

**Univerzita Karlova v Praze
1. lékařská fakulta**

Autoreferát disertační práce



Aldosteron syntáza u arteriální hypertenze a možný vliv
polymorfismu jejího genu na hypertrofii levé komory
srdeční

MUDr. Samuel Heller

Praha 2013

Doktorské studijní programy v biomedicině

Univerzita Karlova v Praze a Akademie věd České republiky

Obor: Fyziologie a patofyziologie člověka

Předseda oborové rady: Prof. MUDr. Jaroslav Pokorný, DrSc.

Školící pracoviště: II. Interní klinika kardiologie a angiologie
1. LF UK a VFN

Autor: MUDr. Samuel Heller

Školitel: Prof. MUDr. Karel Horký, DrSc.

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněna k nahlížení veřejnosti v tištěné podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky Děkanátu 1. lékařské fakulty.

Obsah

Souhrn	4
Abstract	6
Část I. Aldosteron syntáza a vliv jejího polymorfismu na krevní tlak a strukturu levé komory srdeční.....	8
Úvod.....	8
Hypotéza.....	9
Cíle práce.....	9
Metody	9
Výsledky.....	10
Diskuse	10
Závěry.....	11
Část II. Endoteliální dysfunkce u nekomplikované arteriální hypertenze a vliv léčby inhibitory ACE	12
Úvod.....	12
Hypotézy	13
Cíl práce	13
Metodika.....	13
Výsledky.....	14
Diskuse	14
Závěr.....	15
Literatura	16
Seznam publikací doktoranda	27

SOUHRN

Práce má dvě části. První část byla prováděna v rámci širšího výzkumu kandidátních genů v etiologii arteriální hypertenze zvláště v systému renin angiotensin aldosteron se zaměřením na aldosteron syntázu a vliv jejího polymorfismu na krevní tlak, humorální parametry a srdeční hypertrofii. Druhá část se zabývá hodnocením preklinických stadií aterosklerózy u hypertoniků, kteří neměli žádná jiná rizika vzniku aterosklerózy kromě hypertenze. Hodnotili jsme endoteliální dysfunkci a hladiny cytoadhesivních molekul jako markerů časného poškození cévní stěny u pacientů a jejich reakci na léčbu.

Část I. Polymorfismus aldosteron syntázy (CYP11B2) -344 T/C ve vztahu k arteriální hypertenzi a hypertrofii levé komory srdeční

Úvod: Aldosteron je klíčovým efektozem systému renin angiotensin aldosteron RAAS. Enzymem, který určuje rychlost syntézy aldosteronu je aldosteron syntáza CYP11B2. V oblasti jejího promotoru, kam se váže steroidogenním faktor -1, byl popsán polymorfismus -344T/C.

Design a metody: Zjišťovali jsme, zda tento polymorfismus může ovlivnit hmotnost levé komory a plasmatické hladiny reninu a aldosteronu na konzistentním souboru mladých zdravých mužů $n=113$. Dále jsme zjišťovali vztah genotypu T-344C CYP11B2 k arteriální hypertenzi na souboru, léčených hypertoniků $n=139$ s kontrolovanou hypertenzí, pacientů s rezistentní hypertenzí $n=74$ a zdravých kontrol středního věku $n=156$. Genotyp jsme stanovovali metodou PCR- RFLP (restriction fragment length polymorphism). Kardiální parametry byly hodnoceny echokardiograficky.

Výsledky: U mladých zdravých dobrovolníků jsme zjistili signifikantně vyšší hodnoty plasmatické reninové aktivity u nositelů alely TT (2.7 ± 1.7 vs 1.8 ± 1.0 vs 1.8 ± 1.1 ng/ml/h, $p < 0.01$, hodnoty pro TT, TC, CC). Nositelé genotypu TT v přítomnosti vyšší reninové aktivity mají statisticky významně vyšší index hmotnosti levé komory (95 ± 17 vs 84 ± 16 vs 81 ± 15 g/m², $p < 0.05$ hodnoty pro TT, TC, CC).

U pacientů s arteriální hypertenzí jsme demonstrovali signifikantní rozdíl v četnosti alel oproti zdravým kontrolám. Genotyp CC se vyskytuje častěji u normotenzních kontrol $p < 0,01$, zatímco alela T se vyskytuje častěji u pacientů s arteriální hypertenzí $p < 0,05$.

Závěr: Genotyp TT -344 T/C polymorfismu aldosteron syntázy (CYP11B2) je asociován s arteriální hypertenzí a hypertrofií levé komory srdeční.

Část II. Endoteliální dysfunkce u nekomplikované arteriální hypertenze a vliv léčby inhibitory ACE

Úvod: Endotel je jedním z největších orgánů v lidském těle. Rizikové faktory aterosklerózy jako kouření, hypertenze, dyslipidemie a hyperglykémie způsobují dysfunkci endotelu. U pacientů s arteriální hypertenzí je endoteliální dysfunkce charakterizována poruchou na endotelu závislé vazorelaxace, zvýšenou adhezivitou a permeabilitou endoteliálních buněk. Při poškození endotelu dochází k expresi cytoadhesivních molekul a cytokínů a následné migraci zánětlivých buněk do cévní stěny. Cytoadhesivní buňky jsou z povrchu endotelií odlučovány do krevního toku, kde mohou sloužit, jako marker dysfunkce endotelu.

Design a metody: Zjišťovali jsme pomocí laboratorních markerů stupeň endoteliální dysfunkce u hypertoniků n=22 bez jakýchkoli projevů orgánového postižení a bez dalších aterogenních faktorů oproti zdravým kontrolním jedincům n=22. Sledovali jsme hladiny cirkulujících adhesivních molekul, von Willebrandova faktoru (vWf), endothelinu a koagulačních parametrů.

Pak jsme zjišťovali, zda 3 měsíční léčba inhibitory ACE (po předchozím vysazení antihypertenzní léčby na 3 týdny) povede ke zlepšení endoteliální funkce a k poklesu hladin cirkulujících cytoadhesivních molekul v plasmě.

Výsledky: Potvrdili jsme známky endoteliální dysfunkce u nekomplikované esenciální arteriální hypertenze, ještě bez projevů orgánového postižení, s vyššími hladinami ICAM-1 (238 vs 208 ng/ml, $P = 0.02$), vWf (119 vs 105 IU/dl, $P < 0.05$) and endothelinu-1 (5.76 vs 5.14 fmol/ml, $P < 0.05$), ve srovnání se zdravými kontrolami. Po léčbě inhibitory ACE došlo k významnému poklesu plasmatického endothelinu-1 (5.76 vs 5.28 fmol/ml, $P < 0.01$). V ostatních parametrech jsme zaznamenali příznivý trend bez statistické významnosti.

Závěr: Systém renin angiotensin aldosteron je klíčovým mechanismem podílejícím se na endoteliální dysfunkci již časných stádiích nekomplikované hypertenze bez orgánových postižení. Blokáda systému renin angiotensin aldosteron je příznivá již na počátku onemocnění než dojde k poškození cévní stěny a orgánovým komplikacím.

Klíčová slova: Aldosteron, aldosteron syntáza, CYP11B2, polymorfismus genu, systém renin angiotensin aldosteron, mineralokortikoidní receptor, arteriální hypertenze, hypertrofie levé komory, RFLP, polymorfismus restričních fragment.

Endoteliální dysfunkce, cytoadhesivní molekuly, ICAM-1, von Willebrandův faktor, endotelin, E-selektin, angiotensin konvertující enzym, inhibitor ACE, quinapril

ABSTRACT

Part I. The aldosterone synthase gene (CYP11B2) polymorphism T-344C in blood pressure and left ventricular hypertrophy.

BACKGROUND: Aldosterone is a key cardiovascular hormone, it significantly influences volume, pressure and electrolyte balance. Aldosterone plays an important role in development of left ventricular (LV) hypertrophy and myocardial fibrosis. The aldosterone synthase gene (CYP11B2) is an important candidate gene region in essential hypertension.

DESIGN AND METHODS: We assessed the influence of the T-344C polymorphism of aldosterone synthase - the rate-limiting enzyme in aldosterone biosynthesis - on the structure of the left ventricle in 113 young normotensive mid-European Caucasian men (mean age 27 +/- 5 years).

We also studied the association of -344T/C polymorphism with the presence and severity of hypertension in 369 individuals, of whom 213 were hypertensive patients (139 controlled hypertensive, 74 resistant hypertensive) and 156 were healthy normotensive subjects.

The genotype was assessed using PCR-RFLP method. Plasma renin activity (PRA) and plasma aldosterone were measured by conventional RIA. LV mass was assessed by echocardiography by using M-mode based ASE formula.

RESULTS: In the population of normotensive young men the distribution of the genotypes was TT 23%: TC 55%: CC 22%. There were no differences in blood pressure among the groups. Men with the TT genotype had significantly higher levels of PRA (2.7 +/- 1.7 vs. 1.8 +/- 1.0 vs. 1.8 +/- 1.1 ng/ml/h, $p < 0.01$) and slightly higher plasma levels of aldosterone (113 +/- 64 vs 93 +/- 43 vs. 87 +/- 39 pg/ml, $p = 0.12$). In the whole population, LV mass index (LVMI) did not differ significantly among the genotypes (92 +/- 16 vs. 86 +/- 18 vs. 84 +/- 16 g/m, $p=0.20$). In the population divided according to PRA, subjects with higher renin had significantly higher LVMI in presence of the TT genotype (95 +/- 17 vs. 84 +/- 16 vs. 81 +/- 15 g/m², $p < 0.05$).

