

Consensus SFE/SFHTA/AFCE sur l' Hyperaldostéronisme Primaire, partie 2 : premières étapes diagnostiques.

Claire Douillard,^a Pascal Houillier,^b J Nussberger^c et X Girerd^d.

Cet article est la version française de l'article ci-dessous, publié en anglais dans les Annales d'Endocrinologie

Douillard C, Houillier P, Nussberger J, Girerd X.

SFE/SFHTA/AFCE Consensus on Primary Aldosteronism, part 2: First diagnostic steps.

Ann Endocrinol (Paris). 2016 Jul;77(3):192-201. doi: 10.1016/j.ando.2016.02.003. Epub 2016 May 10.

^a Service d'endocrinologie et des maladies métaboliques, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille, 59037 Lille (claire.douillard@chru-lille.fr)
Endocrinology and Metabolism Unit, Lille University Hospital, 59037 Lille, France.

^b Département des maladies rénales et métaboliques, Hôpital Européen Georges Pompidou, , Assistance Publique–Hôpitaux de Paris, 75 015 Paris (pascal.houillier@egp.aphp.fr)
^b Renal and Metabolic Diseases Unit, Georges Pompidou Hospital, Paris Descartes University, 75 015 Paris, France.

^c Service de Médecine Interne (unité vasculaire et d'hypertension), Centre Hospitalier Universitaire de Lausanne, Suisse (Juerg.Nussberger@chuv.ch)

^c Department of Internal Medicine, Division of Angiology and Hypertension
CH-1011 Lausanne, Switzerland.

^d Pôle Cœur Métabolisme, Unité de Prévention Cardiovasculaire, Groupe Hospitalier Universitaire Pitié-Salpêtrière, 83 bld de l'hôpital, 75013, Paris
Heart and Metabolism unit, Pitié-salpêtrière University Hospital, 75013 Paris, France.

Correspondance :

Claire Douillard (claire.douillard@chru-lille.fr, Tel +333 20444544, Fax +333 20446985)

Résumé

Chez les patients suspects d'hyperaldostéronisme primaire (HAP), la première étape diagnostique, dite de dépistage, doit avoir une sensibilité et une valeur prédictive négative élevées. Le rapport Aldostérone/Rénine (RAR) est choisi car il présente une sensibilité meilleure et une variabilité moindre que les autres mesures (kaliémie, aldostéronémie, aldostéronurie). Le calcul du RAR est fait à partir de la mesure de l'aldostérone plasmatique (AP) et la mesure de la rénine : soit en activité (ARP), soit en mesure directe (RD). Ces mesures doivent être réalisées en conditions standardisées : le matin, plus de 2 heures après le lever, en position assise depuis 5 à 15 minutes, en régime normosodé, en normokaliémie et sans traitement interférant significativement avec le système rénine angiotensine.

Pour éliminer les élévations du RAR liées essentiellement à des valeurs de rénine très basses, le calcul du RAR n'est appliqué que si l'aldostérone est >240 pmol/L (90 pg/ml) et on majorera à 5 mU/L les valeurs de RD <5 mUI/L et à 0,2 ng/ml/h les valeurs d'ARP $<0,2$ ng/ml/h.

Il est alors proposé un seuil du RAR dont l'expression dépend des unités utilisées et, pour la mesure de la RD, du facteur de conversion (pg vs mUI). Si le RAR est supérieur à ce seuil, l'HAP est possible et les explorations devront être poursuivies. Si le RAR est en-dessous de ce seuil ou si l'aldostérone plasmatique est, à deux reprises, en dessous de 240 pmol/L (90 pg/ml), le diagnostic d'HAP est exclu.

Mots clés

Rapport Aldostérone/Rénine; RAR; Dépistage; Hyperaldostéronisme primaire; Conditions standardisées. Aldostérone. Rénine

Abréviations :

HAP : Hyperaldostéronisme Primaire

HTA : Hypertension artérielle

RAR : rapport Aldostérone/Rénine

ARP : Activité Rénine Plasmatique

RD : Rénine Directe

MC : Minéralocorticoïde

SRAA : Système Rénine-Angiotensine-Aldostérone

IEC : Inhibiteur Enzyme de Conversion

AINS : Anti-Inflammatoire-Non-Stéroïdien

IRS : Inhibiteur Recapture de la Sérotonine

OP : Oestroprogestatifs

RIA : Radio Immuno Assay

LC-MS : Chromatographie Liquide couplée à la Spectrométrie de Masse

1- 1^{ère} étape diagnostique de l'hyperaldostéronisme primaire : justification du Rapport Aldostérone/Rénine (RAR) comme « critère de dépistage »

1.1 Rapport RAR

Après avoir sélectionné la population qui fera l'objet d'une recherche d'un hyperaldostéronisme primaire (HAP) (cf sous-groupe 1), la 1^{ère} étape diagnostique sera celle du dépistage. Il s'agit donc d'utiliser un test ayant une sensibilité et une valeur prédictive négative fortes afin d'authentifier toutes les situations relevant potentiellement d'un hyperaldostéronisme primaire. Depuis ces dernières décennies, plusieurs équipes ont recherché le critère le plus performant pour dépister une élévation de la production d'aldostérone et son frein sur la production de rénine. Les données de la littérature ces 20 dernières années ont pu montrer que c'est le rapport aldostérone/rénine (RAR) qui reste le paramètre présentant la meilleure sensibilité (68% à 94%) pour le dépistage de l'HAP par rapport aux autres valeurs biologiques (kaliémie, aldostéronémie plasmatique, aldostéronurie) (1) (2) (3) (4) (5) (6). Sa valeur prédictive négative est même parfois proche de 100 % pour le diagnostic d'adénome de Conn (7). La sensibilité reste néanmoins variable d'une étude à l'autre, compte tenu de valeurs seuil du RAR différentes d'une étude à l'autre, des méthodes de dosage, des conditions de prélèvements. Cependant, grâce à l'usage de ce rapport, la variabilité des résultats liés aux conditions environnementales (kaliémie, apports sodés, âge, posture) est un peu moins importante qu'avec les autres marqueurs, chez un même patient (8) (9) (10). Sa très bonne corrélation entre sa valeur assise et celle en position couchée et debout a d'ailleurs été rapportée (11). Sa reproductibilité est également jugée acceptable selon l'étude de Rossi en 2010 (9) portant sur 1136 patients (Aldostérone plasmatique/ Activité rénine plasmatique). D'autres études retrouvent à l'inverse une reproductibilité variable même au sein de la population avec HAP (10). Amar (12) rapporte les résultats des principales études recensant au moins 1000 patients hypertendus: la proportion des valeurs élevées du rapport

RAR utilisé comme dépistage (seuil positif du rapport variant de 20 à 40 ng/dl/ng.ml⁻¹.h⁻¹ après arrêt des drogues interférentes) concernent 6.4 à 22.8 % des patients. Finalement, cette élévation du rapport RAR se soldera par un authentique HAP parmi 5.9 à 11.3 % des patients. Selon les équipes, le "gold standard" auquel est comparé le RAR est le résultat d'un des tests dynamiques suivants, avec des seuils variables selon les équipes: charge salée IV (aldostérone > 5 ng/dl ou > 10 ng/dl), charge salée orale (aldostéronurie > 12 µg/d), fludrocortisone (aldostérone > 6 ng/dl ou > 5 ng/dl), Captopril par voie orale (positif si RAR > à 30 ng/dl/ng.ml⁻¹.h⁻¹ 1h après 50 mg de Captopril) (13) (14) (15) (16) (17) (18) (19). Ce rapport RAR présente cependant un caractère critiquable car encore non parfaitement standardisé : valeurs parfois différentes selon la technique de dosage utilisée, selon la trousse de dosage, l'unité avec laquelle il est exprimé, coefficient de variation intra- et inter-patients variable, persistance de variations environnementales auquel il est soumis (influences posturales, médicamenteuses, métaboliques (niveau de la kaliémie et de l'apport sodé), celles liées à d'éventuelles maladies associées (insuffisance rénale), à l'âge, à la phase du cycle menstruel (20). Enfin, si ce test est sensible pour une valeur seuil donnée, de nombreuses publications ont montré qu'il n'est pas assez spécifique pour porter à lui seul le diagnostic positif de l'HAP.

