para o Dr. Madson o agendamento do cateterismo para que o mesmo informe ao Laboratório de Hormônios sobre o envio das amostras na referida data.
- 2 - **Início do procedimento:** O **cateterismo** não deve começar após as 12h para que as amostras não sejam entregues no laboratório após as 16h.
- 3 - **Marcação dos tubos:** O residente **responsável** pelo caso deve levar os tubos a serem utilizados já devidamente etiquetados:
 - Dosagem de cortisol plasmático rápido para avaliar adequação da cateterização da veia adrenal direita (VAD): um tubo de tampa roxa com EDTA com etiqueta marcada **VAD e Periferia**;
 - Dosagem de cortisol e aldosterona em soro da VAD, veia adrenal esquerda (VAE) e da veia cava inferior (VCI): 2 tubos de plástico com gel de tampa vermelha para a **VAD**, 2 tubos para a **VAE** e 2 tubos para a **VCI**.
- 4 - **Estímulo com cortrosina:** Diluir 250 µg de cortrosina em 250 mL de SF 0,9% e infundir 50-100 ml/hora, com início 30 minutos antes do cateterismo e durante todo o exame. A retirada da ampola de cortrosina deve ser combinada com a enfermeira da Endocrinologia (Maria Tereza dos Santos Carvalho) na semana da realização do cateterismo (ligar no ramal 6624 no período da 8-11h).
- 5 - **Dosagem de cortisol plasmático rápida:** Após a cateterização da VAD, devemos coletar da VAD e VCI um tubo de tampa roxa com EDTA para dosagem de cortisol rápida e 2 tubos de plástico com gel de tampa vermelha para dosagem de cortisol e aldosterona séricos. Os tubos de tampa roxa etiquetados com VAD e VCI serão levados até o Laboratório de Hormônios (PAMB 2º andar, Bloco 6). No LIM42, a funcionária Neide Alves ou Poline recepcionará as amostras para fazer a centrifugação. Após a centrifugação, a funcionária Márcia Ester ou Luciana Leopoldino fará a análise e informará o resultado ao residente. Esse processo dura aprox. 30 min. Enquanto aguarda o resultado, a radiologista intervencionista prossegue com a cateterização da VAE e coleta de um tubo de plástico com gel de tampa vermelha para dosagem de cortisol e aldosterona séricos. Se a relação do cortisol na VAD/VCI for ≥ 5 , a cateterização da VAD foi adequada e o cateterismo é encerrado. Após o final do cateterismo, o residente encaminhará os tubos de plástico com gel de tampa vermelha etiquetados com VAD, VAE e VCI para o Laboratório de Hormônios. Se a relação do cortisol na VAD/VCI for < 5 , a cateterização da VAD foi inadequada e a radiologista intervencionista realizará mais uma tentativa de cateterização com coleta de sangue para dosagem de cortisol rápido (repetindo o processo).
- 6 - **Interpretação do resultado:**
 - Após estímulo com ACTH, a relação do cortisol da VAD ou E/VCI deve ser ≥ 5 ;
 - Determinar o quociente aldosterona/cortisol (aldosterona normalizada);
 - **Lateralização:** gradiente ≥ 4 entre as determinações das duas veias suprarrenais, sendo que no lado não-dominante a aldosterona é menor ou igual à da veia cava inferior;
 - **Bilateralidade:** gradiente entre as suprarrenais é < 3 e a relação de aldosterona normalizada das veias suprarrenais com a veia cava inferior é ≥ 1 ;

Um gradiente entre 3 e 4 é geralmente inconclusivo, mas pode ser conclusivo se a relação da aldosterona normalizada contralateral/VCI $< 0,5$, indicando uma supressão contralateral.

Anexo B - Parecer Consubstanciado do CEP**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Avaliação da eficácia dos testes da furosemida endovenosa e oral no diagnóstico do hiperaldosteronismo primário

Pesquisador: Madson Almeida

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 15739619.2.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.491.819

Apresentação do Projeto:

Os pesquisadores vão realizar o protocolo de forma prospectiva e em 2 fases. Os indivíduos serão divididos em 3 grupos: 1, indivíduos com diagnóstico de HP; 2, indivíduos com hipertensão essencial e rastreamento negativo para HP; 3, indivíduos sem hipertensão essencial e com rastreamento negativo. Pretendem avaliar a eficácia dos testes da furosemida endovenosa e oral no diagnóstico do hiperaldosteronismo primário. O protocolo está bem escrito, apresenta relevância na área médica e não oferece riscos ao sujeito da pesquisa.