In the hypertensive cohort, the distribution of genotypes in normotensive controls and hypertensive subjects were: TT 25.6 vs. 31.9 %, TC 51.9 vs. 57.3 % and CC 22.4 vs. 10.8 %. Subjects carrying the -344T allele had a greater risk of hypertension compared to those having C allele ($\chi^2=5.89$, $p<0.05$). The frequency of CC genotype was significantly lower in hypertensive patients than in normotensive controls ($\chi^2=9.44$, $p<0.01$). A stepwise logistic regression analysis confirmed these findings.

CONCLUSIONS: We found that the TT genotype of T-344C polymorphism of aldosterone synthase gene was associated with significantly higher levels of PRA in normotensive men. In subjects with high PRA, the TT genotype was associated with higher values of the LVMI.

We did not find any association of -344T/C variant with the resistance of hypertensive patients to combination therapy, but we observed an association of -344T/C polymorphism of aldosterone synthase gene with increased risk of hypertension. These results support a potential role of -344T/C CYP11B2 gene polymorphism in genetic predisposition to develop hypertension.

Part II. : Circulating cell adhesion molecules and markers of endothelial dysfunction in uncomplicated essential hypertension and the effect of treatment with angiotensin converting enzyme inhibitors

BACKGROUND: The endothelium lines all blood vessels in the human body, its impaired function is a basic factor in the genesis and development of vascular disease. In patients with arterial hypertension endothelial dysfunction is characterized by an impaired endothelium dependent relaxation, increased adhesion and permeability of endothelial cells, structural changes of the vascular wall. When the endothelium is damaged by released cytokines an increased expression of adhesion molecules occurs, adhesion and migration of inflammatory cells across the vascular wall. Cytoadhesion molecules are released from the surface of the endothelium into the circulation where the rise of their plasma levels can serve as a marker of endothelial damage.

DESIGN AND METHODS: The aim of our study was to examine whether the circulating cell adhesion molecules, von Willebrand factor (vWf) and endothelin-1, are elevated in patients with essential hypertension with no other risk factors for atherosclerosis and thus may serve as a markers of endothelial dysfunction in uncomplicated hypertension. We also studied the effect of treatment with the ACE inhibitor, quinapril, on levels of endothelial dysfunction markers. The levels of adhesion molecules (intercellular cell adhesion molecule-1 [ICAM-1], E-selectin, P-selectin), von Willebrand factor (vWf) and endothelin-1 were measured in patients with hypertension before and after treatment with quinapril n = 22 and in normotensive controls n = 22.

RESULTS: Compared with normotensive subjects, the hypertensive patients had significantly higher levels of ICAM-1 (238 vs. 208 ng/ml, $P = 0.02$), vWf (119 vs. 105 IU/dl, $P < 0.05$) and endothelin-1 (5.76 vs. 5.14 fmol/ml, $P < 0.05$). Three-month treatment of hypertensive patients with quinapril led to a significant decrease in the levels of endothelin-1 (5.76 vs. 5.28 fmol/ml, $P < 0.01$). We did not observe significant changes in the levels of adhesion molecules and vWf after ACE inhibitor treatment, although a trend toward a decrease was apparent with all these parameters.

CONCLUSIONS: Patients with uncomplicated hypertension with no other risk factors of atherosclerosis had significantly elevated levels of ICAM-1, vWf, and endothelin-1. Our data suggest that these factors may serve as markers of endothelial damage even in uncomplicated hypertension. In hypertensive patients, treatment with the ACE inhibitor quinapril resulted in a significant decrease in endothelin-1 levels. These findings indicate a beneficial effect of ACE inhibitors on endothelial dysfunction in hypertensive patients.

Keywords: Aldosterone, aldosterone synthase, CYP11B2, gene polymorphism, renin angiotensin aldosterone system, mineralocorticoid receptor, arterial hypertension, left ventricular hypertrophy, RFLP, restriction fragment length polymorphism

Endothelial dysfunction, cytoadhesive molecules, ICAM-1, von Willebrand factor, endothelin, E-selectin, angiotensin converting enzyme, ACE inhibitor, quinapril.

ČÁST I. ALDOSTERON SYNTÁZA A VLIV JEJÍHO POLYMORFISMU NA KREVŇÍ TLAK A STRUKTURU LEVÉ KOMORY SRDEČNÍ

ÚVOD

Aldosteron je klíčovým efektozem systému renin angiotensin aldosteron RAAS. Je syntetizován v nadledvinách v zona glomerulosa a váže se na specifické mineralokortikoidní receptory v epitelálních tkáních – v distálních tubulu ledvin a v colon, kde reguluje hospodaření se sodíkem a vodou a extracelulárním objemem, tím určuje jeden ze základních parametrů krevního tlaku. Aldosteron má kromě regulace krevního tlaku i další efekty i na kardiovaskulární aparát. Mineralokortikoidní receptor byl popsán v kardiomyocytech, fibroblastech, buňkách hladkých svalů stěny cévní a v monocytech – makrofázích. Aldosteron může být syntetizován i lokálně v myokardu a v cévní stěně, kde působí jako autokrinně a parakrinní hormon, zvláště za abnormálních stavů – např. při zvýšeném napětí ve stěně levé komory srdeční. Aldosteron zvyšuje expresi receptorů pro angiotensin II. Tím vytváří pozitivní zpětnou vazbu pro vlastní syntézu. Aldosteron má také rychlý negenomický efekt přes membránový receptor, který byl recentně popsán a označen jako GPR30. Nadprodukce aldosteronu vede k hypertrofii myokardu, perivaskulárnímu zánětu a k fibróze myokardu. Aldosteron také zvyšuje aktivitu sympatického systému tím, že snižuje zpětné vychytávání noradrenalinu na nervových zakončeních. V rozsáhlých randomizovaných studiích u pacientů se srdečním selháním přidání inhibitorů mineralokortikoidních receptorů k optimální léčbě srdečního selhání inhibitory ACE a betablokátory výrazně snižovalo mortalitu. Inhibice systému renin angiotensin aldosteron vede k zlepšení endoteliální funkce a regresi hypertrofie a fibrotizace myokardu. Recentně bylo prokázáno, že změny navozené v cévách a v ledvinách angiotensinem II lze blokovat podáváním antagonistů aldosteronu. To svědčí pro důležitější roli aldosteronu v patofyziologii vaskulárních změn a pro zásadní roli lokálních systémů RAAS.

Enzymem, který určuje rychlost syntézy aldosteronu je aldosteron syntáza - CYP11B2. V oblasti jejího promotoru, kam se váže steroidogenním faktor -1, byl popsán polymorfismus T/C. V některých pracích byla popsána asociace tohoto polymorfismu resp. genotypu CC s rozměrem levé komory srdeční a nižší natriuretickou odpovědí na zátěž solí. V jiných studiích byl genotypu TT asociován s hypertenzí a hypertrofií levé komory srdeční na souborech, které však nebyly vždy konzistentní a u pacientů, kteří již např. užívali antihypertenzní léčbu.

HYPOTÉZA

Polymorfismus aldosteron syntázy v oblasti jejího promotoru -344 T/C, v místě, kam se váže steroidogenním faktor SF-1, ovlivňuje hmotnost levé komory srdeční a výši krevního tlaku.

CÍLE PRÁCE

Sledovali jsme, zda polymorfismus T-344C genu aldosteron syntázy může mít vliv na výši krevního tlaku a masu levé komory srdeční.

Dále jsme zjišťovali, zda může mít vliv na hladiny některých humorálních působků, zvláště reninu a aldosteronu.

Zjišťovali jsme vztah genotypu pro aldosteron syntázu k závažnosti hypertenze na souboru s rezistentní hypertenzí, hypertenzí korigovanou léčbou a skupinou zdravých kontrol odpovídajícího věku.

METODY

Na populaci 113 mladých zdravých dobrovolníků ve věku 18-40 let (průměr 27 +/- 5 let) jsme vyšetřovali genotyp, hormonální parametry a strukturální a funkční kardiální parametry.

Vztah k hypertenzi jsme studovali na populaci pacientů s esenciální hypertenzí korigovanou léčbou n=139, rezistentní hypertenzí n=74 a výsledky srovnávali se zdravými normotenzními kontrolami středního věku n=156.

Genotyp jsme hodnotili pomocí PCR s následným štěpením restriktivním enzymem (restriction fragment length polymorphism - RFLP) HAE III s elektroforézou v gelu a vizualizací etidium bromidem, přesnost RFLP metodiky byla ověřena přímou sekvenací na vzorku vyšetřovaných.

Plasmatická reninová aktivita a plasmatická hladina aldosteronu byla měřena konvenční RIA za použití kitu firmy Immunotech.

Pacienti byli vyšetřeni echokardiograficky, byly hodnoceny parametry transmitrálního průtoku, rozměry levé komory srdeční a hmotnost levé komory byla určena pomocí M modu vzorcem určujícím hmotnost LK jako rotačního elipsoidu podle americké společnosti pro echokardiografii ASE.