1.2 Ionogramme urinaire des 24 heures

La réalisation d'un ionogramme urinaire apparaît utile pour deux raisons : la première est de démontrer que l'hypokaliémie est liée à une fuite d'origine rénale, la deuxième est de connaître les apports sodés du patient. Pour ces raisons, il est justifié à l'étape de dépistage de connaître la kaliurèse et la natriurèse permettant d'identifier les conditions d'apports sodés au moment du dépistage. On recommandera donc de réaliser au moment du dépistage, en complément du ionogramme sanguin et du rapport RAR, un ionogramme urinaire des 24 heures (Natriurèse, Kaliurèse et créatinurie).

1.3 Aldostéronurie

L'aldostéronurie a été utilisée comme test de dépistage ou de confirmation diagnostique par plusieurs équipes et elle apparaît un meilleur indicateur qu'une valeur de l'aldostéronémie plasmatique seule (21) (22). Cependant sa sensibilité a été retrouvée plus faible que celle de du RAR (cf paragraphe 1a) compte tenu de son caractère contraignant et parfois aléatoire (recueil urinaire de 24h, marge d'erreur parfois de 50%). Elle n'est pas retenue comme un critère de dépistage de l'HAP. Certaines équipes ont étudié l'intérêt du rapport aldostérone/créatinine sur échantillon et ont montré que sur une population de 102 patients avec HAP (confirmé par test de surcharge salé IV), le seuil d'un rapport Aldostérone > 3.0

ng/mg de créatinine permettait d'obtenir une spécificité diagnostique de 90.6% par rapport à l'HTA essentielle avec une sensibilité (51%) équivalente à l'aldostéronurie des 24h (44%) mais qui reste donc médiocre (23).

1.4 Le N-terminal probrain natriuretic peptide (NT-proBNP)

Il pourrait à l'avenir devenir un marqueur associé au RAR pour dépister l'HAP. Ce peptide est retrouvé corrélé positivement au rapport RAR, négativement au taux de rénine et pourrait être un marqueur indépendant de la positivité de la réponse au test de suppression salée par voie veineuse, permettant ainsi d'identifier les patients les plus à risque d'authentique HAP (24) (25). Cependant, ce dosage ne pourrait avoir un intérêt diagnostique qu'en l'absence de situations pathologiques où le Nt-proBNP est augmenté (insuffisance cardiaque, insuffisance rénale).

R 2.1 Chez un patient suspect d'HAP, nous recommandons que la première étape soit le calcul du rapport Aldostérone/Rénine (RAR) à partir de la mesure simultanée de l'aldostérone plasmatique (AP) et de la rénine: soit activité rénine plasmatique (ARP) soit rénine directe (RD).

Ces mesures doivent être réalisées si possible en conditions standardisées :

- le matin, plus de 2 heures après le lever
- en position assise depuis 5 à 15 minutes
- sous régime normosodé (Natriurie 100 à 200 mmol/24h)
- en normokaliémie
- antihypertenseurs arrêtés depuis 2 semaines (ou depuis 6 semaines pour les antagonistes du récepteur minéralocorticoïde et les inhibiteurs de la rénine), à l'exception des inhibiteurs calciques de longue durée d'action et des alpha-bloquants qui peuvent être maintenus.

L'amiloride peut également être maintenu, jusqu'à une dose de 15 mg/j en cas d'hypokaliémie difficile à contrôler sous apport potassique.

- estro-progestatifs arrêtés depuis 6 semaines.

Recommandation forte. Niveau de preuve : ++

2- Les méthodes de dosages

2.1 Le dosage de l'aldostérone plasmatique (AP)

réalisé :

- **en méthode radioimmunologique (RIA)**, la plus couramment utilisée (5 méthodes en France : Beckman, Cisbio Bioassays, Diasorin, IDS, Siemens)
- **en chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS)**, en voie de développement dans différents laboratoires du fait du caractère plus précis et spécifique de la mesure (26) (27) (28) (29) (30). Plusieurs travaux sont en cours pour réévaluer avec ces nouvelles méthodes le seuil du rapport RAR.

L'expression des résultats de l'Aldostérone plasmatique se fait dans deux systèmes d'unités : massique (pg/ml ou ng/dl) et molaire : pmole/l (System International ou SI). Il existe un facteur de conversion d'usage facile pour l'aldostérone dont le poids moléculaire est de 360: valeur en pmol/L = 2,77 x valeur en pg/ml . ou valeur en pmol/L = 27,7 x valeur en ng/dl .

2.2 Le dosage de la rénine

- **mesure de l'activité rénine plasmatique (ARP)** en méthode RIA, avec 3 fournisseurs à disposition sur le marché français : Cisbio Bioassay, Diasorin, Diasource. Les résultats sont exprimés sous formes de 2 unités : ng/ml/heure ou pmole/l/mn (SI) (1 ng/ml/h = 12,8 pmole/l/mn). Il s'agit d'une technique manuelle, longue (24 à 48h). La norme de l'ARP est fournie par le fabricant.
- **dosage pondéral direct de la rénine = rénine directe (RD) = rénine active** (dosage désormais le plus souvent réalisé en France):
 - **soit par RIA**, avec 4 fournisseurs à disposition sur le marché français : Adaltis, Beckman, Cisbio Bioassay, DSL France.
 - **soit par méthode automatisée**, avec 1 fournisseur sur le marché français : Diasorin (automate Liaison ou Liaison XL).

La norme de la rénine est fournie par le fabricant.

Le dosage de la rénine directe est exprimé par la plupart des trousses en mUI/L et il faut absolument connaître l'équivalence dans chaque trousse de dosage entre les valeurs en pg/ml (ou ng/l) et les valeurs mUI/L. Dans certains dosages l'équivalence est de 1, c'est à dire 1pg/ml= 1 mUI/L et les résultats ont alors la même valeur dans les deux systèmes d'unités. Cependant dans certaines trousses l'équivalence n'est pas 1, ainsi la trousse Diasorin propose un équivalent de la rénine directe exprimée en pg à 1.67×10^{-6} UI, soit une équivalence en concentration de 1 pg/ml (ou ng/L) = 1,67 mUI/L : dans cette trousse pour obtenir une valeur

exprimée en mUI/L à partir d'un résultat exprimé en pg/ml il faut multiplier la valeur en pg/ml (ou ng/l) par 1,67.

- les rapports de conversion entre l'ARP et la RD varient avec les méthodes de dosages qui sont en constante évolution. En fonction du dosage réalisé, une extrapolation du taux d'ARP à partir de celui de la RD et vice versa est proposée grâce à un facteur de conversion de l'ARP (ng/ml/h) en RD (mU/L) (facteur 8,2 du RD vers l'ARP selon Funder (31)). Cependant, ce facteur est variable selon le kit de dosage et la technique utilisée. Cette relation supposée fixe entre ARP et RD est sans doute surtout théorique et fait fi des adaptations individuelles de la sécrétion de rénine aux concentrations en angiotensinogène.

2c- Choix de la technique de dosage entre l'Activité Rénine Plasmatique (ARP) et la Rénine Directe (RD) ?