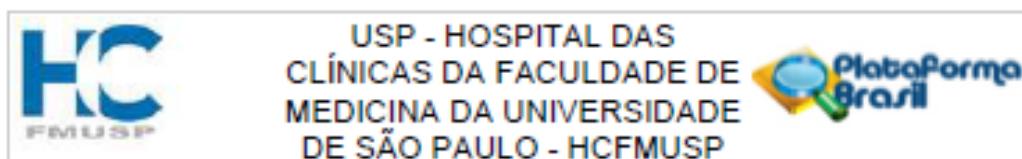
Objetivo da Pesquisa:

Os pesquisadores tem como objetivo avaliar a eficácia dos testes da furosemida endovenosa e oral no diagnóstico do HP. Pretendem determinar a eficácia do teste da furosemida endovenosa, utilizando renina plasmática, em pacientes com rastreamento positivo e confirmação diagnóstica de HP. Ainda avaliar a eficácia e segurança do teste da furosemida oral no diagnóstico de HP estudar o efeito da furosemida oral nos níveis de renina plasmáticos de indivíduos sem hipertensão e com hipertensão essencial sem HP. Os objetivos estão claros e o desenho do estudo adequado pra o desenvolvimento do protocolo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O protocolo proposto não oferece riscos para o sujeito da pesquisa.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
 Bairro: Cerqueira César CEP: 05.403-010
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappelq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 3.491.019

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto adequado de grande relevância para apoio diagnóstico.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O TCLE está adequado para o desenvolvimento do projeto.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

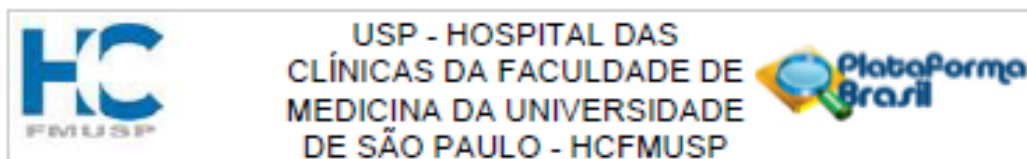
Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delimitado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP Interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1334732.pdf	13/06/2019 10:24:47		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_HP_atualizado.pdf	13/06/2019 10:24:09	Madson Almeida	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto_assinada.pdf	13/06/2019 10:23:25	Madson Almeida	Aceito
Outros	Declaracao_do_departamento.pdf	29/05/2019 15:16:32	Madson Almeida	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_de_anuencia_assinada.pdf	29/05/2019 15:13:12	Madson Almeida	Aceito
Orçamento	Declaracao_de_custos_assinada.pdf	29/05/2019 15:11:21	Madson Almeida	Aceito
Cronograma	Cronograma_de_execucao.pdf	29/05/2019 15:10:25	Madson Almeida	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_DOUTORADO_FINAL.pdf	29/05/2019 15:09:23	Madson Almeida	Aceito

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5ª andar
 Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappelq.edm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 3.491.819

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 07 de Agosto de 2019

Assinado por:

ALFREDO JOSE MANSUR
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)2961-7585 Fax: (11)2961-7585 E-mail: cappelq.edm@hc.fm.usp.br

Anexo C - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

1

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS SOBRE A PESQUISA

TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: Avaliação da eficácia dos testes da furosemida endovenosa e oral no diagnóstico do hiperaldosteronismo primário

PESQUISADOR PRINCIPAL: Dr. Madson Queiroz de Almeida

CARGO/FUNÇÃO: Médico INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 102257

DEPARTAMENTO/ INSTITUTO: Departamento de Clínica Médica - Endocrinologia. Unidade de Suprarrenal - Laboratório de Hormônios LIM-42. Instituto Central do Hospital das Clínicas FMUSP

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

Convidamos o Sr (a) para participar desta pesquisa: Avaliação da eficácia dos testes da furosemida endovenosa e oral no diagnóstico do hiperaldosteronismo primário.

