

©Borgis

\*Piotr Glinicki, Wojciech Jeske

# Diagnostyka laboratoryjna pierwotnego hiperaldosteronizmu

## Laboratory diagnostics of primary aldosteronism

Klinika Endokrynologii, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Szpital Bielański, Warszawa  
Kierownik Kliniki: prof. dr hab. med. Wojciech Zgliczyński

### Słowa kluczowe

pierwotny hiperaldosteronizm, aldosteron, renina, aktywność reninowa osocza

### Keywords

primary aldosteronism, aldosterone, renin, plasma renin activity

### Konflikt interesów

#### Conflict of interest

Brak konfliktu interesów  
None

### Adres/address:

\*Piotr Glinicki  
Klinika Endokrynologii CMKP  
Szpital Bielański  
ul. Ceglowska 80, 01-809 Warszawa  
tel. +48 (22) 56-90-293  
fax +48 (22) 834-31-31  
pglinicki@cmkp.edu.pl

### WSTĘP

Pierwotny hiperaldosteronizm (PA) należy do schorzeń nadnerczy charakteryzujących się wzmożoną produkcją aldosteronu i jak się obecnie sądzi, może dotyczyć nawet 5-10% pacjentów z nadciśnieniem tętniczym (1). Do przyczyn PA zalicza się: gruczolak kory nadnerczy produkujący aldosteron, jednostronny lub – częściej występujący – obustronny przerost kory nadnerczy (> 50% pacjentów), rak kory nadnerczy produkujący aldosteron, ektopowe wydzielanie aldosteronu przez nowotwór zlokalizowany poza nadnerczem oraz inne rzadkie rodzinne postaci hiperaldosteronizmu o podłożu genetycznym (2). Wytyczne Amerykańskiego Towarzystwa Endokrynologicznego (*The Endocrine*

### Streszczenie

Pierwotny hiperaldosteronizm (PA) należy do chorób nadnerczy i charakteryzuje się zwiększoną produkcją aldosteronu. PA jest jedną z przyczyn nadciśnienia. Obecnie przyjmuje się, że może dotyczyć 5-10% pacjentów z nadciśnieniem tętniczym. Współczynnik aldosteron / aktywność reninowa osocza (ARR) jest powszechnie uważany za najlepszy test przesiewowy w diagnostyce pierwotnego hiperaldosteronizmu. Bezpośrednie oznaczanie stężenia reniny (DRC) jest mniej pracochłonne i czasochłonne, a wyliczenie wskaźnika aldosteron / bezpośrednie stężenie reniny (ADRR) może być podobnie przydatne w badaniach przesiewowych u pacjentów z podejrzeniem PA. Pośród wielu czynników, które mogą mieć znaczący wpływ na wyniki wyżej wymienionych badań, należy brać pod uwagę: stosowane leki (niesteroidowe leki przeciwzapalne, diuretyki, steroidy, β-blokery, inhibitory ACE, doustne preparaty antykoncepcyjne), pozycję ciała, porę dnia, a także sposób pobrania krwi (tj. unikanie stazy i hemolizy), temperaturę i czas transportu próbek do laboratorium oraz zastosowane metody laboratoryjne. Stres, wysiłek fizyczny oraz ciąża mogą także wpływać na wyniki tych badań.

### Summary

Primary aldosteronism (PA) is a group of adrenal disorders characterized by increased production of aldosterone. PA is one of the causes of hypertension. Currently, it is assumed that it may affect 5-10% of patients with arterial hypertension. Plasma renin activity to aldosterone ratio (ARR) is generally considered the best screening test for primary aldosteronism. Direct determination of the renin concentration (DRC), which is less laborious and time-consuming, and the calculation of aldosterone-to-direct renin concentration ratio (ADRR) could be similarly useful for screening patients suspected of PA. There are many factors that can have an influence on these biochemical results, such as: drugs (non-steroidal anti-inflammatory drugs, diuretics, beta blockers, steroids, angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors, and oral contraceptives) body position, time of day, diet, method of blood collection (avoiding stasis and hemolysis), temperature and time of blood processing and the applied laboratory methods. Stress, exercise, and pregnancy can also affect the test results.

*Society Clinical Practice Guideline*) z 2016 roku zalecają wykonywać badania przesiewowe przede wszystkim u osób z nadciśnieniem tętniczym, u których obraz kliniczny może wskazywać na podejrzenie PA i są to pacjenci: z umiarkowanym do ciężkiego lub opornym na leczenie nadciśnieniem tętniczym, z nadciśnieniem i hipokaliemią samoistną lub indukowaną lekami moczopędnymi, nadciśnieniem towarzyszącym guzom typu *incidentaloma* nadnerczy oraz u pacjentów z wczesnym rozwojem nadciśnienia tętniczego i dodatnim wywiadem rodzinnym lub u których wystąpił udar mózgu (< 40 lat). PA jest częściej diagnozowane u pacjentów z chorobami metabolicznymi, takimi jak: otyłość i cukrzyca oraz u pacjentów z obturacyjnym bezdechem sennym (1).