Certains stimuli ont un retentissement différent selon que l'on mesure l'ARP ou le RD. Le choix de la méthode de dosage de la rénine peut donc influencer le RAR. Les données de la littérature sont actuellement plus abondantes en ce qui concerne l'évaluation du rapport Aldostérone/ARP que celles concernant le rapport Aldostérone/RD, surtout du fait de l'usage plus récent de ce dernier dans la littérature (32). Mais ce rapport va s'inverser du fait de l'utilisation désormais plus importante de la RD. C'est actuellement la méthode de choix utilisée dans les laboratoires de ville et dans nombreux laboratoires hospitaliers en France. L'intérêt de préférer le dosage de la rénine directe est liée principalement au caractère standardisé et rapide du dosage (30 min versus 24 à 48h avec l'ARP), sa réalisation sur automate, et donc finalement un coût moindre de production (33). Cependant, sa sensibilité serait diminuée dans les valeurs basses et la spécificité du RAR mesuré avec la RD pourrait être mise à défaut lors d'une imprégnation oestrogénique exogène qui va diminuer la concentration de rénine, et induire un risque de faux positif du rapport RAR : l'imprégnation oestrogénique augmente la production hépatique d'angiotensinogène et donc l'angiotensine II qui va inhiber la sécrétion de rénine par un feed-back négatif alors que l'activité enzymatique ne sera que peu modifiée (8) (34) (35) (36). Certains auteurs soulignent la précision accrue de mesurer une activité (ARP) qui tient compte de la concentration d'angiotensinogène de chaque patient plutôt que de faire un « simple » dosage pondéral (RD). Cependant, les contraintes de temps, de coût et surtout le caractère standardisé et automatisé ont favorisé le développement de la technique du dosage pondéral de la rénine (RD). Actuellement, en dehors des situations

d'imprégnation oestroprogestative où la mesure de la rénine par l'ARP apparaît significativement moins modifiée que sa mesure par RD (37), il n'y a pas de justification du choix de la méthode de dosage sous-tendue par des essais comparatifs puissants. D'ailleurs, récemment encore, l'étude de Glinicki a pu montrer, sur un effectif de 62 patients, la très bonne corrélation entre le rapport RAR utilisant l'ARP et celui utilisant la RD, tant en position couchée qu'à l'orthostatisme (38).

En conclusion, le rapport RAR est actuellement le plus souvent réalisé à partir de la rénine directe compte tenu du caractère standardisé, rapide et donc moins coûteux de son dosage par rapport à l'ARP. Cependant, ce dernier reste encore couramment utilisé, essentiellement par certains laboratoires hospitaliers, en raison de sa grande précision et de sa moindre modification lors de l'imprégnation oestrogénique.

3. Quel seuil pour le RAR ?

1- La question du seuil « juste » du RAR au-delà duquel un HAP sera suspecté a longtemps été problématique en raison de sa variabilité intra- et inter-patients, le manque de standardisation des conditions de réalisation et des techniques de dosage (39) (40) (41) (42). Le but est de définir un seuil conférant une sensibilité et une valeur prédictive négative élevées. Une étude récemment publiée confirme la disparité majeure du niveau de dépistage de l'HAP par le RAR d'un centre à l'autre, au sein d'un même pays (43). Les recommandations publiées en 2008 par un groupe d'experts de l'Endocrine Society ont permis de clarifier la situation (31). L'analyse de la littérature a pu montrer que les seuils retenus en fonction des équipes varient largement entre 20 et 100 si l'aldostérone plasmatique est exprimée en ng/dl et l'ARP en ng/ml/h, 68 à 338 si l'aldostérone est exprimée en pmole/l et l'ARP en pmole/l/mn, mais la plupart de ces études étaient réalisées sur des effectifs de moins de 500 patients dans des conditions posturales variables (allongée, debout ou assis) (5) (44) (45) (46) (47). Ce seuil de RAR a pu être recentré dans une frange de valeur plus étroite entre 20 et 40 dès lors que les conditions de sa réalisation sont devenues plus homogènes (posture, horaire, technique de dosage). L'augmentation de la sensibilité du rapport RAR a été encore confirmée depuis, si l'horaire de mesure reste dans la matinée, en position assise après un lever depuis 2 à 4 h (20). Parmi les centres ayant réalisé une étude sur au moins 1000 patients (cf paragraphe 1), le seuil du rapport RAR (réalisé après arrêt des drogues interférentes) varie entre 20 et 40 (ng/dl/ng.ml⁻¹.h⁻¹), 554 à 1108 pmol/l/ng.ml⁻¹.h⁻¹ même s'il existe encore des variations posturales

selon les études (13) (14) (15-17) (18) (19). Depuis d'autres études sont venues étoffer ses propositions puisque les valeurs seuils varient essentiellement entre 30 et 35.9 ng/dl /ng/ml/h (48). C'est dans ce contexte que les recommandations de l'Endocrine Society pour le dépistage de l'HAP ont proposé une uniformisation des conditions de mesure : le matin, assis depuis 5 à 15 minutes, plus de 2h après le lever (31). Cependant la présentation des seuils proposée dans cet article de consensus (leur tableau 5) est déroutante: en effet il est donné 3 niveaux de seuils différents avec l'aldostérone exprimée en pg/ml , mais seulement 2 seuils avec l'aldostérone exprimée en pmol/l et si l'on fait la conversion ces deux seuils ne correspondent pas à aucun des 3 seuils précédents... Par ailleurs le facteur de conversion utilisé pour transformer la rénine directe exprimée en mUI/l à la rénine directe exprimée en ng/l est de 1,58, ce qui n'est pas applicable à tous les dosages.

Plutôt qu'une extrapolation à partir des différentes études, certains laboratoires ont proposé leur propre valeur seuil du RAR pour dépister ou diagnostiquer l'HAP ou l'adénome de Conn. C'est ce qu'a fait l'équipe de Massien-Simon en 1995 (49). Cette étude portait sur 60 patients avec adénome de Conn opérés, comparés à 59 patients avec HTA essentielles et 49 volontaires sains, la rénine directe était exprimée en pg/ml et la valeur diagnostique du RAR pour le diagnostic de l'adénome de Conn a été étudiée (courbe ROC) : le RAR couché avait un indice de Youden à 0.66 pour une valeur seuil à 23 (Aldostérone en pg/ml, Rénine en pg/ml), indice meilleur que celui du RAR en position debout (indice à 0.57 pour un seuil à 30). Ce seuil à 23 (Aldostérone en pg/ml, Rénine en pg/ml) a donné lieu par la suite en 2003 à celui de 64 (Aldostérone en pmol/l, Rénine en mUI/l), car au sein du laboratoire de l'HEGP, les valeurs obtenues par la trousse IRMA exprimées en pg/mL et celles obtenues sur l'automate, exprimées en mU/L, étaient numériquement les mêmes (Aldostérone plasmatique : valeur en ng/dl x 27,7 = valeur en pmole/l; Rénine directe : valeur en pg/ml = valeur en mUI/L).

D'autres études ont depuis établi une démarche similaire comme l'équipe de Ducher, seuil optimal du RAR, en position debout, estimé à 32 pour le diagnostic de l'adénome de Conn (7).

En pratique, les valeurs normales de rénine directe, d'activité rénine plasmatique ou d'aldostéronémie devraient idéalement être établies et/ou vérifiées par chaque laboratoire. Idéalement, chaque laboratoire devrait ainsi pouvoir fournir son seuil, mais cette démarche n'apparaît pas réaliste en pratique.

Nous avons fait le choix de proposer les seuils nous paraissant le plus juste et au plus près de ceux publiés dans les études portant sur plus de 1000 patients (notamment concernant le rapport Aldostérone/Activité Rénine Plasmatique), ou correspondant aux valeurs les plus courantes utilisées sur notre territoire (notamment concernant le rapport Aldostérone/Rénine Directe).

Pour éviter une surestimation du rapport RAR (même en présence d'une aldostéronémie basse) et donc un manque de spécificité, plusieurs auteurs recommandent d'utiliser une valeur minimale de la rénine (5 mU/L) ou de l'ARP (0,1 ng/ml/h ou 0.2 ng/ml/h selon les études) si les résultats biologiques sont en-deçà de ces seuils voire indétectables, comme souvent chez les sujets très âgés (50) (51).

Certains auteurs proposent également que l'aldostéronémie soient au minimum > 15 ng/dl (ou 410 pmol/l) avant de considérer le résultat de ce rapport et poursuivre l'enquête diagnostique si le rapport RAR est élevé. Cependant, cela expose possiblement, selon certaines équipes, à « rater » certains diagnostics d'authentique HAP : sur une étude sur 125 patients opérés d'un adénome de Conn, 16% ont une aldostéronémie plasmatique < 15 ng/dl (410 pmol/L) et 4% < 10 ng/dl (270 pmol/L) (8).

R 2.2 Pour éviter de prendre en compte les élévations du RAR liées essentiellement à une valeur très basse ou indétectable de la rénine, on affectera :

- une valeur de 5 mU/l à toute valeur de rénine directe <5mUI/l**
- une valeur de 0,2 ng/ml/h à toute valeur d'activité rénine plasmatique <0,2 ng/ml/h.**

Le rapport aldostérone/rénine (RAR) est exprimé en tenant compte du système d'unités utilisé pour les valeurs d'AP, d'ARP ou de RD. Pour la valeur de RD il doit également être tenu compte du facteur de conversion entre pg et mUI.