Statistické zpracování bylo provedeno statistikem za použití JMP 3.2 statistického software (SAS Institute Inc. Carry, NC, USA). Data jsou vyjádřena jako průměrné hodnoty ± směrodatná odchylka. Rozdíly mezi

jednotlivými skupinami byly testovány analýzou rozptylu (ANOVA – analysis of variance) a rozdíly mezi dvěma skupinami byly prováděny nepárovým Studentovým *t*-testem za použití Bonfèroniho korekce. Jako statisticky významné výsledky byly považovány hodnoty s $p < 0,05$.

VÝSLEDKY

U mladých zdravých dobrovolníků jsme zjistili signifikantně vyšší hodnoty plasmatické reninové aktivity u nositelů alely TT (2.7 +/- 1.7 vs. 1.8 +/- 1.0 vs. 1.8 +/- 1.1 ng/ml/h, $p < 0.01$, hodnoty pro TT, TC, CC). Poté, co jsme rozdělili probandy podle mediánu plasmatické reninové aktivity na ty s nízkým a vyšším reninem, jsme zjistili, že držitelé genotypu TT v přítomnosti vyšší reninové aktivity mají statisticky významně vyšší index hmotnosti levé komory (95 +/- 17 vs. 84 +/- 16 vs. 81 +/- 15 g/m², $p < 0.05$ hodnoty pro TT, TC, CC).

U pacientů s arteriální hypertenzí jsme demonstrovali signifikantní rozdíl v četnosti alel oproti zdravým kontrolám. Genotyp CC se vyskytuje častěji u normotenzních kontrol $p < 0,01$, zatímco alela T se vyskytuje častěji u pacientů s arteriální hypertenzí $p < 0,05$. Na našem souboru jsme nebyli schopni demonstrovat asociaci výskytu alely T s rezistentní hypertenzí.

DISKUSE:

Studie zkoumající vliv polymorfismu -344T/C na krevní tlak a hypertrofii levé komory srdeční byly často prováděny na nekonzistentních souborech. Snažili jsme se proto odstranit z našeho souboru všechny možné zavádějící faktory, vyloučili jsme i ženy pro variabilitu hormonálních hladin během cyklu. Při posuzování populace mladých zdravých dobrovolníků jsme nebyli schopni demonstrovat významné rozdíly ve strukturálních parametrech levé komory srdeční, pokud jsme však rozdělili probandy podle mediánu plasmatické reninové aktivity na ty s vyšším a nižším reninem, byli jsme schopni demonstrovat signifikantně vyšší index hmotnosti levé komory srdeční.

Nejasnou je příčina statisticky významně vyšší plasmatické reninové aktivity u jedinců s TT genotypem pro aldosteron syntázu. Tento náš nálezn však byl potvrzen v metaanalýze Sookoiana na 5343 hypertonicích a 5882 kontrolách, kde měli homozygoti TT vyšší plasmatickou reninovou aktivitu při nezměněných hladinách plasmatického aldosteronu spolu s o 17% vyšším

rizikem nositelů TT že rozvinou arteriální hypertenzi oproti nositelům genotypu CC.

Na základě našich výsledků a zdrojů v písemnictví můžeme vyzorovat dva intermediární fenotypy:

1. TT genotyp a vyšší PRA se sklonem k hypertenzi a hypertrofii LK (která je pravděpodobně zprostředkována také přes AT1R) s adekvátním poklesem plasmatického aldosteronu po zátěži solí a adekvátním zvýšením exkrece sodíku močí po zátěži solí.
2. CC genotyp s relativně větším enddiastolickým rozměrem LK a sníženou exkrecí soli po zátěži a plasmatickými hladinami aldosteronu, které adekvátně neklesají po zátěži solí.

Práce studující vliv běžného polymorfismu v populaci mohou mít potenciální praktické využití ve farmakoterapii.

Pokud by se prokázalo významné působení určitého polymorfismu v systému tak důležitém pro srdeční selhání a arteriální hypertenzi a selhání ledvin, jakým bezesporu systém RAAS je, pak by bylo možno v souvislosti s léčbou stratifikovat pacienty např. se srdečním selháním nebo s hypertenzí a hypertrofií srdce k včasnější a případně intenzivnější léčbě nebo léčbě specifické podle genetické zátěže toho či kterého jedince.

ZÁVĚRY

Obecně lze říci, že hypotézy jsme potvrdili.

V naší studii jsme prokázali vztah mezi TT genotypem aldosteron syntázy, hypertrofií LK a zjistili jsme, že pacienti s TT genotypem mají vyšší plasmatickou reninovou aktivitu. Také jsme potvrdili asociaci alely T s arteriální hypertenzí v české populaci.

Systém renin angiotensin aldosteron se dotýká dvou ze tří hlavních proměnných v regulaci krevního tlaku. Jednak jeho efektor angiotensin II je mocným vasokonstriktorem a aldosteron nastavuje úroveň intravaskulárního objemu řízením vstřebávání sodíku a vody. Aldosteron je jedním z nepotentnějších růstových faktorů pro vznik hypertrofie a fibrózy myokardu a cévní stěny. Navíc jeho blokáda příznivě působí na morbiditu i mortalitu u pacientů s hypertenzí, aterosklerózou a srdečním selháním a selháním ledvin.

ČÁST II. ENDOTELIÁLNÍ DYSFUNKCE U NEKOMPLIKOVANÉ ARTERIÁLNÍ HYPERTENZE A VLIV LÉČBY INHIBITORY ACE

ÚVOD

Působením vysokého krevního tlaku dochází v malých a velkých tepnách postupně ke změnám, které způsobují závažné kardiovaskulární komplikace. Prvním stadiem jsou změny na mikroskopické a celulární úrovni vnitřní výstelky cév, endotelu, který svou velikostí tvoří jeden z největších orgánů v lidském těle. Rizikové faktory aterosklerózy jako kouření, hypertenze, dyslipidemie a hyperglykémie způsobují dysfunkci endotelu. U pacientů s arteriální hypertenzí je endoteliální dysfunkce charakterizována různými změnami, hlavně poruchou na endotelu závislé vazorelaxace – neschopností tvořit NO – oxid dusnatý, zvýšenou adhesivitou a permeabilitou endoteliálních buněk. Při poškození endotelu dochází k expresi cytoadhesivních molekul a k produkci cytokínů a následně migraci zánětlivých buněk do cévní stěny. Tento krok je klíčový pro vznik aterosklerotického plátu. Migrace formovaných elementů je zprostředkována právě cytoadhesivními molekulami. Cytoadhesivní molekuly jsou z povrchu endotelií odlučovány do krevního toku, kde mohou sloužit, jako marker dysfunkce endotelu.

V rozvoji endoteliální dysfunkce a změn v cévní stěně hraje důležitou roli systém renin angiotensin aldosteron. Angiotensin II zvyšuje transkripci endothelinu -1, mocného lokálního vasokonstriktoru a tlumí fibrinolýzu tím, že zvyšuje produkci inhibitoru aktivátoru plasminogenu (PAI-1). Aktivuje lokální syntézu aldosteronu, která přispívá k zánětlivým změnám a tvorbě kyslíkových radikálů, které prohlubují endoteliální dysfunkci a spouští produkci cytokínů např. MCP-1 a cytoadhesivních molekul jako např. ICAM-1.

V předchozích studiích bylo prokázáno, že množství cirkulujících solubilních cytoadhesivních molekul koreluje přímo s množstvím exprimovaných ICAM-1 a E-selektinu na povrchu endoteliálních buněk. Dále bylo demonstrováno, že pacienti s diabetem mellitem a esenciální hypertenzí mají vyšší hodnoty solubilních cytoadhesivních molekul ICAM -1 a VCAM-1, E selectinu a von Willebrandova faktoru (vWf). Vyšší hladiny solubilního P selektinu byly nalezeny v korelaci s vyšším rizikem budoucího infarktu myokardu a kardiovaskulárního úmrtí. Dále byly nalezeny výrazně vysoké hodnoty solubilních cytoadhesivních molekul u pacientů s renovaskulární a maligní hypertenzí, stavy, které jsou spojeny s vysokou aktivitou systému RAAS.

HYPOTÉZY

1. Pacienti s nekomplikovanou hypertenzí bez jakýchkoli klinických známek aterosklerózy již mají molekulární subklinické známky poškození endotelu ve smyslu změněných hladin cytoadhesivních molekul a vasoaktivních působků jako např. endotelinu-1 oproti srovnatelným zdravým kontrolám.
2. V poškození cévní stěny již v takto časných stádiích esenciální hypertenze předpokládáme klíčovou roli systému renin angiotensin aldosteron, proto předpokládáme, že inhibice tohoto systému inhibitorem konvertujícího enzymu u pacientů s nekomplikovanou esenciální hypertenzí způsobí detekovatelné změny v hladinách markerů endotelální dysfunkce – cytoadhesivních molekul a vasoaktivních působků.

CÍL PRÁCE

Cílem studie bylo zjistit, zda pacienti s nekomplikovanou esenciální hypertenzí budou mít vyšší hodnoty solubilních cytoadhesivních molekul, případně von Willebrandova faktoru (vWf) a endotelinu-1 ve srovnání se zdravými kontrolami.