**WYBRANE ZAGADNIENIA LABORATORYJNE  
DOTYCZĄCE BADAŃ MAJĄCYCH  
ZASTOSOWANIE W DIAGNOSTYCE UKŁADU  
RENINA-ANGIOTENSYNA-ALDOSTERON (RAA)**

**Aldosteron**

Krew na badanie stężenia aldosteronu zaleca się pobierać w godzinach rannych (8.00-9.00), gdyż w godzinach popołudniowych i wieczornych jego stężenie może być o 30% niższe. Krew do badania należy pobierać 2 godziny po pionizacji w warunkach ambulatoryjnych (pacjent może siedzieć, chodzić lub stać), natomiast u pacjentów hospitalizowanych krew pobiera się rano (po całonocnym spoczynku) i 2 godziny po pionizacji. Należy również pamiętać, iż krew na oznaczenie stężenia aldosteronu należy pobrać jednocześnie i w takich samych warunkach jak do pomiaru aktywności reninowej osocza (ARO) czy oznaczenia bezpośredniego stężenia reniny (ang. *direct renin concentration* – DRC) (3). Stężenia aldosteronu są średnio o około 50% niższe u pacjentów po leżeniu niż po pionizacji, co wyrażone jest również w odmiennych zakresach referencyjnych odnoszących się do postawy ciała i jej zmian. Przykładowy zakres wartości referencyjnych dla aldosteronu oznaczanego we krwi metodą radioimmunologiczną – RIA (producent zestawu: ZenTech, RIAZENco, Belgia) wynosi: po leżeniu 10-160 pg/ml, 2 godziny po pionizacji 35-300 pg/ml, natomiast dla metody immunochemiluminescencyjnej (CLIA) na analizatorze LIAISON XL (firmy DiaSorin, Włochy) wynosi: po leżeniu 18-232 pg/ml, po pionizacji 25-392 pg/ml.

U kobiet optymalnym okresem do badania stężenia aldosteronu i jego wydalania z moczem jest pierwsza połowa cyklu miesięcznego. Ponadto we krwi kobiet w okresie przedmenopauzalnym obserwuje się wyższe stężenia aldosteronu (podobnie jak progesteronu) aniżeli u kobiet po menopauzie. Uważa się, że progesteron może stymulować komórki kory nadnerczy do produkcji aldosteronu (4).

Przygotowanie pacjenta do badania polega na stosowaniu diety (100-200 mmol Na<sup>+</sup> i 60-80 mmol K<sup>+</sup>) i uzupełnieniu niedoborów potasu we krwi. Leki wpływające na stężenie aldosteronu (inhibitory konwertazy, blokery AT<sub>2</sub>, antagoniści aldosteronu, diuretyki, β-blokery, steroidy, doustne leki antykoncepcyjne, niesteroidowe leki przeciwzapalne), jeśli to możliwe, powinno się odstawić na 2-6 tygodni przed badaniem. Wpływ leków na stężenie aldosteronu, aktywności reninowej osocza/reniny i wskaźnika aldosteron / renina przedstawiono w tabeli 1. Na wyniki stężenia aldosteronu może wpływać również duża zawartość soli w diecie. Podczas ciężkich chorób stężenie aldosteronu może być niskie lub bardzo niskie, natomiast stres i nadmierny wysiłek mogą okresowo powodować wyższe stężenia aldosteronu (5).

Rutynowe oznaczenia stężenia aldosteronu wykonuje się metodami manualnymi – metodą izotopową (RIA) albo immunoenzymatyczną (ELISA). Od pewnego czasu dostępne są również oznaczenia aldosteronu na zautomatyzowanym analizatorze – metoda CLIA, a także techniką chromatograficzną (LC-MS/MS), charakteryzującą się dużą precyzją i swoistością (6-9).

**Tab. 1.** Wpływ leków na stężenie aldosteronu, ARO i wskaźnika ARR (59, 60)

Grupa leków	Aldosteron	ARO	ARR
leki β-adrenolityczne, α <sub>2</sub> -agoniści	↓/-	↓↓	-/↑
niesteroidowe leki przeciwzapalne	↑	↓↓	↑
diuretyki	↑	↑↑	↓
dihydropirydynowi antagoniści kanału Ca	↑	↑↑	↓
inhibitory konwertazy A II i antagoniści receptorów AT <sub>2</sub>	↓	↑↑↑	↓
progestageny	↑	↑↑	↓
Odstawić na co najmniej 4 tygodnie: spironolakton, eplerenon, amilorid, triamteren, diuretyki zwiększające utratę potasu, preparaty zawierające lukrecję			
Odstawić na 2 tygodnie: – β-blokery, agoniści receptora adrenergicznego α <sub>2</sub> (klonidyna, metyldopa) – niesteroidowe leki przeciwzapalne, inhibitory ACE – blokery receptora angiotensynowego, inhibitory reniny – blokery kanału wapniowego pochodne dihydropirydyny			
Leki o możliwe najmniejszym wpływie na układ RAA: – werapamil (o powolnym uwalnianiu) – prazosyna – doksazosyna – terazosyna			

Stężenie aldosteronu może być oznaczane we krwi (w surowicy lub w osoczu EDTA<sub>2</sub>K) oraz w moczu. Wyniki aldosteronu mogą różnić się w zależności od tego, czy oznaczamy stężenie aldosteronu w osoczu EDTA<sub>2</sub>K, czy w surowicy, zatem należy stosować jeden rodzaj materiału biologicznego do badania i odnosić odpowiednie zakresy referencyjne do stosowanego materiału. Zlecając badanie wydalania metabolitów aldosteronu w dobowej zbiorce moczu (pochodne glukuronianowe), należy poinformować pacjenta, że zebrany mocz trzeba zakwaszyć kwasem borskim (1 g na 100 ml), natomiast przed wykonaniem samego oznaczenia należy przeprowadzić hydrolizę (kwaśną lub enzymatyczną) zgodnie z zaleceniami producenta zestawu odczynnikowego (10).