01 - Justificativa e os objetivos da pesquisa: O Sr. (a) é portador de um tumor ou hiperplasia em uma ou ambas glândulas suprarrenais (uma pequena glândula localizada acima do rim) o que ocasiona excesso de produção hormonal: hiperaldosteronismo. O Sr. (a) está sendo convidado a participar de um estudo cujo objetivo é validar testes confirmatórios que facilitem a detecção do excesso de hormônio aldosterona. Gostaríamos de consultar se o Sr. (a) concordariam em participar do estudo através da realização de testes que configuram em coleta de sangue seriada após uso de medicação ou soro fisiológico. A participação neste estudo é voluntária (não obrigatória) e o seu tratamento será realizado mesmo que o Sr. (a) decida não participar da pesquisa.

02 - Procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais: Para que seja feita a avaliação dos testes confirmatórios, será necessário a coleta de 5 ml de sangue (correspondente a 1 colher de sopa), através de uma picada com agulha estéril, descartável no início e 2 horas após a administração de 40mg de Furosemida via endovenosa e da mesma maneira ao início, 2 horas e 3 horas após a administração de 80mg de Furosemida via oral. Os testes deverão ser realizados em dias diferentes e serão feitos na sala de testes da Endocrinologia. Os desconfortos relacionados a coleta de sangue são principalmente dor e possível formação de hematoma. As medicações utilizadas como estímulo para a coleta hormonal podem apresentar como efeitos colaterais: sede, tontura leve, fraqueza e câimbras. As amostras de sangue serão avaliadas no Laboratório de Hormônios e Genética Molecular LIM42, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP.

03 - Desconfortos e riscos esperados: Conforme explicado acima, o uso de medicações para a realização dos testes pode gerar efeitos colaterais leves e transitórios: sede, tontura leve, fraqueza e câimbras.

04 - Benefícios que poderão ser obtidos: Não há benefícios diretos ou imediatos para participação na pesquisa. Esta pesquisa poderá identificar testes confirmatórios mais confiáveis e de fácil realização. Este fato poderá ajudar no diagnóstico e manejo futuro da doença.

05 - Procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo: A descoberta de testes confirmatórios para Hiperaldosteronismo poderá permitir o diagnóstico precoce de outros casos que possam existir na família.

06 - É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

07 - É garantido o direito do paciente em receber uma via do termo de consentimento rubricado pelo pesquisador principal;

08 - Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente;

09 - Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

10 - Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

11 - O material coletado neste projeto será armazenado no laboratório e não será descartado após o fim desta pesquisa. O tempo de armazenamento do material será autorizado pela Comissão de Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas (CAPPesq) (de acordo com a resolução 441/2011). Futuras pesquisas serão realizadas com o objetivo de compreender melhor a formação dos tumores adrenais e tentar descobrir novas formas de tratamento.

12- Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de dúvidas. O principal investigador é o Dr **MADSON QUEIROZ DE ALMEIDA** que pode ser encontrado no endereço Av. Dr Enéas de Carvalho Aguiar, 155, Telefone(s) (11) 2661-3358, e-mail madson.a@hc.fm.usp.br. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovidio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: (11) 2661-7585, (11) 2661-1548, (11) 2661-1549; e-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Fui suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo "Avaliação da eficácia dos testes da furosemida endovenosa e oral no diagnóstico do hiperaldosteronismo primário".

4

Eu discuti com o Dr. Madson Queiroz de Almeida ou pessoa (s) por ele delegadas sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo, assino este termo de consentimento e recebo uma via rubricada do pesquisador.

Assinatura do paciente/representante legal Data / /

Assinatura da testemunha Data / /

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.



Assinatura do responsável pelo estudo Data: 08/03/2019

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M F

DATA NASCIMENTO:/../

ENDEREÇO Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE

CEP: TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE: SEXO: M F

DATA NASCIMENTO:/../

ENDEREÇO: Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD (.....)