Dále jsme studovali efekt léčby inhibitorem angiotensin konvertujícího enzymu (ACE) quinaprilem na markery endotelální dysfunkce. Očekávali jsme, že tříměsíční léčba inhibitorem angiotensin konvertujícího enzymu může mít příznivý vliv na hladinu cytoadhesivních molekul a případně na dalším změny v koagulačních a humorálních parametrech.

METODIKA

Všem pacientům byly odebrány vzorky krve ráno nalačno poté, co leželi 20 minut v klidu na zádech. Vyšetřovali jsme standardní parametry (sedimentace erytrocytů, biochemické vyšetření séra, krevní obraz, lipoproteinové spektrum, hemokoagulační parametry a CRP). Hladiny solubilních cytoadhesivních molekul byly stanoveny pomocí komerčních kitů používajících metodu ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) firmy RD Systems, Abingdon, UK. Monoklonální protilátky byly specifické pro E- selectin, P- selectin a ICAM-1. Hladina von Willebrandova faktoru byla měřena komerčním ELISA kitem s použitím specifického králičí protilátky (Asserachrom, Diagnostica Stago, Francie). Hladiny plasmatického endothelinu jsme měřili komerční radioimmunoesejí (firmy DRG – Instruments GmbH, Marburg, Německo).

Statistické zpracování bylo provedeno statistikem pomocí JMP 3.2.2 software. Srovnání mezi pacienty a zdravými kontrolami bylo prováděno Studentovým t-testem. Test Mann-Whitney byl použit k porovnání hladin PAI (Plasminogen activator inhibitor). Změny v hladinách solubilních cytoadhesivních molekul před léčbou a po léčbě byly porovnány párovým Studentovým t- testem. PAI hodnoty byly hodnoceny Wilcoxonovým testem. Hodnoty pro $p < 0,05$ byly považovány za statisticky významné.

Pacienti, kteří již byli léčeni před zahájením studie, vysadili antihypertenzní léčbu na 3 týdny a poté byly teprve provedeny bazální odběry sledovaných parametrů. Nově diagnostikovaní hypertonici byli vyšetřeni rovnou. Po odběru sledovaných parametrů byl nemocným nasazen quinapril v dávce 5-40 mg/den titrované dle krevního tlaku. Průměrná dávka quinaprilu byla $13,2 \text{ mg} \pm 8,3 \text{ mg}$. Průměrný systolický krevní tlak klesl při léčbě quinapilem ze 143 ± 15 na $137 \pm 15 \text{ mm Hg}$. Diastolický tlak poklesl z 94 ± 8 na $88 \pm 9 \text{ mm Hg}$.

VÝSLEDKY

Mladí hypertonici bez klinických projevů aterosklerózy již měli vyšší hladiny ICAM-1 (238 vs. 208 ng/ml, $P = 0.02$), vWf (119 vs 105 IU/dl, $P < 0.05$) and endothelinu-1 (5.76 vs. 5.14 fmol/ml, $P < 0.05$), ve srovnání se zdravými kontrolami.

Po tříměsíční léčbě inhibitory ACE došlo k významnému poklesu plasmatického endothelinu-1 (5.76 vs. 5.28 fmol/ml , $P < 0.01$). V ostatních parametrech jsme zaznamenali příznivý trend bez statistické významnosti.

DISKUSE

Potvrdili jsme laboratorní známky endoteliální dysfunkce již u nekomplikované esenciální arteriální hypertenze, ještě bez projevů orgánového poškození. Studie s cytoadhesivními molekulami u hypertoniků byly doposud prováděny většinou na souborech pacientů, kteří měli manifestní aterosklerotické poškození nebo jiné závažné metabolické změny. Náš soubor byl homogenní a umožnil studovat „čistě hypertenzí“ navozené změny endotelu bez dalších matoucích faktorů. Skupina zdravých dobrovolníků, kteří měli odpovídající věk, antropometrické i základní biochemické parametry ukazuje rozdíl funkce endotelu u zdravých jedinců a jinak zdravých pacientů pouze s vyšším krevním tlakem, kde by vyvolavatelem změn měly být pouze mechanické změny působící na endotel – zvýšený pulsatilní tlak a zvýšené smykové napětí.

Neočekávali jsme nález vyšších hladin vWf, které byly v písemnictví doposud spojovány s pokročilými stavy aterosklerózy.

Zjistili jsme vyšší bazální hladiny endotelinu -1 i jejich signifikantní pokles po léčbě inhibitory ACE. Blokádu systému RAAS dochází ke snížení angiotensinu II navozené exprese ET-1. Navíc inhibicí aktivity ACE – je snižováno odbourávání bradykininu, který má na endotel příznivé vasodilatační a antitrombotické účinky. Blokádu ACE také dochází ke snížení produkce aldosteronu, protože hlavním stimulem jeho tvorby v nadledvině i v cévní stěně je působení angiotensinu II na AT₁ receptor.

Nebyli jsme schopni demonstrovat signifikantní pokles ostatních parametrů po tříměsíční léčbě inhibitory ACE. Může se jednat o chybu malých čísel, náš soubor byl sice velmi dobře definovaný, ale ne příliš rozsáhlý. Další možnou příčinou je relativně nižší dávka inhibitory ACE. Agresivnější dávkování by mohlo přinést zřetelnější změny. Existuje evidence, že hladiny cytoadhesivních molekul souvisí s vyšší dávkou inhibitory ACE a většina rozsáhlých klinických mortalitních studií, která prokázala příznivý vliv užívání inhibitory ACE používala dávky 1,5 - 2x vyšší, než je běžné v praxi.

Systém renin – angiotensin - aldosteron ovlivňuje časně endoteliální molekulární změny u pacientů s mírnou hypertenzí, u kterých ještě nedošlo k rozvoji orgánových komplikací. Léčba arteriální hypertenze inhibitory ACE pomáhá normalizovat poškozenou funkci endotelu.

ZÁVĚR

V naší studii jsme prokázali u pacientů s nekomplikovanou arteriální hypertenzí bez klinických známek aterosklerózy zvýšené hladiny cirkulujících markerů endoteliální dysfunkce v plasmě oproti zdravým kontrolám. Dále jsme prokázali významný pokles hladin vasokonstriktoru endotelinu-1 po 3 měsících léčby inhibitory ACE u pacientů s nekomplikovanou arteriální hypertenzí. Domníváme se, že zásah do systému renin angiotensin aldosteron je klíčový již na začátku léčby esenciální hypertenze v období subklinických orgánových změn.

Systém renin – angiotensin - aldosteron funguje jako jeden z hlavních regulačních systémů řídicích krevní tlak a intravaskulární objem. Navíc významně ovlivňuje trofické a zánětlivé změny cévní stěny a myokardu. Studium genetických predispozic i časných změn na úrovni molekul ve stěně cévní v počátečních stádiích hypertenze může pomoci zkvalitnit a zacílit léčbu hypertenze a včas zabránit orgánovým komplikacím.

LITERATURA

1. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*. Apr 29 1993;362(6423):801-809.
2. Manyari DE. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *N Engl J Med*. Dec 13 1990;323(24):1706-1707.
3. Koren MJ, Devereux RB, Casale PN, Savage DD, Laragh JH. Relation of left ventricular mass and geometry to morbidity and mortality in uncomplicated essential hypertension. *Ann Intern Med*. Mar 1 1991;114(5):345-352.
4. Davies MJ, Gordon JL, Gearing AJ, et al. The expression of the adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1, PECAM, and E-selectin in human atherosclerosis. *J Pathol*. Nov 1993;171(3):223-229.
5. Lifton RP, Dluhy RG, Powers M, et al. Hereditary hypertension caused by chimaeric gene duplications and ectopic expression of aldosterone synthase. *Nat Genet*. Sep 1992;2(1):66-74.
6. Botero-Velez M, Curtis JJ, Warnock DG. Brief report: Liddle's syndrome revisited--a disorder of sodium reabsorption in the distal tubule. *N Engl J Med*. Jan 20 1994;330(3):178-181.
7. Jeunemaitre X, Gimenez-Roqueplo AP. [Genetics and arterial hypertension: 3 approaches to decode a complex disease]. *Bull Acad Natl Med*. 2002;186(9):1595-1606; discussion 1606-1599.
8. Parati G, Esler M. The human sympathetic nervous system: its relevance in hypertension and heart failure. *Eur Heart J*. May 2012;33(9):1058-1066.
9. Esler M, Jennings G, Korner P, Blombery P, Sacharias N, Leonard P. Measurement of total and organ-specific norepinephrine kinetics in humans. *Am J Physiol*. Jul 1984;247(1 Pt 1):E21-28.
10. Cohn JN, Levine TB, Olivari MT, et al. Plasma norepinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure. *N Engl J Med*. Sep 27 1984;311(13):819-823.
11. Packer M, Bristow MR, Cohn JN, et al. The effect of carvedilol on morbidity and mortality in patients with chronic heart failure. U.S. Carvedilol Heart Failure Study Group. *N Engl J Med*. May 23 1996;334(21):1349-1355.
12. Esler M, Jennings G, Korner P, et al. Assessment of human sympathetic nervous system activity from measurements of norepinephrine turnover. *Hypertension*. Jan 1988;11(1):3-20.
13. Geerling JC, Loewy AD. Aldosterone in the brain. *Am J Physiol Renal Physiol*. Sep 2009;297(3):F559-576.
14. Esler MD, Krum H, Schlaich M, Schmieder RE, Bohm M, Sobotka PA. Renal sympathetic denervation for treatment of drug-resistant hypertension: one-year results from the Symplicity HTN-2 randomized, controlled trial. *Circulation*. Dec 18 2012;126(25):2976-2982.
15. Holmer SR, Hengstenberg C, Mayer B, et al. Marked suppression of renin levels by beta-receptor blocker in patients treated with standard heart failure therapy: a