Wyniki stężenia aldosteronu we krwi mogą być wyrażone w pg/ml, ng/dl lub pmol/l. Przeliczenie stężenia aldosteronu we krwi z pg/ml x 2,77 = stężenie aldosteronu wyrażone w pmol/l (1 pg/ml = 2,77 pmol/l). Wydalanie aldosteronu z moczem (DZM) wyrażone jest zwykle w μg/24 h. Górny zakres podawanych wartości referencyjnych dla metody RIA i CLIA wynosi ok. 28-30 μg/24 h. Jednak ilość wydalanego aldosteronu z moczem ≥ 12-14 μg/24 h traktowana jest już jako wartość podejrzana (wynik określa się jako „szarą strefę”) i wymaga dalszej szczegółowej diagnostyki (11). Można również wyliczyć wskaźnik aldosteron / kreatynina, wynik > 3,0 ng/mg wykazywał 91% specyficzności u 102 pacjentów z potwierdzonym pierwotnym hiperaldosteronizmem względem pacjentów z samoistnym nadciśnieniem, natomiast czułość tego wskaźnika wynosiła 51% i była podobna do czułości oznaczania stężenia aldosteronu w DZM (44%) (12).

Oznaczanie wydalania aldosteronu z moczem wraz z wyznaczeniem wskaźników ARR (ang. *aldosterone-to-renin ratio*) albo ADRR (ang. *aldosterone-to-direct renin ratio*) w wielu ośrodkach należy do badań przesiewowych. Ponadto, część badaczy uważa, że badanie wydalania aldosteronu z moczem jest lepszym wskaźnikiem w diagnostyce niż pojedyncze oznaczenie stężenia aldosteronu we krwi. Według innych czułość tego oznaczenia jest podobna do oznaczenia stężenia w osoczu lub surowicy. Jednak sama czułość oznaczania wydalania aldosteronu z moczem w diagnostyce przesiewowej jest znacznie mniejsza niż wskaźników ARR i ADRR. Ograniczeniem tego badania może być także nieprawidłowo przeprowadzona dobową zbiórka moczu (13, 14).

### Aktywność reninowa osocza vs. bezpośrednie oznaczenie stężenia reniny

W diagnostyce układu RAA renina może być oznaczana w dwojaki sposób: jako bezpośrednie badanie stężenia białka (DRC) lub jako aktywność enzymatyczna (proteolityczna) – aktywność reninowa osocza (ARO). ARO rutynowo oznacza się metodą RIA. Zasadą metody jest pomiar ilości angiotensyny I wytworzonej w temp. 37°C pod wpływem reniny obecnej w osoczu względem endogennej angiotensyny I zmierzonej w próbce pozostawionej w +4°C. Wynik wyraża się w ng/ml/h (15, 16). ARO można również oznaczyć techniką LC-MS/MS (17). Stężenie reniny oznacza się rutynowo metodami manualnymi: metodą immunoradiometryczną (IRMA), metodą ELISA i CLIA. Dostępna jest również metoda CLIA na zautomatyzowanym analizatorze LIAISON lub LIAISON XL firmy DiaSorin. W metodach tych wykorzystuje się dwa przeciwciała monoklonalne, z których jedno jest specyficzne dla reniny, drugie natomiast dla reniny i aktywnej proreniny.

Wyniki stężenia reniny wyraża się w mU/L, ng/L, pg/ml lub  $\mu$ IU/ml. Korzystając z przelicznika, można przeliczyć stężenie DRC z pg/ml (ng/L) na mU/L (1 pg/ml = 1,67 mU/L). Wyniki aktywności reninowej osocza wyrażone w ng/ml/h = 12,8 x pmol/l/min (1 ng/ml/h = 12,8 pmol/l/min) (18, 19).

Krew na oznaczenie aktywności reninowej osocza czy stężenia reniny zaleca się pobierać w tych samych warunkach i czasie co próbki na oznaczenie stężenia aldosteronu. Wartości aktywności reninowej osocza oraz DRC zależą od: sposobu pobrania krwi, pozycji ciała i czasu trwania pionizacji. Przykładowe zakresy referencyjne dla ARO oznaczanej techniką RIA (producent zestawu CIS Bio Int., Francja) wynoszą: po leżeniu – 0,2-2,8 ng/ml/h, 2 godziny po pionizacji – 1,5-5,7 ng/ml/h. Natomiast przykładowe zakresy referencyjne dla reniny oznaczanej metodą IRMA (producent zestawu CIS Bio Int., Francja) wynoszą: po leżeniu – 3,6-20,1 pg/ml (20-40 lat) i 1,1-20,2 pg/ml (40-60 lat), 2 godziny po pionizacji – 5,1-38,7 pg/ml (20-40 lat) i 1,8-59,4 (40-60 lat) (20, 21).

Oznaczanie stężenia reniny jako białka (DRC) czy jako aktywności (ARO) nie jest tożsame i wnosi do dia-

gnostyki różne informacje. DRC oznaczane przy pomocy metod immunochemicznych pozwala na stwierdzenie obecności reniny i aktywnej formy proreniny w osoczu. Natomiast oznaczanie ARO pozwala nam oznaczyć aktywność biologiczną (enzymatyczną) w reakcji przekształcania angiotensynogenu do angiotensyny I katalizowanej przez reninę, czyli pozwala pośrednio oznaczyć reninę, aktywną formę proreniny i angiotensynogen. Korelacja wyników DRC i ARO u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym i osób zdrowych jest dobra, natomiast zanika u pacjentów z niskimi wartościami ARO czy DRC (22, 23).

Przydatna byłaby możliwość porównania wyników ARO oraz stężenia reniny, ale kwestia opracowania współczynników umożliwiających konwersję ARO do DRC jest nadal otwarta i nie ma jeszcze spójnego stanowiska w tej sprawie. Problem wynika przede wszystkim ze słabej korelacji między ARO i DRC, zwłaszcza gdy wyniki ARO są na granicy oznaczalności (0,1-0,3 ng/ml/h) lub jest ona istotnie obniżona (< 1 ng/ml/h), co ma istotne znaczenie w diagnostyce endokrynologicznej. Dodatkową trudność wiąże się ze stosowaniem różnych technik pomiarowych i zestawów odczynnikowych (24). Obecnie przyjmuje się, iż wartości na granicy oznaczalności ARO, tj. 0,2-0,3 ng/ml/h, odpowiadają stężeniu reniny ok. 1,2 ng/L (2 mU/L), natomiast wartości ARO 0,5 ng/ml/h – stężeniu DRC ok. 5 ng/L (8,2 mU/L). Według niektórych opracowań faktor 8,2 umożliwia przeliczenie ARO (ng/ml/h) na stężenie reniny (mU/L). Natomiast według innych prac, wartości ARO ok. 1 ng/ml/h odpowiada stężeniu DRC ok. 7,6 ng/L (12 mU/L), jeżeli stężenie reniny jest oznaczane metodą zautomatyzowaną (analizator LIAISON X/XL, firma DiaSorin) (1, 25, 26).