8 REFERÊNCIAS

1. Egan BM, Zhao Y, Axon RN. US trends in prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension, 1988-2008. *JAMA*. 2010;303(20):2043-50.
2. Murray CJ, Lopez AD. Measuring the global burden of disease. *N Engl J Med*. 2013;369(5):448-57.
3. Calhoun DA, Jones D, Textor S, Goff DC, Murphy TP, Toto RD, White A, Cushman WC, White W, Sica D, Ferdinand K, Giles TD, Falkner B, Carey RM; American Heart Association Professional Education Committee. Resistant hypertension: diagnosis, evaluation, and treatment: a scientific statement from the American Heart Association Professional Education Committee of the Council for High Blood Pressure Research. *Circulation*. 2008;117(25):e510-26.
4. Funder JW, Carey RM, Mantero F, Murad MH, Reincke M, Shibata H, Stowasser M, Young WF Jr. The Management of Primary Aldosteronism: Case Detection, Diagnosis, and Treatment: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(5):1889-916.
5. Hannemann A, Wallaschofski H. Prevalence of primary aldosteronism in patient's cohorts and in population-based studies - A review of the current literature. *Horm Metab Res*. 2012;44(3):157-62.

6. Douma S, Petidis K, Doumas M, Papaefthimiou P, Triantafyllou A, Kartali N, Papadopoulos N, Vogiatzis K, Zamboulis C. Prevalence of primary hyperaldosteronism in resistant hypertension: a retrospective observational study. *Lancet*. 2008;371(9628):1921-6.
7. Monticone S, D'Ascenzo F, Moretti C, Williams TA, Veglio F, Gaita F, Mulatero P. Cardiovascular events and target organ damage in primary aldosteronism compared with essential hypertension: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2018;6(1):41-50.
8. Mulatero P, Monticone S, Bertello C, Viola A, Tizzani D, Iannaccone A, Crudo V, Burrello J, Milan A, Rabbia F, Veglio F. Long-term cardio- and cerebrovascular events in patients with primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(12):4826-33.
9. Savard S, Amar L, Plouin PF, Steichen O. Cardiovascular complications associated with primary aldosteronism: a controlled cross-sectional study. *Hypertension*. 2013;62(2):331-6.
10. Hundemer GL, Curhan GC, Yozamp N, Wang M, Vaidya A. Cardiometabolic outcomes and mortality in medically treated primary aldosteronism: a retrospective cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2018;6(1):51-9.
11. Fallo F, Veglio F, Bertello C, Sonino N, Della Mea P, Ermani M, Rabbia F, Federspil G, Mulatero P. Prevalence and characteristics of the metabolic syndrome in primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(2):454-9.

12. Chen W, Li F, He C, Zhu Y, Tan W. Elevated prevalence of abnormal glucose metabolism in patients with primary aldosteronism: a meta-analysis. *Ir J Med Sci.* 2014;183(2):283-91.
13. Nishikawa T, Omura M, Saito J, Matsuzawa Y. Primary aldosteronism: comparison between guidelines of the Japanese and the US Endocrine Society. *Expert Rev Endocrinol Metab.* 2012;7(6):637-45.
14. Amar L, Baguet JP, Bardet S, Chaffanjon P, Chamontin B, Douillard C, Durieux P, Girerd X, Gosse P, Hernigou A, Herpin D, Houillier P, Jeunemaitre X, Joffre F, Kraimps JL, Lefebvre H, Ménégaux F, Mounier-Véhier C, Nussberger J, Pagny JY, Pechère A, Plouin PF, Reznik Y, Steichen O, Tabarin A, Zennaro MC, Zinzindohoue F, Chabre O. SFE/SFHTA/AFCE primary aldosteronism consensus: Introduction and handbook. *Ann Endocrinol (Paris).* 2016;77(3):179-86.
15. Maciel AAW, Freitas TC, Fagundes GFC, Petenuci J, Vilela LAP, Brito LP, Goldbaum TS, Zerbini MCN, Ledesma FL, Tanno FY, Srougi V, Chambo JL, Pereira MAA, Coelho FMA, Cavalcante ACBS, Carnevale FC, Pilan B, Pio-Abreu A, Silveira JV, Consolim-Colombo FM, Bortolotto LA, Latronico AC, Fragoso MCBV, Drager LF, Mendonca BB, Almeida MQ. Intraindividual variability of serum aldosterone and its implication for primary aldosteronism screening. *J Clin Endocrinol Metab.* 2022 Nov 22:dgac679.
16. Rossi GP, Ceolotto G, Rossitto G, Seccia TM, Maiolino G, Berton C, Basso D, Plebani M. Prospective validation of an automated chemiluminescence-based assay of renin and aldosterone for the work-up of arterial hypertension. *Clin Chem Lab Med.* 2016;54(9):1441-50.