- potential mechanism of benefit from beta-blockade. *J Intern Med.* Feb 2001;249(2):167-172.
16. Funder JW. Minireview: aldosterone and the cardiovascular system: genomic and nongenomic effects. *Endocrinology.* Dec 2006;147(12):5564-5567.
 17. Fuller PJ, Yao Y, Yang J, Young MJ. Mechanisms of ligand specificity of the mineralocorticoid receptor. *J Endocrinol.* Apr 2012;213(1):15-24.
 18. Salyer SA, Parks J, Barati MT, et al. Aldosterone regulates Na, K ATPase activity in human renal proximal tubule cells through mineralocorticoid receptor. *Biochim Biophys Acta.* May 15 2013.
 19. Weber KT, Brilla CG. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. Fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system. *Circulation.* Jun 1991;83(6):1849-1865.
 20. Connell JM, Davies E. The new biology of aldosterone. *J Endocrinol.* Jul 2005;186(1):1-20.
 21. White PC. Aldosterone: direct effects on and production by the heart. *J Clin Endocrinol Metab.* Jun 2003;88(6):2376-2383.
 22. Stockand JD. New ideas about aldosterone signaling in epithelia. *Am J Physiol Renal Physiol.* Apr 2002;282(4):F559-576.
 23. Wulff P, Vallon V, Huang DY, et al. Impaired renal Na(+) retention in the sgk1-knockout mouse. *J Clin Invest.* Nov 2002;110(9):1263-1268.
 24. Mastroberardino L, Spindler B, Forster I, et al. Ras pathway activates epithelial Na⁺ channel and decreases its surface expression in *Xenopus* oocytes. *Mol Biol Cell.* Dec 1998;9(12):3417-3427.
 25. Stockand JD, Meszaros JG. Aldosterone stimulates proliferation of cardiac fibroblasts by activating Ki-RasA and MAPK1/2 signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* Jan 2003;284(1):H176-184.
 26. Blazer-Yost BL, Liu X, Helman SI. Hormonal regulation of ENaCs: insulin and aldosterone. *Am J Physiol.* May 1998;274(5 Pt 1):C1373-1379.
 27. Bunda S, Liu P, Wang Y, Liu K, Hinek A. Aldosterone induces elastin production in cardiac fibroblasts through activation of insulin-like growth factor-I receptors in a mineralocorticoid receptor-independent manner. *Am J Pathol.* Sep 2007;171(3):809-819.
 28. Brem AS. Targeting activated mineralocorticoid receptor: Occam's razor revisited. *Kidney Int.* Sep 2012;82(6):619-620.
 29. Evans RM, Arriza JL. A molecular framework for the actions of glucocorticoid hormones in the nervous system. *Neuron.* Feb 1989;2(2):1105-1112.
 30. Wendler A, Albrecht C, Wehling M. Nongenomic actions of aldosterone and progesterone revisited. *Steroids.* Aug 2012;77(10):1002-1006.
 31. Gros R, Ding Q, Sklar LA, et al. GPR30 expression is required for the mineralocorticoid receptor-independent rapid vascular effects of aldosterone. *Hypertension.* Mar 2011;57(3):442-451.
 32. Funder JW. GPR30, mineralocorticoid receptors, and the rapid vascular effects of aldosterone. *Hypertension.* Vol 57. United States; 2011:370-372.

33. Milliez P, Girerd X, Plouin PF, Blacher J, Safar ME, Mourad JJ. Evidence for an increased rate of cardiovascular events in patients with primary aldosteronism. *J Am Coll Cardiol*. Apr 19 2005;45(8):1243-1248.
34. Tanabe A, Naruse M, Naruse K, et al. Left ventricular hypertrophy is more prominent in patients with primary aldosteronism than in patients with other types of secondary hypertension. *Hypertens Res*. Jun 1997;20(2):85-90.
35. Indra T, Holaj R, Zelinka T, et al. Left ventricle remodeling in men with moderate to severe volume-dependent hypertension. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. Dec 2012;13(4):426-434.
36. Widimský J, Jr., Štrauch B, Petrák O, et al. Vascular disturbances in primary aldosteronism: clinical evidence. *Kidney Blood Press Res*. 2012;35(6):529-533.
37. Holaj R, Zelinka T, Wichterle D, Petrák O, Štrauch B, Widimsky J, Jr. Increased intima-media thickness of the common carotid artery in primary aldosteronism in comparison with essential hypertension. *J Hypertens*. Jul 2007;25(7):1451-1457.
38. Duprez DA, Bauwens FR, De Buyzere ML, et al. Influence of arterial blood pressure and aldosterone on left ventricular hypertrophy in moderate essential hypertension. *Am J Cardiol*. Jan 21 1993;71(3):17a-20a.
39. Nishiyama A, Yao L, Fan Y, et al. Involvement of aldosterone and mineralocorticoid receptors in rat mesangial cell proliferation and deformability. *Hypertension*. Apr 2005;45(4):710-716.
40. Bomback AS, Klemmer PJ. Mineralocorticoid receptor blockade in chronic kidney disease. *Blood Purif*. 2012;33(1-3):119-124.
41. Sato A, Hayashi K, Naruse M, Saruta T. Effectiveness of aldosterone blockade in patients with diabetic nephropathy. *Hypertension*. Jan 2003;41(1):64-68.
42. Mehdi UF, Adams-Huet B, Raskin P, Vega GL, Toto RD. Addition of angiotensin receptor blockade or mineralocorticoid antagonism to maximal angiotensin-converting enzyme inhibition in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. Dec 2009;20(12):2641-2650.
43. Epstein M, Williams GH, Weinberger M, et al. Selective aldosterone blockade with eplerenone reduces albuminuria in patients with type 2 diabetes. *Clin J Am Soc Nephrol*. Sep 2006;1(5):940-951.
44. Luther JM, Luo P, Wang Z, et al. Aldosterone deficiency and mineralocorticoid receptor antagonism prevent angiotensin II-induced cardiac, renal, and vascular injury. *Kidney Int*. Sep 2012;82(6):643-651.
45. Widimský J, Jr., Šindelka G, Haas T, Prázný M, Hilgertová J, Škrha J. Impaired insulin action in primary hyperaldosteronism. *Physiol Res*. 2000;49(2):241-244.
46. Ehrhart-Bornstein M, Lamounier-Zepter V, Schraven A, et al. Human adipocytes secrete mineralocorticoid-releasing factors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Nov 25 2003;100(24):14211-14216.
47. Ehrhart-Bornstein M, Arakelyan K, Krug AW, Scherbaum WA, Bornstein SR. Fat cells may be the obesity-hypertension link: human adipogenic factors stimulate aldosterone secretion from adrenocortical cells. *Endocr Res*. Nov 2004;30(4):865-870.

48. Hitomi H, Kiyomoto H, Nishiyama A, et al. Aldosterone suppresses insulin signaling via the downregulation of insulin receptor substrate-1 in vascular smooth muscle cells. *Hypertension*. Oct 2007;50(4):750-755.
49. Whaley-Connell A, Johnson MS, Sowers JR. Aldosterone: role in the cardiometabolic syndrome and resistant hypertension. *Prog Cardiovasc Dis*. Mar-Apr 2010;52(5):401-409.
50. Štrauch B, Zelinka T, Hampf M, Bernhardt R, Widimský J, Jr. Prevalence of primary hyperaldosteronism in moderate to severe hypertension in the Central Europe region. *J Hum Hypertens*. May 2003;17(5):349-352.
51. Calhoun DA, Jones D, Textor S, et al. Resistant hypertension: diagnosis, evaluation, and treatment: a scientific statement from the American Heart Association Professional Education Committee of the Council for High Blood Pressure Research. *Circulation*. Jun 24 2008;117(25):e510-526.
52. Gaddam Kk NMKP-UMN, et al. Characterization of resistant hypertension: Association between resistant hypertension, aldosterone, and persistent intravascular volume expansion. *Archives of Internal Medicine*. 2008;168(11):1159-1164.
53. Calhoun DA. Low-dose aldosterone blockade as a new treatment paradigm for controlling resistant hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. Jan 2007;9(1 Suppl 1):19-24.
54. Pimenta E, Calhoun DA. Resistant hypertension and aldosteronism. *Curr Hypertens Rep*. Nov 2007;9(5):353-359.
55. Rossi GP, Sacchetto A, Pavan E, et al. Remodeling of the left ventricle in primary aldosteronism due to Conn's adenoma. *Circulation*. Mar 18 1997;95(6):1471-1478.
56. Brilla CG, Weber KT. Mineralocorticoid excess, dietary sodium, and myocardial fibrosis. *J Lab Clin Med*. Dec 1992;120(6):893-901.
57. Young M, Fullerton M, Dilley R, Funder J. Mineralocorticoids, hypertension, and cardiac fibrosis. *J Clin Invest*. Jun 1994;93(6):2578-2583.
58. Sato A, Saruta T. Aldosterone-induced organ damage: plasma aldosterone level and inappropriate salt status. *Hypertens Res*. May 2004;27(5):303-310.
59. Lacolley P, Safar ME, Lucet B, Ledudal K, Labat C, Benetos A. Prevention of aortic and cardiac fibrosis by spironolactone in old normotensive rats. *J Am Coll Cardiol*. Feb 2001;37(2):662-667.
60. Packer M. New concepts in the pathophysiology of heart failure: beneficial and deleterious interaction of endogenous haemodynamic and neurohormonal mechanisms. *J Intern Med*. Apr 1996;239(4):327-333.
61. Pitt B. "Escape" of aldosterone production in patients with left ventricular dysfunction treated with an angiotensin converting enzyme inhibitor: implications for therapy. *Cardiovasc Drugs Ther*. Feb 1995;9(1):145-149.
62. Horvath K. [Aldosterone as an endogenous cardiovascular toxin and the options for its therapeutic management]. *Vnitř Lek*. Dec 2011;57(12):1012-1016.