Dla wiarygodności wyników ARO i stężenia reniny bardzo istotny jest sposób postępowania przedanalizacyjnego, tj. sposób pobrania krwi (rodzaj antykoagulantu), jej transportu i wirowania (czas i warunki: w temp. pokojowej vs. w temp. +4°C). Optymalnie próbki na oznaczenie ARO powinny być pobrane do probówek zawierających EDTA<sub>2</sub>K; po pobraniu powinny być jak najszybciej (< 30 min) transportowane do laboratorium w lodzie, a następnie wirowane w wirówce z chłodzeniem. Są doniesienia wskazujące, że próbki na oznaczenie ARO mogą ewentualnie być transportowane i wirowane w temperaturze pokojowej, ale łączny czas do zamrożenia próbki nie powinien być dłuższy niż 30 minut (27). Natomiast próbki, w których oznaczone jest stężenie reniny, powinny być pobierane również do probówek z EDTA<sub>2</sub>K i możliwie szybko transportowane w warunkach temperatury otoczenia do laboratorium (optymalnie < 30 min, ale nie dłużej niż 2 godziny) oraz wirowane w wirówce bez chłodzenia. Bez względu na to zaleca się, aby w obu postępowaniach jak najszybciej zamrozić osocze (-30 do -80°C) do czasu wykonania oznaczeń. Należy również pamiętać o tym, że nie należy zbyt długo przechowywać próbek w stanie zamrożenia (optymalnie 2-3 tygodnie, maks. < 1 miesiąc). W przypadku oznaczenia stężenia reniny

w osoczu metodą zautomatyzowaną na analizatorze immunochemicznym, po odwirowaniu próbki krwi zaleca się wykonać oznaczenie w trybie *cito* (STAT) (28, 29). Hemoliza występująca w badanej próbce dyskwalifikuje ją do oznaczenia ze względu na to, że krwinki czerwone zawierają enzymy (angiotensynazy) rozkładające angiotensynę. Należy również unikać ponownego zamrażania i rozmrażania, gdyż może to doprowadzić do krioaktywacji proreniny w reninę. Krioaktywacja nie zachodzi w próbkach głęboko zamrożonych oraz podczas szybkiego zamrożenia lub rozmrożenia. Sposób postępowania z próbkami jest uzależniony od różnych czynników *in vitro* mogących wpływać na stężenie czy aktywność badanych parametrów. Stężenie proreniny jest zwykle około 10 razy większe w osoczu niż stężenie reniny. W przypadku pierwotnego hiperaldosteronizmu, stężenie proreniny może wzrosnąć nawet 100-krotnie przy niskim stężeniu reniny (30-32). Prorenina we krwi występuje w dwóch różnych konformacjach: konformacji zamkniętej (98%) – nieaktywnej, natomiast ok. 2% proreniny występuje w formie otwartej – aktywnej enzymatycznie (33, 34). Zjawisko krioaktywacji proreniny w reninę zachodzi, gdy próbka osocza jest oziębiona między -5 a +4°C (35). Zjawisko to aktywuje działanie proteaz osoczowych na cząsteczkę białka, czego rezultatem jest nieodwracalne powstanie reniny w warunkach *in vitro*. Natomiast spontaniczna aktywacja proreniny zachodzi w przeciągu 8 godzin w temperaturze pokojowej (29). Zatem po pobraniu krwi należy niezwłocznie ją odwirować, a próbkę osocza szybko zamrozić w celu zminimalizowania konwersji proreniny w konformację otwartą, która rozpoznawana jest przez przeciwciała stosowane w oznaczeniach immunochemicznych jako renina (28).

Zarówno u mężczyzn, jak i u kobiet powyżej 50. roku życia należy uwzględnić fakt, iż wydzielanie reniny spada wraz z wiekiem i może prowadzić do otrzymywania fałszywie dodatnich wskaźników aldosteronu / renina. Podczas ciąży stężenie aldosteronu i ARO wzrasta (36).

Dalszy rozwój metod immunochemicznych pozwalających oznaczyć jednocześnie stężenie reniny (DRC) i aldosteronu umożliwi w przyszłości ich międzynarodową standaryzację. Oznaczenia na zautomatyzowanym analizatorze znacznie skracają czas oczekiwania na wyniki, co przynosi również korzyści ekonomiczne (37).

### Wskaźnik aldosteronu / renina

W diagnostyce pierwotnego hiperaldosteronizmu, obok obrazu klinicznego i badań obrazowych należy wykazać w badaniach biochemicznych nadmierne wydzielanie aldosteronu z równocześnie występującą nieoznaczalną lub znacznie obniżoną aktywnością reninową osocza lub niskim stężeniem reniny.