17. Arlt W, Lang K, Sitch AJ, Dietz AS, Rhayem Y, Bancos I, Feuchtinger A, Chortis V, Gilligan LC, Ludwig P, Riester A, Asbach E, Hughes BA, O'Neil DM, Bidlingmaier M, Tomlinson JW, Hassan-Smith ZK, Rees DA, Adolf C, Hahner S, Quinkler M, Dekkers T, Deinum J, Biehl M, Keevil BG, Shackleton CH, Deeks JJ, Walch AK, Beuschlein F, Reincke M. Steroid metabolome analysis reveals prevalent glucocorticoid excess in primary aldosteronism. *JCI Insight*. 2017;2(8):e93136.
18. Vilela LAP, Almeida MQ. Diagnosis and management of primary aldosteronism. *Arch Endocrinol Metab*. 2017;61(3):305-12.
19. Morera J, Reznik Y. Management of Endocrine Disease: The role of confirmatory tests in the diagnosis of primary aldosteronism. *Eur J Endocrinol*. 2019 Feb 1;180(2):R45-R58.
20. Nanba K, Tamanaha T, Nakao K, Kawashima ST, Usui T, Tagami T, Okuno H, Shimatsu A, Suzuki T, Naruse M. Confirmatory testing in primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(5):1688-94.
21. Lim V, Guo Q, Grant CS, Thompson GB, Richards ML, Farley DR, Young WF Jr. Accuracy of adrenal imaging and adrenal venous sampling in predicting surgical cure of primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(8):2712-9.
22. Kloos RT, Gross MD, Francis IR, Korobkin M, Shapiro B. Incidentally discovered adrenal masses. *Endocr Rev*. 1995;16(4):460-84.
23. Kloos RT, Korobkin M, Thompson NW, Francis IR, Shapiro B, Gross MD. Incidentally discovered adrenal masses. *Cancer Treat Res*. 1997;89:263-92.

24. Rossi GP, Bernini G, Caliumi C, Desideri G, Fabris B, Ferri C, Ganzaroli C, Giacchetti G, Letizia C, Maccario M, Mallamaci F, Mannelli M, Mattarello MJ, Moretti A, Palumbo G, Parenti G, Porteri E, Semplicini A, Rizzoni D, Rossi E, Boscaro M, Pessina AC, Mantero F; PAPY Study Investigators. A prospective study of the prevalence of primary aldosteronism in 1,125 hypertensive patients. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48(11):2293-300.
25. Catena C, Colussi G, Lapenna R, Nadalini E, Chiuch A, Gianfagna P, Sechi LA. Long-term cardiac effects of adrenalectomy or mineralocorticoid antagonists in patients with primary aldosteronism. *Hypertension*. 2007;50(5):911-8.
26. Williams TA, Lenders JWM, Mulatero P, Burrello J, Rottenkolber M, Adolf C, Satoh F, Amar L, Quinkler M, Deinum J, Beuschlein F, Kitamoto KK, Pham U, Morimoto R, Umakoshi H, Prejbisz A, Kocjan T, Naruse M, Stowasser M, Nishikawa T, Young WF Jr, Gomez-Sanchez CE, Funder JW, Reincke M; 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; 5(9):689-99.

27. Vilela LAP, Rassi-Cruz M, Guimaraes AG, Moises CCS, Freitas TC, Alencar NP, Petenuci J, Goldbaum TS, Maciel AAW, Pereira MAA, Silva GV, Pio-Abreu A, Zerbini MCN, Cavalcante ACBS, Carnevale FC, Pilan B, Yamauchi F, Srougi V, Tanno FY, Chambo JL, Latronico AC, Mendonca BB, Fragoso MCBV, Bortolotto LA, Drager LF, Almeida MQ. KCNJ5 somatic mutation is a predictor of hypertension remission after adrenalectomy for unilateral primary aldosteronism. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism. J Clin Endocrinol Metab.* 2019;104(10):4695-4702.
28. Picado O, Whitfield BW, Khan ZF, Jeraq M, Farrá JC, Lew JI. Long-term outcome success after operative treatment for primary aldosteronism. *Surgery.* 2021;169(3):528-32.
29. Sawka AM, Young WF, Thompson GB, Grant CS, Farley DR, Leibson C, van Heerden JA. Primary aldosteronism: factors associated with normalization of blood pressure after surgery. *Ann Intern Med.* 2001;135(4):258-61.
30. Wambach G, Helber A, Bonner G, Hummerich W, Meurer KA, Kaufmann W. Spironolactone in essential hypertension associated with abnormal aldosterone regulation and in Conn's syndrome (author's transl). *Dtsch Med Wochenschr.* 1980;105(18):647-51.
31. 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(8):1243-8.