63. Sato A, Suzuki Y, Saruta T. Effects of spironolactone and angiotensin-converting enzyme inhibitor on left ventricular hypertrophy in patients with essential hypertension. *Hypertens Res.* Mar 1999;22(1):17-22.
64. Pitt B, Reichek N, Willenbrock R, et al. Effects of eplerenone, enalapril, and eplerenone/enalapril in patients with essential hypertension and left ventricular hypertrophy: the 4E-left ventricular hypertrophy study. *Circulation.* Oct 14 2003;108(15):1831-1838.
65. Swedberg K, Eneroth P, Kjeksbus J, Wilhelmssen L. Hormones regulating cardiovascular function in patients with severe congestive heart failure and their relation to mortality. CONSENSUS Trial Study Group. *Circulation.* Nov 1990;82(5):1730-1736.
66. Delyani JA, Rocha R, Cook CS, et al. Eplerenone: a selective aldosterone receptor antagonist (SARA). *Cardiovasc Drug Rev.* Fall 2001;19(3):185-200.
67. Sato A, Saruta T. Aldosterone escape during angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy in essential hypertensive patients with left ventricular hypertrophy. *J Int Med Res.* 2001 Jan-Feb 2001;29(1):13-21.
68. Pitt B, Zannad F, Remme WJ, et al. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med.* Sep 2 1999;341(10):709-717.
69. Pitt B, Williams G, Remme W, et al. The EPHEsus trial: eplerenone in patients with heart failure due to systolic dysfunction complicating acute myocardial infarction. Eplerenone Post-AMI Heart Failure Efficacy and Survival Study. *Cardiovasc Drugs Ther.* Jan 2001;15(1):79-87.
70. Zannad F, McMurray JJ, Drexler H, et al. Rationale and design of the Eplerenone in Mild Patients Hospitalization And Survival Study in Heart Failure (EMPHASIS-HF). *Eur J Heart Fail.* Jun 2010;12(6):617-622.
71. Phelan D, Thavendiranathan P, Collier P, Marwick TH. Aldosterone antagonists improve ejection fraction and functional capacity independently of functional class: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Heart.* Dec 2012;98(23):1693-1700.
72. Goette A, Hoffmanns P, Enayati W, Meltendorf U, Geller JC, Klein HU. Effect of successful electrical cardioversion on serum aldosterone in patients with persistent atrial fibrillation. *Am J Cardiol.* Oct 15 2001;88(8):906-909, a908.
73. Shroff SC, Ryu K, Martovitz NL, Hoit BD, Stambler BS. Selective aldosterone blockade suppresses atrial tachyarrhythmias in heart failure. *J Cardiovasc Electrophysiol.* May 2006;17(5):534-541.
74. Swedberg K. Eplerenone and atrial fibrillation in mild systolic heart failure: results from the EMPHASIS-HF (Eplerenone in Mild Patients Hospitalization And Survival Study in Heart Failure) study. *J. Am. Coll. Cardiol. //* 2012;59:1598-1603.
75. Milliez P, Deangelis N, Rucker-Martin C, et al. Spironolactone reduces fibrosis of dilated atria during heart failure in rats with myocardial infarction. *Eur Heart J.* Oct 2005;26(20):2193-2199.

76. Zhao J, Li J, Li W, et al. Effects of spironolactone on atrial structural remodelling in a canine model of atrial fibrillation produced by prolonged atrial pacing. *Br J Pharmacol.* Apr 2010;159(8):1584-1594.
77. Paul M, Poyan Mehr A, Kreutz R. Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiol Rev.* Jul 2006;86(3):747-803.
78. Schrotten NF, Gaillard CA, van Veldhuisen DJ, Szymanski MK, Hillege HL, de Boer RA. New roles for renin and prorenin in heart failure and cardiorenal crosstalk. *Heart Fail Rev.* Mar 2012;17(2):191-201.
79. Yamamoto N, Yasue H, Mizuno Y, et al. Aldosterone is produced from ventricles in patients with essential hypertension. *Hypertension.* May 2002;39(5):958-962.
80. Mizuno Y, Yoshimura M, Yasue H, et al. Aldosterone production is activated in failing ventricle in humans. *Circulation.* Jan 2 2001;103(1):72-77.
81. Satoh M, Nakamura M, Saitoh H, et al. Aldosterone synthase (CYP11B2) expression and myocardial fibrosis in the failing human heart. *Clin Sci (Lond).* Apr 2002;102(4):381-386.
82. Delcayre C, Silvestre JS, Garnier A, et al. Cardiac aldosterone production and ventricular remodeling. *Kidney Int.* Apr 2000;57(4):1346-1351.
83. Tait SA, Tait JF, Coghlan JP. The discovery, isolation and identification of aldosterone: reflections on emerging regulation and function. *Mol Cell Endocrinol.* Mar 31 2004;217(1-2):1-21.
84. Spyroglou A, Manolopoulou J, Wagner S, Bidlingmaier M, Reincke M, Beuschlein F. Short term regulation of aldosterone secretion after stimulation and suppression experiments in mice. *J Mol Endocrinol.* May 2009;42(5):407-413.
85. Bassett MH, Zhang Y, Clyne C, White PC, Rainey WE. Differential regulation of aldosterone synthase and 11beta-hydroxylase transcription by steroidogenic factor-1. *J Mol Endocrinol.* Apr 2002;28(2):125-135.
86. Rossi GP, Albertin G, Bova S, et al. Autocrine-paracrine role of endothelin-1 in the regulation of aldosterone synthase expression and intracellular Ca²⁺ in human adrenocortical carcinoma NCI-H295 cells. *Endocrinology.* Oct 1997;138(10):4421-4426.
87. Rossi GP, Sacchetto A, Cesari M, Pessina AC. Interactions between endothelin-1 and the renin-angiotensin-aldosterone system. *Cardiovasc Res.* Aug 1 1999;43(2):300-307.
88. White PC. Disorders of aldosterone biosynthesis and action. *N Engl J Med.* Jul 28 1994;331(4):250-258.
89. White PC, Slutsker L. Haplotype analysis of CYP11B2. *Endocr Res.* Feb-May 1995;21(1-2):437-442.
90. Amar L, Azizi M, Menard J, Peyrard S, Watson C, Plouin PF. Aldosterone synthase inhibition with LCI699: a proof-of-concept study in patients with primary aldosteronism. *Hypertension.* Nov 2010;56(5):831-838.
91. Calhoun DA, White WB, Krum H, et al. Effects of a novel aldosterone synthase inhibitor for treatment of primary hypertension: results of a randomized, double-

- blind, placebo- and active-controlled phase 2 trial. *Circulation*. Nov 1 2011;124(18):1945-1955.
92. Azizi M, Amar L, Menard J. Aldosterone synthase inhibition in humans. *Nephrol Dial Transplant*. Jan 2013;28(1):36-43.
 93. Yusuf S, Sleight P, Pogue J, Bosch J, Davies R, Dagenais G. Effects of an angiotensin-converting-enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in high-risk patients. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med*. Jan 20 2000;342(3):145-153.
 94. Crabtree GR, Olson EN. NFAT signaling: choreographing the social lives of cells. *Cell*. Apr 2002;109 Suppl:S67-79.
 95. Molkenkin JD, Dorn GW, 2nd. Cytoplasmic signaling pathways that regulate cardiac hypertrophy. *Annu Rev Physiol*. 2001;63:391-426.
 96. Frey N, Olson EN. Cardiac hypertrophy: the good, the bad, and the ugly. *Annu Rev Physiol*. 2003;65:45-79.
 97. Ullian ME, Schelling JR, Linas SL. Aldosterone enhances angiotensin II receptor binding and inositol phosphate responses. *Hypertension*. Jul 1992;20(1):67-73.
 98. Hatakeyama H, Miyamori I, Fujita T, Takeda Y, Takeda R, Yamamoto H. Vascular aldosterone. Biosynthesis and a link to angiotensin II-induced hypertrophy of vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem*. Sep 30 1994;269(39):24316-24320.
 99. Robert V, Silvestre JS, Charlemagne D, et al. Biological determinants of aldosterone-induced cardiac fibrosis in rats. *Hypertension*. Dec 1995;26(6 Pt 1):971-978.
 100. Chien KR. Stress pathways and heart failure. *Cell*. Sep 3 1999;98(5):555-558.
 101. Davies E, Holloway CD, Ingram MC, et al. Aldosterone excretion rate and blood pressure in essential hypertension are related to polymorphic differences in the aldosterone synthase gene CYP11B2. *Hypertension*. Feb 1999;33(2):703-707.
 102. Staessen JA, Wang JG, Brand E, et al. Effects of three candidate genes on prevalence and incidence of hypertension in a Caucasian population. *J Hypertens*. Aug 2001;19(8):1349-1358.
 103. Brand E, Chatelain N, Mulatero P, et al. Structural analysis and evaluation of the aldosterone synthase gene in hypertension. *Hypertension*. Aug 1998;32(2):198-204.
 104. Tsujita Y, Iwai N, Katsuya T, et al. Lack of association between genetic polymorphism of CYP11B2 and hypertension in Japanese: the Suita Study. *Hypertens Res*. Mar 2001;24(2):105-109.
 105. Kurland L, Melhus H, Karlsson J, et al. Aldosterone synthase (CYP11B2) -344 C/T polymorphism is related to antihypertensive response: result from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation versus Atenolol (SILVHIA) trial. *Am J Hypertens*. May 2002;15(5):389-393.
 106. Kupari M, Hautanen A, Lankinen L, et al. Associations between human aldosterone synthase (CYP11B2) gene polymorphisms and left ventricular size, mass, and function. *Circulation*. Feb 17 1998;97(6):569-575.