Wskaźnik aldosteronu / ARO został wprowadzony do diagnostyki biochemicznej przez Hiramatsu i wsp. w 1981 roku (38, 39). Wskaźnik ten obecnie traktowany jest jako test przesiewowy u pacjentów z podejrzeniem pierwotnego hiperaldosteronizmu, niezależnie od etiopatogenezy. Czułość i specyficzność tego parametru wynosząca odpowiednio 64-100% i 87-100% jest wyż-

sza w porównaniu z innymi badaniami: stężeniem potasu oraz aldosteronu we krwi i wydalaniem aldosteronu z moczem (40-42). Jednakże czułość wskaźnika aldosteronu / renina jest uzależniona od stosowanej metodologii oznaczenia, całego szeregu czynników fazy przedanalizacyjnej (laboratoryjnych) oraz sposobu przygotowania pacjenta do badania. Podkreśla się, że wskaźnik ARR wykazuje wysoką ujemną wartość predykcyjną (ok. 100%) pozwalającą wykluczyć pacjentów z gruczolakiem produkującym aldosteron (44). W związku z możliwością oznaczenia zarówno ARO, jak i stężenia reniny – wskaźnik ten może przyjąć dwie formy: aldosteronu / aktywność reninowa osocza (ARR) lub aldosteronu / bezpośrednie stężenie reniny (ADRR). Wskaźnik ARR najczęściej wylicza się jako stężenie aldosteronu (ng/dl) do aktywności reninowej osocza (ng/ml/h). Natomiast wskaźnik ADRR można przykładowo obliczyć, wyrażając stosunek stężenia aldosteronu do stężenia reniny (oba badania wyrażone w pg/ml) lub stężenie aldosteronu (pmol/l) do stężenia reniny ( $\mu$ U/ml), ten ostatni może być użyteczny przy oznaczaniu stężenia reniny i aldosteronu na analizatorze LIAISON XL firmy DiaSorin.

Wartości wskaźnika na podstawie licznych prac mogą wynosić od 10 do 100 lub wyższych (45). Jednak większość badaczy przyjmuje wartości wskaźników w zakresie 20-40 i taki wynik wymaga dalszych badań potwierdzających (46, 47). Dodatkowym ważnym kryterium diagnostycznym jest wynik stężenia aldosteronu. Obecnie uważa się, że wynik stężenia aldosteronu > 10-15 ng/dl przy obniżonym ARO lub niskiej reninie można uznać za nieprawidłowy (48), choć w niektórych pracach zwrócono uwagę, że u części pacjentów zarówno z obustronnym przerostem nadnerczy, jak i gruczolakiem produkującym aldosteron wyniki stężenia aldosteronu były poniżej 10-15 ng/dl (1). Przed wykonaniem badań umożliwiających wyliczenie wskaźników należy uzupełnić niedobory potasu i odstawić leki mogące wpływać na układ RAA (49).

Wartości wskaźnika ARR czy ADRR są wyższe w godzinach porannych niż popołudniu i wieczorem, co jest związane z większymi zmianami stężenia reniny, ARO i aldosteronu w odpowiedzi na zmiany pozycji ciała (50, 51). Ważną kwestią w interpretacji badań jest płeć pacjenta. U kobiet obserwuje się wyższe wartości wskaźnika ARR i ADRR niż u mężczyzn. Estrogeny powodują wzrost stężenia angiotensynogenu i zmniejszają stężenie reniny. Stosowanie tabletek antykoncepcyjnych lub preparatów stosowanych w hormonalnej terapii zastępczej zawierających estrogeny może przyczynić się do zmniejszenia stężenia reniny i fałszywie dodatnich wyników wskaźnika ADRR, co rzadziej obserwuje się przy wskaźniku ARR. W fazie lutealnej cyklu miesięcznego stężenie reniny jest niskie, natomiast stężenie aldosteronu, ARO i wskaźnika ARR jest wyraźnie zwiększone, zatem zaleca się wykonanie diagnostyki biochemicznej w pierwszej fazie cyklu (52-55). W przewlekłych chorobach nerek możemy spodziewać się fałszywie dodatnich wyników wskaźnika ARR (36).

W innych sytuacjach klinicznych też możemy otrzymywać fałszywie dodatnie albo fałszywie ujemne wyniki wskaźników ARR, co przedstawiono w tabeli 2.

**Tab. 2.** Różne sytuacje kliniczne, w których można obserwować fałszywie dodatnie lub fałszywie ujemne wyniki wskaźnika ARR (2, 36)

↑ Aldosteron ↑ Renina
<ul style="list-style-type: none"> <li>- ciąża</li> <li>- nadciśnienie naczyniowo-nerkowe</li> <li>- faza złośliwa nadciśnienia</li> <li>- przy ograniczonej podaży sodu</li> <li>- po stosowaniu leków moczopędnych</li> </ul>
↓ Aldosteron ↓ Renina
<ul style="list-style-type: none"> <li>- podeszły wiek</li> <li>- upośledzona czynność nerek</li> <li>- czynnik etniczny (Afrykanie)</li> <li>- zaawansowana cukrzyca</li> </ul>

### Inne badania laboratoryjne

W pierwotnym hiperaldosteronizmie możemy obserwować: hipokaliemię, zwiększone wydalanie potasu z moczem (> 30 mmol/24 h) nieadekwatne do niskiego stężenia potasu we krwi, prawidłowe stężenie sodu (górną granicę wartości referencyjnych) lub hipernatremię, hipomagnezemię, zasadowicę metaboliczną oraz u niektórych pacjentów zaburzenia metaboliczne (cukrzycę, otyłość).