32. Nishikawa T, Omura M, Satoh F, Shibata H, Takahashi K, Tamura N, anabe A; Task Force Committee on Primary Aldosteronism, The Japan Endocrine Society. Guidelines for the diagnosis and treatment of primary aldosteronism -the Japan Endocrine Society 2009. *Endocr J.* 2011;58(9):711-21.
33. Stowasser M, Gordon RD, Gunasekera TG, Cowley DC, Ward G, Archibald C, Smithers BM. High rate of detection of primary aldosteronism, including surgically treatable forms, after 'non-selective' screening of hypertensive patients. *J Hypertens.* 2003;21(11):2149-57.
34. Mulatero P, Milan A, Fallo F, Regolisti G, Pizzolo F, Fardella C, Mosso L, Marafetti L, Veglio F, Maccario M. Comparison of confirmatory tests for the diagnosis of primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(7):2618-23.
35. Ahmed AH, Cowley D, Wolley M, Gordon RD, Xu S, Taylor PJ, Stowasser M. Seated saline suppression testing for the diagnosis of primary aldosteronism: a preliminary study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(8):2745-53.
36. Willenberg HS, Vonend O, Schott M, Gao X, Blondin D, Saleh A, Rump LC, Scherbaum WA. Comparison of the saline infusion test and the fludrocortisone suppression test for the diagnosis of primary aldosteronism. *Horm Metab Res.* 2012;44(7):527-32.

37. Rossi GP, Belfiore A, Bernini G, Desideri G, Fabris B, Ferri C, Giacchetti G, Letizia C, Maccario M, Mallamaci F, Mannelli M, Montemurro D, Palumbo G, Rizzoni D, Rossi E, Semplicini A, Agabiti-Rosei E, Pessina AC, Mantero F; PAPY Study Investigators. Prospective evaluation of the saline infusion test for excluding primary aldosteronism due to aldosterone-producing adenoma. *J Hypertens*. 2007;25(7):1433-42.
38. Rossi GP, Belfiore A, Bernini G, Desideri G, Fabris B, Ferri C, Giacchetti G, Letizia C, Maccario M, Mallamaci F, Mannelli M, Palumbo G, Rizzoni D, Rossi E, Agabiti-Rosei E, Pessina AC, Mantero F; Primary Aldosteronism Prevalence in Italy Study Investigators. Comparison of the captopril and the saline infusion test for excluding aldosterone-producing adenoma. *Hypertension*. 2007;50(2):424-31.
39. Mulatero P, Bertello C, Garrone C, Rossato D, Mengozzi G, Verhovez A, Fallo F, Veglio F. Captopril test can give misleading results in patients with suspect primary aldosteronism. *Hypertension*. 2007;50(2):e26-7.
40. Wu VC, Chang HW, Liu KL, Lin YH, Chueh SC, Lin WC, Ho YL, Huang JW, Chiang CK, Yang SY, Chen YM, Wang SM, Huang KH, Hsieh BS, Wu KD; TAIPAI Study Group. Primary aldosteronism: diagnostic accuracy of the losartan and captopril tests. *Am J Hypertens*. 2009;22(8):821-7.
41. Song Y, Yang S, He W, Hu J, Cheng Q, Wang Y, Luo T, Ma L, Zhen Q, Zhang S, Mei M, Wang Z, Qing H, Bruemmer D, Peng B, Li Q; Chongqing Primary Aldosteronism Study (COMPASS) Group. Confirmatory Tests for the Diagnosis of Primary Aldosteronism: A Prospective Diagnostic Accuracy Study. *Hypertension*. 2018;71(1):118-24.