107. Delles C, Erdmann J, Jacobi J, et al. Aldosterone synthase (CYP11B2) -344 C/T polymorphism is associated with left ventricular structure in human arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol*. Mar 1 2001;37(3):878-884.
108. Stella P, Bigatti G, Tizzoni L, et al. Association between aldosterone synthase (CYP11B2) polymorphism and left ventricular mass in human essential hypertension. *J Am Coll Cardiol*. Jan 21 2004;43(2):265-270.
109. Horký K, Jáchymová M, Jindra A, et al. Some metabolic, humoral and genetic aspects of arterial hypertension. *Pol Arch Med Wewn*. 1997;97 Spec No:23-33.
110. Allemann Y, Weidmann P. Cardiovascular, metabolic and hormonal dysregulations in normotensive offspring of essential hypertensive parents. *J Hypertens*. Feb 1995;13(2):163-173.
111. Heller S, Linhart A, Jindra A, et al. Association of -344/T/C aldosterone synthase polymorphism (CYP11B2) with left ventricular structure and humoral parameters in young normotensive men. *Blood Press*. 2004;13(3):158-163.
112. Hlubocká Z, Jáchymová M, Heller S, et al. Association of the -344T/C aldosterone synthase gene variant with essential hypertension. *Physiol Res*. 2009;58(6):785-792.
113. Sookoian S, Gianotti TF, Pirola CJ. Role of the C-344T aldosterone synthase gene variant in left ventricular mass and left ventricular structure-related phenotypes. *Heart*. Jul 2008;94(7):903-910.
114. Sookoian S, Gianotti TF, Gonzalez CD, Pirola CJ. Association of the C-344T aldosterone synthase gene variant with essential hypertension: a meta-analysis. *J Hypertens*. Jan 2007;25(1):5-13.
115. Buss SJ, Backs J, Kreusser MM, et al. Spironolactone preserves cardiac norepinephrine reuptake in salt-sensitive Dahl rats. *Endocrinology*. May 2006;147(5):2526-2534.
116. Huang BS, White RA, Ahmad M, Jeng AY, Leenen FH. Central infusion of aldosterone synthase inhibitor prevents sympathetic hyperactivity and hypertension by central Na⁺ in Wistar rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. Jul 2008;295(1):R166-172.
117. Yu Y, Wei SG, Zhang ZH, Gomez-Sanchez E, Weiss RM, Felder RB. Does aldosterone upregulate the brain renin-angiotensin system in rats with heart failure? *Hypertension*. Mar 2008;51(3):727-733.
118. Linhart A, Sedláček K, Jáchymová M, et al. Lack of association of angiotensin-converting enzyme and angiotensinogen genes polymorphisms with left ventricular structure in young normotensive men. *Blood Press*. 2000;9(1):47-51.
119. Jáchymová M, Widimský J, Horký K. The -344T/C polymorphism of CYP11B2 gene is associated with essential hypertension and primary aldosteronism. 18th Scientific Meeting of the European Society of Hypertension/22nd Scientific Meeting of the International Society of Hypertension, Berlin, Poster; 2008.
120. Lim PO, Macdonald TM, Holloway C, et al. Variation at the aldosterone synthase (CYP11B2) locus contributes to hypertension in subjects with a raised aldosterone-to-renin ratio. *J Clin Endocrinol Metab*. Sep 2002;87(9):4398-4402.

121. Montgomery H, Clarkson P, Barnard M, et al. Angiotensin-converting-enzyme gene insertion/deletion polymorphism and response to physical training. *Lancet*. Feb 13 1999;353(9152):541-545.
122. Johnson BD, Mather KJ, Wallace JP. Mechanotransduction of shear in the endothelium: basic studies and clinical implications. *Vasc Med*. Oct 2011;16(5):365-377.
123. Ballermann BJ, Dardik A, Eng E, Liu A. Shear stress and the endothelium. *Kidney Int Suppl*. Sep 1998;67:S100-108.
124. Olesen SP, Clapham DE, Davies PF. Haemodynamic shear stress activates a K⁺ current in vascular endothelial cells. *Nature*. Jan 14 1988;331(6152):168-170.
125. Patrick CW, Jr., McIntire LV. Shear stress and cyclic strain modulation of gene expression in vascular endothelial cells. *Blood Purif*. 1995;13(3-4):112-124.
126. Marečková Z, Heller S, Horký K. [Endothelial dysfunction and arterial hypertension]. *Vnitř Lek*. Apr 1999;45(4):232-237.
127. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Dec 1987;84(24):9265-9269.
128. Luscher TF. Heterogeneity of endothelial dysfunction in hypertension. *Eur Heart J*. Sep 1992;13 Suppl D:50-55.
129. Springer TA. Traffic signals on endothelium for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration. *Annu Rev Physiol*. 1995;57:827-872.
130. Frenette PS, Wagner DD. Adhesion molecules--Part 1. *N Engl J Med*. Jun 6 1996;334(23):1526-1529.
131. Frenette PS, Wagner DD. Adhesion molecules--Part II: Blood vessels and blood cells. *N Engl J Med*. Jul 4 1996;335(1):43-45.
132. Born G., Colin S. *Vascular Endothelium, Physiology, Pathology and Therapeutic Opportunities*: F.K.Schattauer Verlagsgesellschaft, Stuttgart, Germany; 1997.
133. Jiang Y, Beller DI, Frenzl G, Graves DT. Monocyte chemoattractant protein-1 regulates adhesion molecule expression and cytokine production in human monocytes. *J Immunol*. Apr 15 1992;148(8):2423-2428.
134. Price DT, Loscalzo J. Cellular adhesion molecules and atherogenesis. *Am J Med*. Jul 1999;107(1):85-97.
135. Bevilacqua MP, Nelson RM. Selectins. *J Clin Invest*. Feb 1993;91(2):379-387.
136. Gearing AJ, Newman W. Circulating adhesion molecules in disease. *Immunol Today*. Oct 1993;14(10):506-512.
137. Kolb-Bachofen V, Kuhn A, Suschek CV. The role of nitric oxide. *Rheumatology (Oxford)*. Oct 2006;45 Suppl 3:iii17-19.
138. Sharma JN. Hypertension and the bradykinin system. *Curr Hypertens Rep*. Jun 2009;11(3):178-181.
139. Wheeler-Jones CP. Regulation of endothelial prostacyclin synthesis by protease-activated receptors: mechanisms and significance. *Pharmacol Rep*. Jan-Feb 2008;60(1):109-118.