**Tab. 3.** Testy potwierdzające rozpoznanie pierwotnego hiperaldosteronizmu (1, 2)

Nazwa testu	Procedura	Interpretacja	Uwagi
Test hamowania diety z dużą zawartością sodu	Dieta o zawartości sodu > 200 mmol (ok. 6 g) przez 3 dni, potwierdzona wydalaniem sodu z moczem (24 h). Dodatkowo pacjent powinien otrzymywać roztwór KCl wyrównujący stężenie potasu we krwi. Dobową zbiórkę moczu przeprowadza się między 3. a 4. dniem.	Wydalanie metabolitów aldosteronu z moczem: > 12-14 $\mu\text{g}/24\text{ h}$ duże prawdopodobieństwo PA, < 10 $\mu\text{g}/24\text{ h}$ – małe prawdopodobieństwo PA (wykluczyć choroby nerek).	Badanie wykonywane jest w 3. dobie testu. Test nie jest zalecany u pacjentów z niekontrolowanym nadciśnieniem, niewydolnością nerek, arytmia serca, ciężką hipokaliemią. Niektóre z metabolitów (np. 18-okso-glukuronian aldosteronu) w związku ze współistniejącą chorobą nerek mogą nie ulec ekstrakcji i może być problem z ich oznaczeniem.
Test hamowania 0,9% roztworem NaCl	2000 ml 0,9% NaCl <i>i.v.</i> 4 h (rano 8.00-9.00) – pacjent pozostaje w pozycji leżącej 1 godzinę przed testem i w trakcie jego trwania. Należy monitorować ciśnienie krwi i tętno przed testem i w trakcie jego trwania. Krew na oznaczenie stężenia aldosteronu, reniny, kortyzolu i potasu pobiera się przed podaniem wlewu i po zakończeniu testu. Opisano modyfikację testu, polegającą na zmianie pozycji ciała na siedzącą przez ostatnie 30 minut testu (większa czułość).	Stężenie aldosteronu we krwi: > 10 ng/dl – duże prawdopodobieństwo PA, 5-10 ng/dl – wynik nieokreślony, < 5 ng/dl – małe prawdopodobieństwo PA.	Test nie jest zalecany u pacjentów z ciężkim, niekontrolowanym nadciśnieniem tętniczym, niewydolnością nerek, arytmia serca, ciężką hipokaliemią.
Test z fludrokortyzonem	0,1 mg fludrokortyzonu <i>p.o.</i> co 6 h przez 4 dni, łącznie z suplementacją KCl wyrównującym stężenie potasu w surowicy (ok. 4,0 mmol/l) i NaCl (wydalanie sodu z moczem 3 mmol/kg/24 h). Czwartego dnia testu krew na oznaczenie stężenia aldosteronu i ARO pobiera się rano ok. 10.00 w pozycji siedzącej, natomiast krew na oznaczenie stężenia kortyzolu w godzinach 7.00-8.00.	Stężenie aldosteronu i ARO oznaczone w 4. dniu (ok. 10.00) w pozycji siedzącej i stężenie kortyzolu (7.00-8.00): aldosteron > 6 ng/dl, ARO < 0,1 ng/ml/h, stężenie kortyzolu o 10.00 niższe niż o godzinie 7.00 – duże prawdopodobieństwo PA.	– Czuły test potwierdzający PA. – Oznaczyć stężenie ACTH.
Test z kaptoprylem	25-50 mg kaptoprylu <i>p.o.</i> Pacjent pozostaje w pozycji stojącej lub siedzącej 1 godzinę przed testem. Krew na oznaczenie ARO, stężenia aldosteronu i kortyzolu pobiera się przed przyjęciem leku i 1 lub 2 godziny po podaniu. Pacjent powinien siedzieć w trakcie trwania testu.	W warunkach fizjologicznych obniżenie stężenia aldosteronu o > 30%. W PA stężenie aldosteronu podwyższone i niezmiennie w stosunku do wartości wyjściowych, natomiast ARO zahamowana – bez zmian do wartości wyjściowej.	Możliwe otrzymanie wyników fałszywie ujemnych lub niejednoznacznych.

Nadciśnienie tętnicze w PA dość często przebiega z prawidłowym stężeniem potasu we krwi. Hipokaliemię stwierdza się u 9-37% pacjentów z PA i najczęściej dotyczy pacjentów z ciężką postacią. Niskie stężenie potasu może wystąpić spontanicznie lub ujawnić się po lekach moczopędnych. Hipokaliemia < 3,5 mmol/l występuje u ok. 50% pacjentów z gruczolakami produkującym aldosteron i u ok. 17% pacjentów z przerostem guzkowym kory nadnerczy (56, 57).

Oznaczenie stężenia sodu i potasu w dobowej zbiórce moczu może być przydatne do oceny zawartości tych pierwiastków w organizmie oraz diagnostyce ewentualnie współistniejącej choroby nerek. Należy pamiętać, że wyniki te należy interpretować łącznie z wynikami oznaczeń przeprowadzonych we krwi.

### Testy potwierdzające

U pacjentów, u których wartości wskaźników ARR i ADRR są powyżej punktu odcięcia (np. wartość wskaźnika ARR 20-40), wskazane jest wykonanie jednego z czterech testów potwierdzających (1, 58):

- test hamowania dietą z dużą zawartością sodu,
- test hamowania roztworem 0,9% NaCl,
- test z fludrokortyzonem,
- test z kaptoprylem.

Procedura przeprowadzenia testu i interpretacja wyników została przedstawiona w tabeli 3.

**Czynniki, które należy uwzględnić podczas interpretacji wyników badań biochemicznych:**

- pora dnia,
- dieta,
- płeć i wiek,
- pozycja ciała (zmiana pozycji i czas jej trwania),
- stosowane leki,

- stężenie potasu i kreatyniny,
- sposób postępowania z próbkami krwi, warunki i czas ich transportu do laboratorium oraz rodzaj stosowanej metody analitycznej,
- stosowanie stazy i wszelkie trudności podczas pobrania powinny być wyjaśnione (próbki dyskwalifikuje hemoliza) (1).