Le RAR sera alors considéré comme en faveur d'un HAP s'il est supérieur à un seuil dont la valeur dépend de la technique de mesure de la rénine et du système d'unité utilisé *.

***Rénine mesurée en RD, exprimée en mUI/L**

- 64 (aldostérone plasm. en pmol/l et rénine directe en mU/L)**

- 23 (aldostérone plasm. en pg/ml et rénine directe en mUI/L)

***Rénine mesurée en RD, exprimée en pg/ml, facteur de conversion $1\text{pg/ml}=\text{C mUI/L}$**

-64xC (aldostérone plasm. en pmol/l et rénine directe en pg/ml)

-23xC (aldostérone plasm. en pg/ml et rénine directe en pg/ml)

***Rénine mesurée en ARP**

- 300 (aldostérone plasm. en pg/ml et ARP en ng/ml/h)

- 830 (aldostérone plasm. en pmol/L et ARP en ng/ml/h)

- 25 (aldostérone plasm. en pg/ml et ARP pmol/l/mn)

- 70 (aldostérone plasm. en pmol/l et ARP en pmol/l/mn)

Recommandation forte. Niveau de preuve : ++

Facteurs de conversion :

**1- Aldostérone : $1\text{pg/ml} = 2,77 \text{ pmol/l}$ donc valeur en pmol/l = valeur en pg/ml x 2,77.
(valeur en pg/ml= valeur en pmol/Lx0,36)**

On rappelle aussi que valeur en pg/ml = valeur en ng/l = valeur en ng/dl x 10 .

2- Rénine directe : avec trousse Diasorin®, le facteur de conversion C est 1,67.

$1\text{pg/ml} = 1,67 \text{ mIU/l}$, donc valeur en mUI/l = 1,67 x valeur en pg/ml.

Bien sûr valeur en pg/ml= valeur en mUI/l divisée par 1,67

3- ARP : $\text{ng/ml/h} = 12,8 \times \text{pmol/l/min.}$

R2.3 Lorsque le RAR, mesuré en conditions standardisées, est en-dessous des seuils précisés dans R2.2 ou lorsque l'aldostérone plasmatique est, à deux reprises, en dessous de 240 pmol/L, le diagnostic d'HAP est exclu et il n'est pas utile de réaliser d'explorations complémentaires.

Recommandation forte. Niveau de preuve : ++

4. Influence de la kaliémie, de l'apport sodé, de l'âge, de la posture, du cycle nyctéméral, de la fonction rénale, du cycle menstruel et des médicaments sur l'aldostérone plasmatique et le rapport RAR.

4.1 Kaliémie :

Une normo kaliémie apparaît souhaitable pour éviter une sous-estimation de la production d'aldostérone puisque qu'une kaliémie basse freine la sécrétion d'aldostérone (52) et être à l'origine d'un faux-négatif du dépistage de l'HAP (42) (53) (50) (54).

4.2 Apports sodés :

Une restriction sodée élève la rénine et l'aldostérone plasmatique et abaisse le RAR (55) : la sensibilité du dépistage de l'HAP par le rapport RAR est améliorée par un apport sodé libéré (mais toutefois il existe un risque de faux positif si la charge sodée est trop importante). Williams JS a cependant temporisé l'effet significatif de l'apport sodé sur la variation de la sécrétion de rénine et d'aldostérone dans une étude réalisée chez des patients hypertendus dit essentiels ou avec HAP : une restriction en sodium (<10 mmol/j 7 jours) stimulera l'activité rénine plasmatique et la production d'aldostérone chez les patients hypertendus dits « essentiels », et également chez les patients avec HAP mais avec un taux d'ARP qui reste dans ce cas significativement plus bas chez les patients présentant un HAP malgré « une tendance » à la stimulation. A l'inverse, une « tendance » à la baisse de l'ARP lors d'un régime riche en sel (> 200 mmol/j) est constatée, mais sans être statistiquement significative, dans la population avec HAP. Il n'y avait finalement pas de variation significative du rapport RAR dans la population HAP que le régime soit pauvre en sodium ou riche en sodium, ni de variation significative de l'aldostéronurie des 24H (56). Cependant, en raison des « tendances » retrouvées, la spécificité du rapport RAR est jugée meilleure en cas de régime normosodé.

4.3 Age :

Avec l'âge, la sécrétion de rénine diminue, en relation probable avec la réduction néphronique progressive (57). Cette situation peut être source de faux-positif pour le RAR et la valeur seuil du RAR pour le dépistage de l'hyperaldostéronisme primaire pourrait même idéalement être revue à la hausse chez les patients de plus de 50 ans (58).

4.4 Position :

L'aldostérone et la rénine s'élèvent à l'orthostatisme suite aux mécanismes d'adaptation physiologique :

- la séquestration du sang dans les membres inférieurs et la baisse du niveau de perfusion rénale associées à l'élévation du tonus sympathique avec stimulation des récepteurs bêta-adrénergiques stimule la sécrétion de rénine (effet en 2 à 4h après le changement de position).
- élévation de l'aldostérone par baisse de la clearance hépatique de l'aldostérone par diminution du débit hépatique (effet en 1 h après le changement de position).

D'autre part, les HAP dits sensibles à l'angiotensine II (50% des Adénomes producteurs d'aldostérone et 70% des Hyperplasies bilatérales) ont des taux à l'orthostatisme quasi similaires aux HAP insensibles à l'ang II, alors qu'en revanche leurs valeurs couchées sont plus basses. Cela explique sans doute en partie qu'une meilleure sensibilité soit retrouvée à l'orthostatisme (59).

4.5 Heure de prélèvement : l'effet de la stimulation de la rénine et de l'aldostérone par les mécanismes d'adaptation aux changements de postures posture est plus marqué le matin et le RAR est plus élevé le matin que l'après-midi (60) (61).

4.6 Fonction rénale :

L'altération de la fonction rénale déprécie le taux de rénine (baisse de la sécrétion de rénine avec le niveau de réduction néphronique, la rétention en eau et sel) et peut induire un risque de faux-positif pour le RAR, ce d'autant que l'aldostérone plasmatique n'est que peu modifiée (voire augmentée en cas d'hyperkaliémie). En revanche en cas d'atteinte vasculaire rénale, la sécrétion de rénine et d'aldostérone sera stimulée, avec un profil d'hyperaldostéronisme secondaire.

4.7 Cycle menstruel :

Parmi une population de femmes hypertendues avec rénine basse, une élévation significative de l'aldostérone, de l'ARP et du rapport RAR est observée au cours de la phase lutéale du cycle menstruel, avec mise en évidence d'une corrélation positive entre l'aldostérone, l'ARP et la progestérone (62). Ces variations de l'Aldostérone au cours du cycle avaient déjà été démontrées (63) (64). L'effet natriurétique de la progestérone par le biais de son action compétitrice avec l'aldostérone sur le récepteur de l'aldostérone, expliquerait, via la déplétion sodée et ses conséquences sur le volume plasmatique, l'élévation de la rénine et de l'aldostérone (34).

La progestérone pourrait également stimuler directement la production d'aldostérone (65). Plus récemment, Ahmed et al a montré que le risque de faux positif de l'élévation du rapport RAR dans une population contrôle (2 cas / 19 femmes) existe pendant la phase

lutéale et seulement avec la méthode de dosage par RD (66). Ces résultats sont confortés par l'étude récente de Fommei (67). Le résultat du test de freination par fludrocortisone lors d'une suspicion d'HAP pourrait également être modifié selon qu'il soit réalisé en période folliculaire ou lutéale (68).

En situation de grossesse, la rénine et plus encore l'aldostérone plasmatique sont élevées. Chez la patiente non ménopausée, il faudra sans doute préférer faire le dosage en 1ère partie de cycle si c'est la rénine directe qui est mesurée.

4.8 Autres situations physiologiques ou pathologiques :

Elévation de la rénine (faux négatifs du rapport RAR) :

- Grossesse
- sténose artère rénale
- HTA maligne.