42. Wallach L, Nyarai I, Dawson KG. Stimulated renin: a screening test for hypertension. *Ann Intern Med.* 1975;82(1):27-34.
43. Barroso WKS, Rodrigues CIS, Bortolotto LA, Mota-Gomes MA, Brandão AA, Feitosa ADM, Machado CA, Poli-de-Figueiredo CE, Amodeo C, Mion Júnior D, Barbosa ECD, Nobre F, Guimarães ICB, Vilela-Martin JF, Yugar-Toledo JC, Magalhães MEC, Neves MFT, Jardim PCBV, Miranda RD, Póvoa RMDS, Fuchs SC, Alessi A, Lucena AJG, Avezum A, Sousa ALL, Pio-Abreu A, Sposito AC, Pierin AMG, Paiva AMG, Spinelli ACS, Nogueira ADR, Dinamarco N, Eibel B, Forjaz CLM, Zanini CRO, Souza CB, Souza DDSM, Nilson EAF, Costa EFA, Freitas EV, Duarte EDR, Muxfeldt ES, Lima Júnior E, Campana EMG, Cesarino EJ, Marques F, Argenta F, Consolim-Colombo FM, Baptista FS, Almeida FA, Borelli FAO, Fuchs FD, Plavnik FL, Salles GF, Feitosa GS, Silva GVD, Guerra GM, Moreno Júnior H, Finimundi HC, Back IC, Oliveira Filho JB, Gemelli JR, Mill JG, Ribeiro JM, Lotaif LAD, Costa LSD, Magalhães LBNC, Drager LF, Martin LC, Scala LCN, Almeida MQ, Gowdak MMG, Klein MRST, Malachias MVB, Kuschnir MCC, Pinheiro ME, Borba MHE, Moreira Filho O, Passarelli Júnior O, Coelho OR, Vitorino PVO, Ribeiro Junior RM, Esporcatte R, Franco R, Pedrosa R, Mulinari RA, Paula RB, Okawa RTP, Rosa RF, Amaral SLD, Ferreira-Filho SR, Kaiser SE, Jardim TSV, Guimarães V, Koch VH, Oigman W, Nadruz W. Brazilian Guidelines of Hypertension - 2020. *Arq Bras Cardiol.* 2021;116(3):516-658.

44. Sukor N, Kogovsek C, Gordon RD, Robson D, Stowasser M. Improved quality of life, blood pressure, and biochemical status following laparoscopic adrenalectomy for unilateral primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(3):1360-4.
45. Williams B, Mancia G, Spiering W, Rosei EA, Azizi M, Burnier M, Clement DL, Coca A, de Simone G, Dominiczak A, Kahan T, Mahfoud F, Redon J, Ruilope L, Zanchetti A, Kerins M, Kjeldsen SE, Kreutz R, Laurent S, Lip GYH, McManus R, Narkiewicz K, Ruschitzka F, Schmieder RE, Shlyakhto E, Tsioufis C, Aboyans V, Desormais I. Linee guida ESC/ESH 2018 per la diagnosi e il trattamento dell'ipertensione arteriosa. Task Force per la Diagnosi e il Trattamento dell'Ipertensione Arteriosa della Società Europea di Cardiologia (ESC) e della Società Europea dell'Ipertensione Arteriosa (ESH). 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Hypertension (ESH). *G Ital Cardiol (Rome)*. 2018;19(11 Suppl 1):3S-73S.
46. Carone L, Oxberry SG, Twycross R, Charlesworth S, Mihalyo M, Wilcock A. Furosemide. *J Pain Symptom Manage.* 2016;52(1):144-50.
47. Oh SW, Han SY. Loop Diuretics in Clinical Practice. *Electrolyte Blood Press.* 2015;13(1):17-21.
48. Brown JM, Siddiqui M, Calhoun DA, Carey RM, Hopkins PN, Williams GH, Vaidya A. The Unrecognized Prevalence of Primary Aldosteronism: A Cross-sectional Study. *Ann Intern Med.* 2020;173(1):10-20.