## PIŚMIENNICTWO

1. Funder JW, Carey RM, Mantero F et al.: The management of primary aldosteronism: case detection, diagnosis, and treatment: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2016; 101: 1889-1916.
2. Słowińska-Szednicka J: Pierwotny hiperaldosteronizm. [W:] Zgliczyński W (red.): Wielka Interna. Endokrynologia część II. Wyd. Medical Tribune Polska, Warszawa 2011: 480.
3. Neumeister B, Besenthal I, Bohm BO: Diagnostyka laboratoryjna. Poradnik kliniczny. Wyd. II. Wyd. Elsevier Urban & Partner, Wrocław 2013: 352-356.
4. Szumiłowicz ED, Adler DK, Williams JS et al.: Relationship between aldosterone and progesterone in the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 3981-3987.
5. Stowasser M, Ahmed AH, Pimenta E et al.: Factors affecting the aldosterone/renin ratio. *Horm Metab Res* 2012; 44: 170-176.
6. Schirpenbach C, Seiler L, Maser-Gluth Ch et al.: Automated chemiluminescence-immunoassay for aldosterone during dynamic testing: comparison to radioimmunoassay with and without extraction steps. *Clin Chem* 2006; 52: 1749-1755.
7. Taylor PJ, Cooper DP, Gordon RD et al.: Measurement of aldosterone in human plasma by semiautomated HPLC-tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 2009; 55: 1155-1162.
8. Ray JA, Kushnir MM, Palmer J et al.: Enhancement of specificity of aldosterone measurement in human serum and plasma using 2D-LC-MS/MS and comparison with commercial immunoassays. *J Chromatogr B* 2014; 970: 102-107.
9. Belaidi N, Georges A, Brossaud J et al.: Aldosterone determination: comparison of RIA assay and a CLIA assay. *Clin Biochem* 2015; 48(1-2): 89-92.
10. Cartledge S, Lawson N: Aldosterone and renin measurements. *Ann Clin Biochem* 2000; 37: 262-278.
11. Raizman JE, Diamandis EP, Holmes D et al.: A renin-essence in primary aldosteronism testing: obstacles and opportunities for screening, diagnosis and management. *Clin Chem* 2015; 61: 1022-1027.
12. Wu CH, Yang YW, Hu YH et al.: Comparison of 24 h urinary aldosterone level and random urinary aldosterone to creatinine ratio in the diagnosis of primary aldosteronism. *PLoS One* 2013; 8: e67417.
13. Charloux A, Gronfier C, Lonsdorfer-Wolf E et al.: Aldosterone release during the sleep-wake cycle in humans. *Am J Physiol* 1999; 276: 43-49.
14. Mourad JJ, Girerd X, Milliez P et al.: Urinary aldosterone to active renin ratio: a useful tool for predicting resolution of hypertension after adrenalectomy in patients with aldosterone-producing adenomas. *Am J Hypertens* 2008; 21: 742-747.
15. Sztęfko K: Badania laboratoryjne u chorych z nadciśnieniem tętniczym. *Arterial Hypert* 2009; 13: 120-130.
16. Cavalier E, Delanaye P, Krzesinski JM et al.: Analytical variation in plasma renin activity: implications for the screening of primary aldosteronism. *Clin Chem* 2007; 53: 803-804.
17. Bystrom CE, Salameh W, Reitz R et al.: Plasma renin activity by LC-MS/MS: development of a prototypical clinical assay reveals a subpopulation of human plasma samples with substantial peptidase activity. *Clin Chem* 2010; 56: 1561-1569.
18. Kline GA: Primary aldosteronism: unnecessary complexity in definition and diagnosis as a barrier to wider clinical care. *Clin Endocrinol* 2015; 82: 779-784.
19. Medeau V, Moreau F, Trinquart L et al.: Clinical and biochemical characteristics of normotensive patients with primary aldosteronism: a comparison with hypertensive cases. *Clin Endocrinol* 2008; 69: 20-28.
20. Locsei Z, Racz K, Patocs A et al.: Influence of sampling and storage conditions on plasma renin activity and plasma renin concentration. *Clin Chim Acta* 2009; 402: 203-205.
21. Sealey JE, Gordon RD, Mantero F: Plasma renin and aldosterone measurements in low renin hypertensive states. *Trends Endocrinol Metab* 2005; 16: 86-91.
22. Brossaud J, Corcuff JB: Pre-analytical and analytical considerations for the determination of plasma renin activity. *Clin Chim Acta* 2009; 410: 90-92.
23. Hartman D, Sagnella DA, Chesters ChA et al.: Direct renin assay and plasma renin activity assay compared. *Clin Chem* 2004; 11: 2159-2161.
24. Kerstens MN, Muller-Kobold AC, Volmer M et al.: Reference values aldosterone-renin ratios in normotensive individuals and effect of changes in dietary sodium consumption. *Clin Chem* 2011; 57: 1607-1611.
25. Funder JW, Carey RM, Fardella C et al.: Case detection, diagnosis and treatment of patients with primary aldosteronism: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 3266-3281.
26. Stowasser M, Gordon RD: The aldosterone-renin ratio for screening for primary aldosteronism. *Endocrinologist* 2004; 14: 267-276.
27. Glinicki P, Jeske W, Gietka-Czernel M et al.: The effect of blood collection procedure on plasma renin activity (PRA) and concentrations of direct renin (DRC) and aldosterone. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2015; 16: 339-343.
28. Campbell DJ, Nussberger J, Stowasser M et al.: Activity assays and immunoassays for plasma renin and prorenin: information provided and precautions necessary for accurate measurement. *Clin Chem* 2009; 55: 867-877.
29. Pitarresi TM, Rubattu S, Heinrich R et al.: Reversible cryoactivation of recombinant human prorenin. *J Biol Chem* 1992; 267: 11753-11759.
30. Nussberger J, de Gasparo M, Juillerat L et al.: Rapid measurement of total and active renin: plasma concentrations during acute and sustained converting enzyme inhibition with CGS 14824A. *Clin Exp Hypertens A* 1987; 9: 1353-1366.
31. Campbell DJ, Kladis A, Skinner SL et al.: Characterization of angiotensin peptides in plasma of anephric men. *J Hypertens* 1991; 9: 265-274.
32. Sealey JE, Blumenfeld J, Laragh JH: Prorenin cryoactivation as a possible cause of normal renin levels in patients with primary aldosteronism. *J Hypertens* 2005; 23: 459-460.
33. Campbell DJ: Interpretation of plasma renin concentration in patients receiving aliskiren therapy. *Hypertens* 2008; 51: 15-18.
34. Derx FH, Kladis A, Skinner SL et al.: Two-step prorenin – renin conversion. Isolation of an intermediary form of activated prorenin. *J Biol Chem* 1987; 262: 2472-2477.
35. Sealey JE, Moon C, Laragh JH et al.: Plasma prorenin: cryoactivation and relationship to renin substrate in normal subjects. *Am J Med* 1976; 61: 731-738.
36. Douillard C, Houillier P, Nussberger J, Girerd X: SFE/SFHTA/AFCE consensus of primary aldosteronism, part 2: first diagnostic step. *Ann Endocrinol (Paris)* 2016 Jul; 77(3): 192-201.
37. De Bruin RA, Bouhuizen A, Diderich S et al.: Validation of a new automated renin assay. *Clin Chem* 2004; 50(11): 2111-2116.
38. Hiramatsu K, Yamada T, Yukimura Y et al.: A screening test to identify aldosterone-producing adenoma by measuring plasma renin activity. Results in hypertensive patients. *Arch Intern Med* 1981; 141: 1589-1593.
39. Padfield PL: Prevalence and role of a raised aldosterone to renin ratio in the diagnosis of primary aldosteronism: a debate on the scientific logic of the use of the ratio in practice. *Clin Endocrinol* 2003; 59: 422-426.
40. Stowasser M, Gordon RD, Gunasekera TG et al.: High rate of detection of primary aldosteronism, including surgically treatable forms, after 'non-selective' screening of hypertensive patients. *J Hypertens* 2003; 21: 2149-2157.
41. McKenna TJ, Sequeira SJ, Heffernan A et al.: Diagnosis under random conditions of all disorders of the renin-angiotensin-aldosterone axis, including primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 73: 952-957.
42. Bernini G, Moretti A, Orlandini C et al.: Plasma and urine aldosterone to plasma renin activity ratio in the diagnosis of primary aldosteronism. *J Hypertens* 2008; 26: 981-989.
43. Fischer E, Reuschl S, Quinkler M et al.: Assay characteristics influence the aldosterone to renin ratio as a screening tool for primary aldosteronism: results of the German Conn's Registry. *Horm Metab Res* 2013; 45: 526-531.
44. Ducher M, Mounier-Vehier C, Baguent JP et al.: Aldosterone to renin ratio for diagnosing aldosterone-producing adenoma: a multicentre study. *Arch Cardiovasc Dis* 2012; 105: 623-630.