Baisse de la rénine (faux positifs du rapport RAR) :

- Origine ethnique (Afrique)
- Diabète ancien (dysautonomie)

De plus, l'aldostérone est impliquée dans le métabolisme adipeux viscéral et son excès semble jouer un rôle dans la genèse du syndrome métabolique, notamment par le biais d'une majoration de l'insulinorésistance. Plusieurs voies de recherche sont à l'étude pour mieux identifier son rôle, notamment chez les patients obèses et à l'inverse les conséquences elles-mêmes de l'obésité sur la sécrétion de l'aldostérone. En effet, la situation d'insulinorésistance en situation d'excès pondéral favoriserait, via la stimulation des voies sympathiques sur la zone glomérulée, la production d'aldostérone.

4.9 Traitements médicamenteux :

4.9.1 OEstroprogestatifs (OP):

La contraception orale contenant des estrogènes peut provoquer une élévation significative du RAR (faux positif) si la rénine est évaluée par le RD plutôt que par l'ARP (69) (70). L'imprégnation en œstrogène exogène induit une augmentation de la synthèse hépatique du substrat du SRAA, l'angiotensinogène, puis de l'angiotensine et par feed-back négatif un frein de la sécrétion de la rénine (retentissement sur le RD mais pas sur son activité (ARP) ou très peu (70) (*cf paragraphe 2*). Concernant les progestatifs, certains peuvent activer le système rénine-angiotensine et d'autres non (66). Une étude a pu montrer que l'élévation de l'ARP, de la RD et de l'aldostérone est plus élevée avec la Drosipirénone qu'avec le Gestodène ou le

Desogestrel. Le risque de faux positifs pour le rapport RAR augmente sous OP et est plus important si la rénine est évaluée par le RD que par l'ARP, sauf avec la contraception à base de Drospirénone (antagoniste du récepteur minéralocorticoïde) où le taux de faux positifs est identique entre ARP et RD (37). En revanche, il n'y a pas d'effets significatifs sur le RAR des progestatifs par implants sous-cutanés type Etonorgestrel, que la rénine soit mesurée en ARP ou en RD (66).

4.9.2 Les autres traitements :

- Béta-bloquants : baisse de la sécrétion de rénine (prépondérante) et de l'AP (risque de faux positif) (71).
- IEC et ARA-II : élévation de la rénine et baisse de l'AP (risque de faux négatif) (72).
- Diurétiques : élévation de la rénine avec tous les diurétiques par baisse du volume plasmatique et stimulation du système sympathique (y compris pour les diurétiques épargneurs potassiques (spironolactone, éplérénone, amiloride, triamterène) (73) et élévation de l'AP (sauf pour les thiazidiques avec lesquels l'aldostérone plasmatique peut rester basse par le biais de l'hypokaliémie) (risque de faux négatif).
- Inhibiteurs calciques dihydropyridiniques : élévation possible de la rénine par tonus sympathique réflexe suite à la baisse de TA et baisse de l'aldostérone par défaut de synthèse dont les étapes sont calcium dépendantes (risque faux négatif) (74). A noter toutefois qu'en situation stable avec traitement de fond au long cours, un effet sur le RAR n'avait pas été retrouvé dans l'étude de Seifarth (75).
- Antihypertenseurs centraux type agoniste alpha 2 : baisse de la sécrétion de rénine par baisse du tonus sympathique, baisse de l'AP (ex : clonidine et méthyl dopa) (risque faux positif).
- Inhibiteurs de la rénine : baisse de la rénine estimée avec l'ARP (risque faux positif) mais élévation de la RD (risque faux négatif), baisse de l'AP (76).
- Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) : baisse de la rénine et de l'AP par la rétention eau et sel qu'ils induisent et la suppression des prostaglandines urinaires qui normalement stimulent la rénine (risque de faux positif) (77).
- Inhibiteur de la recapture de la sérotonine (IRS) de type sertraline et escitalopram : élévation aldostérone plasmatique et de la rénine (ARP et RD) : baisse RAR (faux négatifs) (78).

Pour réaliser le dépistage de l'HAP, il est usuellement recommandé de ne pas avoir de traitement interférant avec l'axe minéralocorticoïde afin d'éviter de majorer les faux négatifs

du rapport RAR ce qui ferait perdre sa pertinence en terme de dépistage [risque de faux négatifs : IEC, ARA-II, Diurétiques, inhibiteurs de la rénine si la rénine est mesurée en RD)]. Toutefois, cette question reste débattue puisque dans la réalité il n'est pas toujours possible de stopper facilement les médicaments et plusieurs études ont proposé un dépistage sans changement des traitements. Dans l'étude de Seiler (79), le risque est essentiellement celui de faux positifs sous bêtabloquant sans autres effets significatifs des autres médicaments mais cette étude reste à valider en raison de son effectif faible (41 patients avec HAP, 3 à 15 patients des sous-groupes sous traitements). Le risque de faux positifs sous bêtabloquants avait également été déjà rapporté (d'autant que l'effet est prépondérant sur la baisse de la rénine) (80). L'équipe de Browne conseille même une durée d'interruption des beta-bloquants avant exploration hormonale selon la méthode de dosage de rénine utilisée (3 semaines pour l'ARP, 2 semaines pour la RD) (81). Mulatero (72) a également étudié les effets de certaines médicaments (amlodipine, atenolol, doxazosine, fosinopril et irbesartan) en mesurant le rapport RAR sans, puis sous traitement parmi une population de patients hypertendus (n = 230) sélectionnée sur un rapport Aldo/ARP > 50 associé à une aldostéronémie > 150 ng/dl et dont 154 patients seront confirmés porteurs d'un hyperaldostéronisme primaire après test de surcharge salé IV. La baisse du RAR est significative sous traitement par fosinopril, amlodipine et irbesartan et sa hausse également significative sous atenolol. Finalement, pour un seuil du RAR > 50 ng/dl par ng/ml.h⁻¹, le risque de faux négatifs parmi la population HAP est de 23,5% pour l'irbesartan (- 43% de baisse RAR), ce qui correspond à une baisse de sensibilité du RAR passant de 100 à 76%. En revanche, il n'y a pas de risque significatif de faux négatifs sous IEC de type fosinopril (baisse de -30%). Seuls les traitements par doxazosin, fosinopril ne sont pas associés à des cas de faux négatifs et on note sous amlodipine une réduction de la sensibilité du RAR de 100% to 98% et sous irbesartan de 100 à 76 %. A noter que la spironolactone et les autres diurétiques n'ont pas été testés dans cette étude. Dans une autre étude récente portant sur 235 patients hypertendus chez qui a été réalisé le rapport RAR sous traitement (excepté amiloride et spironolactone) et bien que le seuil proposé du rapport RAR soit choisi bas à 50 pmol/ng, le taux de confirmation diagnostique des patients avec HAP n'est que de 1.6% de la population hypertendue, en raison d'un abaissement très important du rapport RAR sous médicaments (ARA-II, IEC, diurétiques thiazidiques (82). Récemment, l'équipe de Jansen (83) a publié une étude portant sur 178 patients hypertendus (4 semaines après arrêt des bêtabloquants et diurétiques épargneurs potassiques) et dont 27 avec HAP confirmé après test de surcharge salé par voie veineuse. Le rapport RAR est moins élevé dans le groupe (1) sous « traitement classique » (inhibiteurs

calciques, diurétiques, IEC, ARA-II, alpha-bloquant) que dans le groupe (2) sous « traitement standardisé » (inhibiteur calcique et alpha-bloquant). En analyse ROC, le seuil optimal pour la performance diagnostique est à 15.2 pmol/mU pour le groupe (1) (sensibilité 89% et spécificité 64%) et le seuil optimal à 40.2 pmol/mUI pour le groupe (2) (sensibilité 89%, spécificité 64%). Le rapport RAR a la même performance diagnostique entre les deux groupes en analyse ROC mais pour un seuil différent. Surtout, en ce qui concerne le seuil du RAR pour une performance cette fois-ci de dépistage, il est différent selon les 2 groupes : pour une sensibilité de 95% (= sensibilité souhaitée pour un test de screening) le seuil doit être à 5.8 pmol/mU dans le groupe (1) (sensibilité 95%, spécificité 43%) et le seuil doit être à 16.3 pmol/mU pour le groupe (2) (sensibilité 95%, spécificité 43%).