49. Mills KT, Bundy JD, Kelly TN, Reed JE, Kearney PM, Reynolds K, Chen J, He J. Global Disparities of Hypertension Prevalence and Control: A Systematic Analysis of Population-Based Studies From 90 Countries. *Circulation*. 2016;134(6):441-50.
50. Hundemer GL, Imsirovic H, Vaidya A, Yozamp N, Goupil R, Madore F, Agharazii M, Knoll G, Sood MM. Screening Rates for Primary Aldosteronism Among Individuals With Hypertension Plus Hypokalemia: A Population-Based Retrospective Cohort Study. *Hypertension*. 2022;79(1):178-86.
51. Leung AA, Symonds CJ, Hundemer GL, Ronksley PE, Lorenzetti DL, Pasiaka JL, Harvey A, Kline GA. Performance of Confirmatory Tests for Diagnosing Primary Aldosteronism: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Hypertension*. 2022;79(8):1835-44.
52. Lin C, Yang J, Fuller PJ, Jing H, Song Y, He W, Du Z, Luo T, Cheng Q, Yang S, Wang H, Li Q, Hu J; Chongqing Primary Aldosteronism Study (CONPASS) Group. A combination of captopril challenge test after saline infusion test improves diagnostic accuracy for primary aldosteronism. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2020;92(2):131-7.
53. Heinrich DA, Adolf C, Quinkler M, Holler F, Lechner B, Nirschl N, Sturm L, Görge V, Beuschlein F, Reincke M. Safety of medical adjustment and confirmatory testing in the diagnostic work-up of primary aldosteronism. *Eur J Endocrinol*. 2019;181(4):421-8.

54. Vaidya A, Mulatero P, Baudrand R, Adler GK. The Expanding Spectrum of Primary Aldosteronism: Implications for Diagnosis, Pathogenesis, and Treatment. *Endocr Rev.* 2018;39(6):1057-88.
55. Baudrand R, Guarda FJ, Fardella C, Hundemer G, Brown J, Williams G, Vaidya A. Continuum of Renin-Independent Aldosteronism in Normotension. *Hypertension.* 2017;69(5):950-6.
56. Turcu AF, Yang J, Vaidya A. Primary aldosteronism - a multidimensional syndrome. *Nat Rev Endocrinol.* 2022;18(11):665-82.
57. Vasani RS, Evans JC, Larson MG, Wilson PW, Meigs JB, Rifai N, Benjamin EJ, Levy D. Serum aldosterone and the incidence of hypertension in nonhypertensive persons. *N Engl J Med.* 2004;351(1):33-41.
58. Newton-Cheh C, Guo CY, Gona P, Larson MG, Benjamin EJ, Wang TJ, Kathiresan S, O'Donnell CJ, Musone SL, Camargo AL, Drake JA, Levy D, Hirschhorn JN, Vasani RS. Clinical and genetic correlates of aldosterone-to-renin ratio and relations to blood pressure in a community sample. *Hypertension.* 2007;49(4):846-56.
59. Jose PA, Crout JR, Kaplan NM. Suppressed plasma renin activity in essential hypertension. Roles of plasma volume, blood pressure, and sympathetic nervous system. *Ann Intern Med.* 1970;72(1):9-16.
60. Ganguly A, Weinberger MH. Low renin hypertension: a current review of definitions and controversies. *Am Heart J.* 1979;98(5):642-52.

61. Conn JW, Cohen EL, Rovner DR, Nesbit RM. Normokalemic primary aldosteronism. a detectable cause of curable "essential" hypertension. *JAMA*. 1965;193:200-6.
62. Carey RM, Douglas JG, Schweikert JR, Liddle GW. The syndrome of essential hypertension and suppressed plasma renin activity. Normalization of blood pressure with spironolactone. *Arch Intern Med*. 1972;130(6):849-54.
63. Williams B, MacDonald TM, Morant S, Webb DJ, Sever P, McInnes G, Padmanabhan S, Brown MJ; British Hypertension Society's PATHWAY Studies Group. Spironolactone versus placebo, bisoprolol, and doxazosin to determine the optimal treatment for drug-resistant hypertension (PATHWAY-2): a randomised, double-blind, crossover trial. *Lancet*. 2015;386(10008):2059-68.
64. Yozamp N, Hundemer GL, Moussa M, Underhill J, Fudim T, Sacks B, Vaidya A. Intraindividual Variability of Aldosterone Concentrations in Primary Aldosteronism: Implications for Case Detection. *Hypertension*. 2021;77(3):891-9.