45. Tiu S-Ch, Choi Ch-H, Shek Ch-Ch et al.: The use of aldosterone-renin ratio as a diagnostic test for primary hyperaldosteronism and its test characteristics under different conditions of blood sampling. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 72-78.
46. Kaplan NM: The current epidemic of primary aldosteronism: causes and consequences. *J Hypertens* 2004; 22: 863-869.
47. Glinicki P, Jeske W, Bednarek-Papierska L et al.: The ratios of aldosterone/plasma renin activity (ARR) versus aldosterone/direct renin concentration (ADRR). *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2015; 16: 1298-1305.
48. Stowasser M, Taylor PJ, Piment E et al.: Laboratory investigation of primary aldosteronism. *Clin Biochem Rev* 2010; 31: 39-55.
49. Rehan M, Raizman JE, Cavalier E et al.: Laboratory challenges in primary aldosteronism screening and diagnosis. *Clin Biochem* 2015; 48: 377-387.
50. Gordon RD, Wolfe LK, Island DP et al.: A diurnal rhythm in plasma renin activity in men. *J Clin Invest* 1966; 45: 1587-1592.
51. Gordon RD: The challenge of more robust and reproducible methodology in screening for primary aldosteronism. *J Hypertens* 2004; 22: 251-255.
52. Ahmed AH, Gordon RD, Taylor PJ et al.: Are women more at risk of false-positive primary aldosteronism screening and unnecessary suppression testing than men. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: E340-346.
53. Fommel E, Ghione S, Ripoli A et al.: The ovarian cycle as a factor of variability in the laboratory screening for primary aldosteronism in women. *J Hum Hypertens* 2009; 23: 130-135.
54. Gray MJ, Strausfeld KS, Watanabe M et al.: Aldosterone secretory rates in the normal menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1968; 28: 1269-1275.
55. Katz FH, Romfh P: Plasma aldosterone and renin activity during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1972; 34: 819-821.
56. Rossi GP, Bernini G, Caliumi C et al.: A prospective study of the prevalence of primary aldosteronism in 1,125 hypertensive patients. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 2293-2300.
57. Mulatero P, Stowasser M, Loh KC et al.: Increased diagnosis of primary aldosteronism, including surgically correctable forms in centers from five continents. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 1045-1050.
58. Stowasser M: Update in primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 3623-3630.
59. Myśliwiec J, Górńska M: Primary aldosteronism: a common and important problem. A practical guide to the diagnosis and treatment. *Endokrynol Pol* 2012; 63 (suppl. 2): 1-14.
60. Słowińska-Szrednicka J: Choroby nadnerczy z zaburzeniami wydzielania mineralokortykosteroidów. [W:] Milewicz A (red.): *Endokrynologia kliniczna*. Tom II. Wyd. Polskie Towarzystwo Endokrynologiczne, Wrocław 2012: 393.

otrzymano/received: 03.11.2016  
zaakceptowano/accepted: 30.11.2016