Ainsi, on peut dépister les patients même sous médications interférentes avec le SRAA mais alors en choisissant un seuil de dépistage différent selon l'existence ou non de médications interférentes (en dehors des bêtabloquants et des diurétiques épargneurs potassiques à stopper avant test de dépistage). Jusqu'ici, l'approche de la majorité des équipes référentes est de ne pas proposer de réaliser le RAR sous les drogues interférentes. Cette dernière étude pourrait faire envisager de laisser le traitement mais en considérant une valeur seuil différente, qui sera plus basse pour la plupart des traitements interférents, à l'exception des bêta bloquants. Le bêta bloquant est parfois maintenu, notamment chez les patients coronariens et le risque de faux positifs est alors plus important mais le patient accédera alors à l'étape de confirmation diagnostique qui infirmera ou non le diagnostic d'HAP. Les délais d'interruption de traitement proposés par différents auteurs peuvent toutefois varier (20) (31) (84).

A noter que les doses d'AMILORIDE (si < 15 mg/j) n'interfèrent que peu avec les dosages et peuvent être maintenues en cas d'hypokaliémie mal contrôlée sous apports potassiques (85).

L'impact des traitements sur le SRAA et les délais proposés d'interruptions des traitements avant exploration sont précisés dans le tableau 1.

Les étiologies principales des risques de faux-positifs et faux-négatifs du RAR sont précisées dans le tableau 2.

5- Conclusion

La mesure du RAR constitue l'étape de dépistage de l'hyperaldostérionisme primaire, dont les conditions de réalisation et d'interprétation sont précisées dans les recommandations R2.1, R2.2 et R2.3.

Conflits d'intérêts : aucun.

Tableau 1 :

Impact des traitements sur le SRAA et délai d'interruption du traitement avant exploration

Médications	Aldostérone	Rénine	RAR	Délai d'interruption (en semaines)
Diurétiques thiazidiques	→↑	↑↑	↓ (FN)	2
Diurétiques de l'anse	↑	↑↑	↓ (FN)	2
Antag. Rc minéralocortic.	↑	↑↑	↓ (FN)	6
IEC et Sartan	↓	↑↑	↓ (FN)	2
Inhibiteur de la rénine	↓	↑ si RD ↓ si ARP	↓ (FN) ↑ (FP)	6

β -bloqueur	↓	↓↓	↑ (FP)	2
Agoniste alpha2 central (clonidine)	↓	↓↓	↑ (FP ?)	2 (idéalement)
AINS	↓	↓↓	↑ (FP)	2 (idéalement)
IRS	↑	↑	↓ (FN)	?

Tableau 2 : Etiologies principales des risques de faux-positifs et faux-négatifs du RAR

RAR	Faux-positifs	Faux-négatifs
Traitement	Bêta-bloquant Alpha-methyldopa Clonidine AINS Inhibiteur de la rénine si rénine mesurée en ARP Oestroprogestatifs si dosage rénine en RD Oestroprogestatifs si progestatif = Drospirénone	IEC ARA-II Diurétiques (thiazidiques, de l'anse, antagonistes MR) Inhibiteur Recapture de la Sérotonine Inhibiteur de la rénine si rénine mesurée en RD
Situations cliniques	Apport sodé excessif Vieillessement Insuffisance rénale Phase lutéale cycle menstruel Diabète ancien (dysautonomie) Origine ethnique (Afrique)	Hypokaliémie Restriction sodée Grossesse Sténose artère rénale HTA maligne

1. **Dunn PJ, Espiner EA** 1976 Outpatient screening tests for primary aldosteronism. Australian and New Zealand journal of medicine 6:131-135
2. **Hiramatsu K, Yamada T, Yukimura Y, Komiya I, Ichikawa K, Ishihara M, Nagata H, Izumiyama T** 1981 A screening test to identify aldosterone-producing adenoma by measuring plasma renin activity. Results in hypertensive patients. Archives of internal medicine 141:1589-1593
3. **Stowasser M, Gordon RD, Gunasekera TG, Cowley DC, Ward G, Archibald C, Smithers BM** 2003 High rate of detection of primary aldosteronism, including surgically treatable forms, after 'non-selective' screening of hypertensive patients. Journal of hypertension 21:2149-2157
4. **McKenna TJ, Sequeira SJ, Heffernan A, Chambers J, Cunningham S** 1991 Diagnosis under random conditions of all disorders of the renin-angiotensin-aldosterone axis, including primary hyperaldosteronism. The Journal of clinical endocrinology and metabolism 73:952-957
5. **Tiu SC, Choi CH, Shek CC, Ng YW, Chan FK, Ng CM, Kong AP** 2005 The use of aldosterone-renin ratio as a diagnostic test for primary hyperaldosteronism and its test characteristics under different conditions of blood sampling. The Journal of clinical endocrinology and metabolism 90:72-78
6. **Bernini G, Moretti A, Orlandini C, Berti P, Miccoli P, Bardini M, Taurino C, Bernini M, Salvetti A** 2008 Plasma and urine aldosterone to plasma renin activity ratio in the diagnosis of primary aldosteronism. Journal of hypertension 26:981-988
7. **Ducher M, Mounier-Vehier C, Baguet JP, Tartiere JM, Sosner P, Regnier-Le Coz S, Perez L, Fourcade J, Jabourek O, Lejeune S, Stolz A, Fauvel JP** 2012 Aldosterone-to-renin ratio for diagnosing aldosterone-producing adenoma: a multicentre study. Archives of cardiovascular diseases 105:623-630
8. **Stowasser M, Gordon RD** 2004 Primary aldosteronism--careful investigation is essential and rewarding. Mol Cell Endocrinol 217:33-39
9. **Rossi GP, Seccia TM, Palumbo G, Belfiore A, Bernini G, Caridi G, Desideri G, Fabris B, Ferri C, Giacchetti G, Letizia C, Maccario M, Mallamaci F, Mannelli M, Patalano A, Rizzoni D, Rossi E, Pessina AC, Mantero F** 2010 Within-patient reproducibility of the aldosterone: renin ratio in primary aldosteronism. Hypertension 55:83-89
10. **Tanabe A, Naruse M, Takagi S, Tsuchiya K, Imaki T, Takano K** 2003 Variability in the renin/aldosterone profile under random and standardized sampling conditions in primary aldosteronism. The Journal of clinical endocrinology and metabolism 88:2489-2494
11. **Barigou M, Ah-Kang F, Orloff E, Amar J, Chamontin B, Bouhanick B** 2015 Effect of postural changes on aldosterone to plasma renin ratio in patients with suspected secondary hypertension. Annales de cardiologie et d'angiologie 64:169-174
12. **Amar L, Plouin PF, Steichen O** 2010 Aldosterone-producing adenoma and other surgically correctable forms of primary aldosteronism. Orphanet J Rare Dis 5:9
13. **Mulatero P, Stowasser M, Loh KC, Fardella CE, Gordon RD, Mosso L, Gomez-Sanchez CE, Veglio F, Young WF, Jr.** 2004 Increased diagnosis of primary aldosteronism, including surgically correctable forms, in centers from five continents. The Journal of clinical endocrinology and metabolism 89:1045-1050