140. Ohkita M, Tawa M, Kitada K, Matsumura Y. Pathophysiological roles of endothelin receptors in cardiovascular diseases. *J Pharmacol Sci.* 2012;119(4):302-313.
141. Widimský J, Jr., Horký K. [Endothelin--a vasoactive peptide of endothelial cells]. *Cas Lek Cesk.* Apr 5 1993;132(7):215-218.
142. Horký K, Němeček K, Widimský J, Jr., et al. [Endothelin plasma levels in various stages and types of arterial hypertension]. *Cas Lek Cesk.* Jun 27 1994;133(13):407-410.
143. Stewart DJ, Levy RD, Cernacek P, Langleben D. Increased plasma endothelin-1 in pulmonary hypertension: marker or mediator of disease? *Ann Intern Med.* Mar 15 1991;114(6):464-469.
144. Hazan-Halevy I, Levy T, Wolak T, Lubarsky I, Levy R, Paran E. Stimulation of NADPH oxidase by angiotensin II in human neutrophils is mediated by ERK, p38 MAP-kinase and cytosolic phospholipase A2. *J Hypertens.* Jun 2005;23(6):1183-1190.
145. Okamura A, Rakugi H, Ohishi M, et al. Upregulation of renin-angiotensin system during differentiation of monocytes to macrophages. *J Hypertens.* Apr 1999;17(4):537-545.
146. Guzik TJ, Hoch NE, Brown KA, et al. Role of the T cell in the genesis of angiotensin II induced hypertension and vascular dysfunction. *J Exp Med.* Oct 1 2007;204(10):2449-2460.
147. Nagata D, Takahashi M, Sawai K, et al. Molecular mechanism of the inhibitory effect of aldosterone on endothelial NO synthase activity. *Hypertension.* Jul 2006;48(1):165-171.
148. Min LJ, Mogi M, Li JM, Iwanami J, Iwai M, Horiuchi M. Aldosterone and angiotensin II synergistically induce mitogenic response in vascular smooth muscle cells. *Circ Res.* Sep 2 2005;97(5):434-442.
149. Brown NJ. Aldosterone and vascular inflammation. *Hypertension.* Feb 2008;51(2):161-167.
150. O'Brien KD, McDonald TO, Chait A, Allen MD, Alpers CE. Neovascular expression of E-selectin, intercellular adhesion molecule-1, and vascular cell adhesion molecule-1 in human atherosclerosis and their relation to intimal leukocyte content. *Circulation.* Feb 15 1996;93(4):672-682.
151. Fasching P, Waldhausl W, Wagner OF. Elevated circulating adhesion molecules in NIDDM--potential mediators in diabetic macroangiopathy. *Diabetologia.* Oct 1996;39(10):1242-1244.
152. Ridker PM, Buring JE, Rifai N. Soluble P-selectin and the risk of future cardiovascular events. *Circulation.* Jan 30 2001;103(4):491-495.
153. Verhaar MC, Beutler JJ, Gaillard CA, Koomans HA, Fijnheer R, Rabelink TJ. Progressive vascular damage in hypertension is associated with increased levels of circulating P-selectin. *J Hypertens.* Jan 1998;16(1):45-50.

154. Krejcy K, Eichler HG, Jilma B, et al. Influence of angiotensin II on circulating adhesion molecules and blood leukocyte count in vivo. *Can J Physiol Pharmacol.* Jan 1996;74(1):9-14.
155. Marchesi C, Paradis P, Schiffrin EL. Role of the renin-angiotensin system in vascular inflammation. *Trends Pharmacol Sci.* Jul 2008;29(7):367-374.
156. Gasic S, Wagner OF, Fasching P, et al. Fosinopril decreases levels of soluble vascular cell adhesion molecule-1 in borderline hypertensive type II diabetic patients with microalbuminuria. *Am J Hypertens.* Feb 1999;12(2 Pt 1):217-222.
157. Hlubocká Z, Umnerová V, Heller S, et al. Circulating intercellular cell adhesion molecule-1, endothelin-1 and von Willebrand factor-markers of endothelial dysfunction in uncomplicated essential hypertension: the effect of treatment with ACE inhibitors. *J Hum Hypertens.* Aug 2002;16(8):557-562.
158. Pastore L, Tessitore A, Martinotti S, et al. Angiotensin II stimulates intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression by human vascular endothelial cells and increases soluble ICAM-1 release in vivo. *Circulation.* Oct 12 1999;100(15):1646-1652.
159. Ridker PM, Gaboury CL, Conlin PR, Seely EW, Williams GH, Vaughan DE. Stimulation of plasminogen activator inhibitor in vivo by infusion of angiotensin II. Evidence of a potential interaction between the renin-angiotensin system and fibrinolytic function. *Circulation.* Jun 1993;87(6):1969-1973.
160. Blann AD, Waite MA. von Willebrand factor and soluble E-selectin in hypertension: influence of treatment and value in predicting the progression of atherosclerosis. *Coron Artery Dis.* Feb 1996;7(2):143-147.
161. Petrak O, Widimsky J, Jr., Zelinka T, et al. Biochemical markers of endothelial dysfunction in patients with endocrine and essential hypertension. *Physiol Res.* 2006;55(6):597-602.
162. Blann AD, Tse W, Maxwell SJ, Waite MA. Increased levels of the soluble adhesion molecule E-selectin in essential hypertension. *J Hypertens.* Aug 1994;12(8):925-928.
163. Ferri C, Desideri G, Valenti M, et al. Early upregulation of endothelial adhesion molecules in obese hypertensive men. *Hypertension.* Oct 1999;34(4 Pt 1):568-573.

SEZNAM PUBLIKACÍ DOKTORANDA

Publikace *in extenso*, které jsou podkladem disertační práce

Heller S, Linhart A, Jindra A, Jáchymová M, Horký K, Peleška J, Hlubočká Z, Umnerová V, Aschermann M. Association of -344/T/C aldosterone synthase polymorphism (CYP11B2) with left ventricular structure and humoral parameters in young normotensive men. *Blood Press* 2004;**13**(3):158-63 IF 1,027

Hlubočká Z, Jáchymová M, **Heller S**, Umnerová V, Danzig V, Lánská V, Horký K, Linhart A. Association of the -344T/C aldosterone synthase gene variant with essential hypertension. *Physiol Res* 2009;**58**(6):785-92 IF 1,43

Linhart A, Sedláček K, Jáchymová M, Jindra A, Beran S, Vondráček V, **Heller S**, Horký K., et al. Lack of association of angiotensin-converting enzyme and angiotensinogen genes polymorphisms with left ventricular structure in young normotensive men. *Blood Press* 2000;**9**(1):47-51 IF 1,344

Hlubočká Z, Umnerová V, **Heller S**, Peleška J, Jindra A, Jáchymová M, Kvasnička J, Horký K, Aschermann M. Circulating intercellular cell adhesion molecule-1, endothelin-1 and von Willebrand factor-markers of endothelial dysfunction in uncomplicated essential hypertension: the effect of treatment with ACE inhibitors. *J Hum Hypertens* 2002;**16**(8):557-62 IF 1,366

Publikace *in extenso* se vztahem k tématu disertační práce

Jindra A, Horký K, Peleska J, Jáchymová M, Bultas J, Umnerová V, **Heller S**, Hlubočká Z. Association analysis of Arg16Gly polymorphism of the beta2-adrenergic receptor gene in offspring from hypertensive and normotensive families. *Blood Press*. 2002;11(4):213-7. PubMed PMID: 12361188. IF 1,344

Hlubočká Z, Umnerová V, **Heller S**, Peleska J, Jindra A, Jáchymová M, Kvasnicka J, Aschermann M, Horký K. [Is mild essential hypertension without obvious organ complications and risk factors associated with increased levels of circulating markers of endothelial dysfunction? Effect of ACE inhibitor therapy]. *Vnitr Lek*. 2002 Aug;48(8):718-23. Czech. PubMed PMID: 12425201.

Marečková Z, **Heller S**, Horký K. [Endothelial dysfunction and arterial hypertension]. Vnitr Lek. 1999 Apr;45(4):232-7. Review. Czech. PubMed PMID: 11045186.

Marečková Z, **Heller S**, Horký K. [Cell adhesion molecules and their role in pathophysiologic processes]. Vnitr Lek. 1999 Jan;45(1):46-50. Review. Czech. PubMed PMID: 10422526.

Horký K, Jáchymová M, Jindra A, Peleska J, Umnerová V, **Heller S**, Lisý O, Bultas J. Some metabolic, humoral and genetic aspects of arterial hypertension. Pol Arch Med Wewn. 1997;97 Spec No:23-33. PubMed PMID: 9275755.

Ostatní publikace:

Heller S, Beran S, Skalická L, Procházka P, Mrázek V, Linhart A. [Endovascular treatment of acute vascular occlusions]. Cas Lek Cesk. 2006;145(5):363-7. Review. Czech. PubMed PMID: 16755771.

Heller S, Mrázek V, Chochola M, Varejka P, Skalická L, Urbánková J, Smířová S, Aschermann M. [Basic epidemiologic indicators of venous diseases]. Cas Lek Cesk. 2002 Dec 6;141(24):763-4. Czech. PubMed PMID: 12661466.

Varejka P, Lubanda JC, Prochazka P, **Heller S**, Beran S, Dostal O, Charvat F, Horejs J, Semrad M, Linhart A. [Late complication of surgical repair of aortic coarctation: ruptured pseudoaneurysm of the aorta treated by thoracic endovascular aortic repair]. J Mal Vasc. 2010 Jun;35(3):189-93. doi: 10.1016/j.jmv.2010.01.078. Epub 2010 Mar 20. French. PubMed PMID: 20304575.

Ručka D, Bojanovská K, **Heller S**, Procházka P, Skalická L, Vařejka P, Chochola M, Linhart A, Karetová D. Ischemic peripheral arterial disease and recurrent iliofemoral venous thrombosis in a 24-year-old man with antiphospholipid syndrome. Vnitr Lek. 2013 Feb;59(2):127-31. PubMed PMID: 23461402.

Jirát S, Varejka P, Chochola M, Urbánková J, **Heller S**, Skalická L, Mrázek V, Aschermann M. [Interventional therapy of the inferior vena cava syndrome]. *Cas Lek Cesk.* 2002 Dec 6;141(24):773-5. Czech. PubMed PMID: 12661469.

Lindner J, Jansa P, Kunstýř J, Bláha J, Grus T, Mlejnský F, **Heller S**, Škvařilová M, Ambrož D, Tošovský J, Aschermann M, Linhart A, Křivánek J, Vítková I, Stříteský M. [Pulmonary endarterectomy--the surgical treatment of chronic thromboembolic pulmonary hypertension]. *Cas Lek Cesk.* 2006;145(4):307-12. Czech. PubMed PMID: 16639932.