14. **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, Vasan RS** 2007 Clinical and genetic correlates of aldosterone-to-renin ratio and relations to blood pressure in a community sample. *Hypertension* 49:846-856
15. **Nishikawa T, Omura M** 2000 Clinical characteristics of primary aldosteronism: its prevalence and comparative studies on various causes of primary aldosteronism in Yokohama Rosai Hospital. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie* 54 Suppl 1:83s-85s
16. **Rossi E, Regolisti G, Negro A, Sani C, Davoli S, Perazzoli F** 2002 High prevalence of primary aldosteronism using postcaptopril plasma aldosterone to renin ratio as a screening test among Italian hypertensives. *American journal of hypertension* 15:896-902
17. **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** 2006 A prospective study of the prevalence of primary aldosteronism in 1,125 hypertensive patients. *Journal of the American College of Cardiology* 48:2293-2300
18. **Fogari R, Preti P, Zoppi A, Rinaldi A, Fogari E, Mugellini A** 2007 Prevalence of primary aldosteronism among unselected hypertensive patients: a prospective study based on the use of an aldosterone/renin ratio above 25 as a screening test. *Hypertens Res* 30:111-117
19. **Douma S, Petidis K, Doumas M, Papaefthimiou P, Triantafyllou A, Kartali N, Papadopoulos N, Vogiatzis K, Zamboulis C** 2008 Prevalence of primary hyperaldosteronism in resistant hypertension: a retrospective observational study. *Lancet* 371:1921-1926
20. **Stowasser M, Ahmed AH, Pimenta E, Taylor PJ, Gordon RD** 2012 Factors affecting the aldosterone/renin ratio. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme* 44:170-176
21. **Charloux A, Gronfier C, Lonsdorfer-Wolf E, Piquard F, Brandenberger G** 1999 Aldosterone release during the sleep-wake cycle in humans. *The American journal of physiology* 276:E43-49
22. **Mourad JJ, Girerd X, Milliez P, Lopez-Sublet M, Lejeune S, Safar ME** 2008 Urinary aldosterone-to-active-renin ratio: a useful tool for predicting resolution of hypertension after adrenalectomy in patients with aldosterone-producing adenomas. *American journal of hypertension* 21:742-747
23. **Wu CH, Yang YW, Hu YH, Tsai YC, Kuo KL, Lin YH, Hung SC, Wu VC, Wu KD** 2013 Comparison of 24-h urinary aldosterone level and random urinary aldosterone-to-creatinine ratio in the diagnosis of primary aldosteronism. *PloS one* 8:e67417
24. **Pizzolo F, Zorzi F, Chiecchi L, Consoli L, Aprili I, Guarini P, Castagna A, Salvagno GL, Pavan C, Olivieri O** 2014 NT-proBNP, a useful tool in hypertensive patients undergoing a diagnostic evaluation for primary aldosteronism. *Endocrine* 45:479-486
25. **Stowasser M** 2015 Update in primary aldosteronism. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 100:1-10
26. **Guo T, Taylor RL, Singh RJ, Soldin SJ** 2006 Simultaneous determination of 12 steroids by isotope dilution liquid chromatography-photospray ionization tandem mass

- spectrometry. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 372:76-82
27. **Turpeinen U, Hamalainen E, Stenman UH** 2008 Determination of aldosterone in serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of chromatography* 862:113-118
 28. **Taylor PJ, Cooper DP, Gordon RD, Stowasser M** 2009 Measurement of aldosterone in human plasma by semiautomated HPLC-tandem mass spectrometry. *Clinical chemistry* 55:1155-1162
 29. **Ray JA, Kushnir MM, Yost RA, Rockwood AL, Wayne Meikle A** 2014 Performance enhancement in the measurement of 5 endogenous steroids by LC-MS/MS combined with differential ion mobility spectrometry. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 438:330-336
 30. **Juutilainen A, Savolainen K, Romppanen J, Turpeinen U, Hamalainen E, Kempainen J, Moilanen L, Pulkki K** 2014 Combination of LC-MS/MS aldosterone and automated direct renin in screening for primary aldosteronism. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 433:209-215
 31. **Funder JW, Carey RM, Fardella C, Gomez-Sanchez CE, Mantero F, Stowasser M, Young WF, Jr., Montori VM** 2008 Case detection, diagnosis, and treatment of patients with primary aldosteronism: an endocrine society clinical practice guideline. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 93:3266-3281
 32. **Sala C, Rescaldani M, Turolo L** 2011 Methodological remarks about plasma renin assays. *Journal of hypertension* 29:1463; author reply 1463-1464
 33. **Ferrari P, Shaw SG, Nicod J, Saner E, Nussberger J** 2004 Active renin versus plasma renin activity to define aldosterone-to-renin ratio for primary aldosteronism. *Journal of hypertension* 22:377-381
 34. **Oelkers WK** 1996 Effects of estrogens and progestogens on the renin-aldosterone system and blood pressure. *Steroids* 61:166-171
 35. **Unger N, Lopez Schmidt I, Pitt C, Walz MK, Philipp T, Mann K, Petersenn S** 2004 Comparison of active renin concentration and plasma renin activity for the diagnosis of primary hyperaldosteronism in patients with an adrenal mass. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies* 150:517-523
 36. **Cicala MV, Mantero F** 2010 Primary aldosteronism: what consensus for the diagnosis. *Best practice & research* 24:915-921
 37. **Locsei Z, Horvath D, Racz K, Szabolcs I, Kovacs GL, Toldy E** 2012 Progestin-dependent effect of oral contraceptives on plasma aldosterone/renin ratio. *Clinical biochemistry* 45:1516-1518
 38. **Glinicki P, Jeske W, Bednarek-Papierska L, Kruszynska A, Gietka-Czernel M, Roslonowska E, Slowinska-Srzednicka J, Kasperlik-Zaluska A, Zgliczynski W** 2014 The ratios of aldosterone / plasma renin activity (ARR) versus aldosterone / direct renin concentration (ADRR). *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*
 39. **Kaplan NM** 2005 Resistant hypertension. *Journal of hypertension* 23:1441-1444
 40. **Giacchetti G, Ronconi V, Lucarelli G, Boscaro M, Mantero F** 2006 Analysis of screening and confirmatory tests in the diagnosis of primary aldosteronism: need for a standardized protocol. *Journal of hypertension* 24:737-745
 41. **Niizuma S, Nakahama H, Kamide K, Fukuchi K, Iwanaga Y, Nakata H, Yoshihara F, Horio T, Nakamura S, Kawano Y** 2008 The cutoff value of aldosterone-to-renin ratio for the diagnosis of primary aldosteronism in patients taking antihypertensive medicine. *Clin Exp Hypertens* 30:640-647
 42. **Kaplan NM** 2011 Primary aldosteronism: A contrarian view. *Reviews in endocrine & metabolic disorders* 12:49-52

43. **Fischer E, Reuschl S, Quinkler M, Rump LC, Hahner S, Bidlingmaier M, Reincke M** 2011 Assay characteristics influence the aldosterone to renin ratio as a screening tool for primary aldosteronism: results of the German Conn's registry. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme* 45:526-531
44. **Montori VM, Young WF, Jr.** 2002 Use of plasma aldosterone concentration-to-plasma renin activity ratio as a screening test for primary aldosteronism. A systematic review of the literature. *Endocrinology and metabolism clinics of North America* 31:619-632, xi
45. **Gordon RD, Stowasser M, Tunny TJ, Klemm SA, Rutherford JC** 1994 High incidence of primary aldosteronism in 199 patients referred with hypertension. *Clinical and experimental pharmacology & physiology* 21:315-318
46. **Lim PO, Dow E, Brennan G, Jung RT, MacDonald TM** 2000 High prevalence of primary aldosteronism in the Tayside hypertension clinic population. *Journal of human hypertension* 14:311-315
47. **Loh KC, Koay ES, Khaw MC, Emmanuel SC, Young WF, Jr.** 2000 Prevalence of primary aldosteronism among Asian hypertensive patients in Singapore. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 85:2854-2859
48. **Yin G, Zhang S, Yan L, Wu M, Xu M, Li F, Cheng H** 2012 One-hour upright posture is an ideal position for serum aldosterone concentration and plasma renin activity measuring on primary aldosteronism screening. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 120:388-394
49. **Massien-Simon C, Battaglia C, Chatellier G, Guyene TT, Duclos JM, Plouin PF** 1995 [Conn's adenoma. Diagnostic and prognostic value of the measurement of potassium, renin, aldosterone levels and the aldosterone/renin ratio]. *Presse Med* 24:1238-1242
50. **Plouin PF, Amar L, Chatellier G** 2004 Trends in the prevalence of primary aldosteronism, aldosterone-producing adenomas, and surgically correctable aldosterone-dependent hypertension. *Nephrol Dial Transplant* 19:774-777
51. **Young WF** 2007 Primary aldosteronism: renaissance of a syndrome. *Clinical endocrinology* 66:607-618
52. **Kerstens MN, Kobold AC, Volmer M, Koerts J, Sluiter WJ, Dullaart RP** 2011 Reference values for aldosterone-renin ratios in normotensive individuals and effect of changes in dietary sodium consumption. *Clinical chemistry* 57:1607-1611
53. **Fiquet-Kempf B, Launay-Mignot P, Bobrie G, Plouin PF** 2001 Is primary aldosteronism underdiagnosed in clinical practice? *Clinical and experimental pharmacology & physiology* 28:1083-1086
54. **Stowasser M, Gordon RD, Rutherford JC, Nikwan NZ, Daunt N, Slater GJ** 2001 Diagnosis and management of primary aldosteronism. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2:156-169
55. **Gordon RD** 1995 Primary aldosteronism. *Journal of endocrinological investigation* 18:495-511
56. **Williams JS, Williams GH, Raji A, Jeunemaitre X, Brown NJ, Hopkins PN, Conlin PR** 2006 Prevalence of primary hyperaldosteronism in mild to moderate hypertension without hypokalaemia. *Journal of human hypertension* 20:129-136
57. **Crane MG, Harris JJ** 1976 Effect of aging on renin activity and aldosterone excretion. *The Journal of laboratory and clinical medicine* 87:947-959
58. **Luo Q, Li NF, Yao XG, Zhang DL, Abulikemu SF, Chang GJ, Zhou KM, Wang GL, Wang MH, Ouyang WJ, Cheng QY, Jia Y** 2016 Potential effects of age on screening for primary aldosteronism. *Journal of human hypertension* 30:53-61

59. **Espiner EA, Ross DG, Yandle TG, Richards AM, Hunt PJ** 2003 Predicting surgically remedial primary aldosteronism: role of adrenal scanning, posture testing, and adrenal vein sampling. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 88:3637-3644
60. **Gordon RD, Wolfe LK, Island DP, Liddle GW** 1966 A diurnal rhythm in plasma renin activity in man. *The Journal of clinical investigation* 45:1587-1592
61. **Gordon RD** 2004 The challenge of more robust and reproducible methodology in screening for primary aldosteronism. *Journal of hypertension* 22:251-255
62. **Fommei E, Ghione S, Ripoli A, Maffei S, Di Cecco P, Iervasi A, Turchi S** 2009 The ovarian cycle as a factor of variability in the laboratory screening for primary aldosteronism in women. *Journal of human hypertension* 23:130-135
63. **Gray MJ, Strausfeld KS, Watanabe M, Sims EA, Solomon S** 1968 Aldosterone secretory rates in the normal menstrual cycle. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 28:1269-1275
64. **Katz FH, Romfh P** 1972 Plasma aldosterone and renin activity during the menstrual cycle. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 34:819-821
65. **Szmulowicz ED, Adler GK, Williams JS, Green DE, Yao TM, Hopkins PN, Seely EW** 2006 Relationship between aldosterone and progesterone in the human menstrual cycle. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 91:3981-3987
66. **Ahmed AH, Gordon RD, Taylor PJ, Ward G, Pimenta E, Stowasser M** 2011 Effect of contraceptives on aldosterone/renin ratio may vary according to the components of contraceptive, renin assay method, and possibly route of administration. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 96:1797-1804
67. **Fommei E, Chatzianagnostou K, Ghione S** 2015 The importance of knowing the timing within the menstrual cycle in non-menopausal hypertensive women in the diagnostic workup for primary aldosteronism. *Clinical endocrinology*
68. **Ahmed AH, Gordon RD, Ward G, Wolley M, Kogovsek C, Stowasser M** 2014 Should aldosterone suppression tests be conducted during a particular phase of the menstrual cycle, and, if so, which phase? Results of a preliminary study. *Clinical endocrinology*
69. **Derkx FH, Steunkel C, Schalekamp MP, Visser W, Huisveld IH, Schalekamp MA** 1986 Immunoreactive renin, prorenin, and enzymatically active renin in plasma during pregnancy and in women taking oral contraceptives. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 63:1008-1015
70. **Goldhaber SZ, Hennekens CH, Spark RF, Evans DA, Rosner B, Taylor JO, Kass EH** 1984 Plasma renin substrate, renin activity, and aldosterone levels in a sample of oral contraceptive users from a community survey. *American heart journal* 107:119-122
71. **Ahmed AH, Gordon RD, Taylor PJ, Ward G, Pimenta E, Stowasser M** 2010 Are women more at risk of false-positive primary aldosteronism screening and unnecessary suppression testing than men? *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 96:E340-346
72. **Mulatero P, Rabbia F, Milan A, Paglieri C, Morello F, Chiandussi L, Veglio F** 2002 Drug effects on aldosterone/plasma renin activity ratio in primary aldosteronism. *Hypertension* 40:897-902
73. **Young WF, Jr.** 1997 Pheochromocytoma and primary aldosteronism: diagnostic approaches. *Endocrinology and metabolism clinics of North America* 26:801-827
74. **Anderson GH, Jr., Howland T, Domschek R, Streeten DH** 1986 Effect of sodium balance and calcium channel-blocking drugs on plasma aldosterone responses to

- infusion of angiotensin II in normal subjects and patients with essential hypertension. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 63:1126-1135
75. **Seifarth C, Trenkel S, Schobel H, Hahn EG, Hensen J** 2002 Influence of antihypertensive medication on aldosterone and renin concentration in the differential diagnosis of essential hypertension and primary aldosteronism. *Clinical endocrinology* 57:457-465
 76. **Campbell DJ, Nussberger J, Stowasser M, Danser AH, Morganti A, Frandsen E, Menard J** 2009 Activity assays and immunoassays for plasma Renin and prorenin: information provided and precautions necessary for accurate measurement. *Clinical chemistry* 55:867-877
 77. **Mitnick PD, Greenberg A, DeOreo PB, Weiner BM, Coffman TM, Walker BR, Agus ZS, Goldfarb S** 1980 Effects of two nonsteroidal anti-inflammatory drugs, indomethacin and oxaprozin, on the kidney. *Clinical pharmacology and therapeutics* 28:680-689
 78. **Ahmed AH, Calvird M, Gordon RD, Taylor PJ, Ward G, Pimenta E, Young R, Stowasser M** 2011 Effects of two selective serotonin reuptake inhibitor antidepressants, sertraline and escitalopram, on aldosterone/renin ratio in normotensive depressed male patients. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 96:1039-1045
 79. **Seiler L, Rump LC, Schulte-Monting J, Slawik M, Borm K, Pavenstadt H, Beuschlein F, Reincke M** 2004 Diagnosis of primary aldosteronism: value of different screening parameters and influence of antihypertensive medication. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies* 150:329-337
 80. **Gallay BJ, Ahmad S, Xu L, Toivola B, Davidson RC** 2001 Screening for primary aldosteronism without discontinuing hypertensive medications: plasma aldosterone-renin ratio. *Am J Kidney Dis* 37:699-705
 81. **Browne GA, Griffin TP, O'Shea PM, Dennedy MC** 2015 beta-Blocker withdrawal is preferable for accurate interpretation of the aldosterone-renin ratio in chronically treated hypertension. *Clinical endocrinology*
 82. **Volpe C, Wahrenberg H, Hamberger B, Thoren M** 2013 Screening for primary aldosteronism in a primary care unit. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 14:212-219
 83. **Jansen PM, van den Born BJ, Frenkel WJ, de Bruijne EL, Deinum J, Kerstens MN, Smulders YM, Woittiez AJ, Wijbenga JA, Zietse R, Danser AH, van den Meiracker AH** 2014 Test characteristics of the aldosterone-to-renin ratio as a screening test for primary aldosteronism. *Journal of hypertension* 32:115-126
 84. **Nishikawa T, Omura M, Satoh F, Shibata H, Takahashi K, Tamura N, Tanabe A** 2011 Guidelines for the diagnosis and treatment of primary aldosteronism--the Japan Endocrine Society 2009. *Endocrine journal* 58:711-721
 85. **Solar M, Malirova E, Ballon M, Pelouch R, Ceral J** 2012 Confirmatory testing in primary aldosteronism: extensive medication switching is not needed in all patients. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies* 166:679-686