

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Vliv Sunitinibu na expresi ICAM-1 u normotenzních a hypertenzních potkanů

Sunitinib effects on the expression of ICAM-1 in normotensive and hypertensive rats

Rigorózní práce

Konzultant rigorózní práce

Doc. PharmDr. Petr Nachtigal, Ph.D.

Vypracovala

Mgr. Lenka Frnochová

Hradec Králové 2012

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.“

Ve Vyšším Brodě dne 19. září 2012

Mgr. Lenka Frnochová

.....

„Velmi ráda bych poděkovala Doc. PharmDr. Petru Nachtigalovi, Ph.D. za odborné vedení a přínosné rady při vzniku méj rigórozní práce. Moje poděkování také náleží mé rodině za jejich podporu.“

Ve Vyšším Brodě dne 19. září 2012

Mgr. Lenka Frnochová

.....

Abstrakt

Mgr. Lenka Frnochová

Vliv Sunitinibu na expresi ICAM-1 u normotenzních a hypertenzních potkanů

Rigorózní práce

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Farmacie

Cíl práce:

Kvantifikovali jsme expresi ICAM-1 v aortě normotenzních Wistar Kyoto potkanů a spontánně hypertenzních potkanů při užívání sunitinibu. Pro kvantifikaci jsme aplikovali stereologické a imunohistochemické metody.

Metody:

Pro výzkum jsme používali inbrední samce Wistar Kyoto potkanů a spontánně hypertenzních potkanů. Potkani obou kmenů byli rozděleni do dvou skupin - skupina se sunitinibem a kontrolní skupina. Experimentální skupina přijímala sunitinib v pitné vodě v dávce 10 mg/kg denně a potkani v kontrolní skupině dostávali pouze pitnou vodu. Spontánně hypertenzní potkani přijímali sunitinib po 8 týdnů a po 5 dnech regenerace opět dostávali do vody sunitinib po dalších 8 týdnů. Wistar Kyoto potkani dostávali nejprve také 8 týdnů sunitinib do vody, ale po 5 dnech regenerace, sunitinib byl podáván těmto potkanům už jenom 2 týdny z důvodu toxicity a snížení váhy. Imunohistochemická analýza byla použita na aortě potkana. K detekci exprese ICAM-1 byla užita metoda En Vision s detekcí prostřednictvím DAB.

Výsledky:

Imunohistochemické barvení prokázalo, že exprese ICAM-1 byla vyšší u potkanů, kteří byli léčeni sunitinibem. Nejzřetelnější exprese se jevila u skupiny spontánně hypertenzních potkanů, kterým byl podáván sunitinib. Stereologická analýza ukázala zvýšenou expresi ICAM-1 v důsledku užívání sunitinibu.

Závěr:

Imunohistochemická analýza dokázala expresi ICAM-1 jedině na endotelu aorty u každého potkana. Stereologická analýza ukázala, že exprese ICAM-1 je vyšší v důsledku užívání sunitinibu. Mechanismus, kterým by sunitinib mohl zvětšovat dysfunkci endotelu, je dosud nejasný a bude dále studován.

Abstract

Mgr. Lenka Frnochová

Sunitinib effects on the expression of ICAM-1 in normotensive and hypertensive rats

Thesis

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Pharmacy

Background:

We quantified the expression of ICAM-1 in aorta of normotensive Wistar Kyoto rats and spontaneously hypertensive rats during use of sunitinib. For quantification we applied stereological and immunohistochemical methods.

Methods:

We used inbred male of Wistar Kyoto rats and spontaneously hypertensive rats for our research. Rats of both strains were divided into two groups – a sunitinib group and a control group. The experimental group was receiving drinking water with sunitinib of 10 mg/kg per day and rats in the control group was receiving only drinking water. Spontaneously hypertensive rats were receiving sunitinib for 8 weeks and after 5 days of regeneration they got sunitinib into the water back for another 8 weeks. Wistar Kyoto rats were receiving sunitinib in water for 8 weeks, but after 5 days of regeneration, these rats were receiving sunitinib only for 2 weeks due to toxicity and weight loss. Immunohistochemical analysis was applied in rat aorta. For detection of the ICAM-1 expression was used En Vision method with DAB detection.

Results:

Immunohistochemical staining showed that expression of ICAM-1 was higher in rats treated with sunitinib. The clearest expression seemed to be in the group of spontaneously hypertensive rats, which received sunitinib. The stereological analysis showed increased expression of ICAM-1 due to the use of sunitinib.

Conclusion:

Immunohistochemical analysis proved expression of ICAM-1 only in the endothelial cells in aorta in each rat. The stereological analysis proved the expression of ICAM-1 higher by use of sunitinib. The mechanism, by which sunitinib would be able to increase endothelial dysfunction is still unclear and will be studied.

Obsah

1	Úvod.....	8
2	Hypertenze	9
2.1	Definice hypertenze	9
2.2	Epidemiologie arteriální hypertenze	10
2.3	Etiopatogeneze arteriální hypertenze	10
2.3.1	Patogeneze primární hypertenze.....	10
2.3.2	Příčiny sekundární hypertenze.....	15
2.4	Stadia hypertenze	16
2.5	Léčba arteriální hypertenze	19
3	Experimentální modely využívané při výzkumu arteriální hypertenze	24
4	Sunitinib.....	26
4.1	Chemická struktura sunitinibu	26
4.2	Mechanismus účinku.....	27
4.3	Farmakokinetické parametry sunitinibu.....	27
4.4	Indikace	27
4.5	Dávkování	28
4.6	Nežádoucí účinky.....	28
4.7	Kontraindikace	29
5	Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1, CD54).....	30
6	Cíl práce, zadání práce.....	33
7	Experimentální část.....	34
7.1	Sunitinib – design experimentu.....	34
7.2	Imunohistochemie	34
7.2.1	Metodika En Vision.....	35
7.3	Statistická analýza.....	35
8	Výsledky	36
8.1	Imunohistochemické barvení ICAM-1 v aortě	36

8.2	Stereologická analýza exprese ICAM-1 v aortě.....	39
9	Diskuse.....	41
10	Závěr	43
11	Zkratky.....	44
12	Použitá literatura	47

1 Úvod

Pro svoji rigorózní práci jsem si vybrala téma týkající se arteriální hypertenze, poněvadž považuji toto onemocnění za velmi závažné z důvodu častého výskytu v lidské populaci a také protože neléčená hypertenze může způsobit velmi vážné poruchy orgánů. Mnoho pacientů nemusí vědět, že trpí tímto onemocněním.

Toto onemocnění je charakterizované opakujícím se nárůstem krevního tlaku nad hodnotu 140/90 mm Hg a to nejméně při 2 ze 3 měření a při více návštěvách lékaře. Arteriální hypertenze je nejvíce se vyskytující chronickou chorobou u lidí v průmyslově vyspělých zemích (Rudolf, Macek, 2010). Arteriální hypertenzí trpí v průmyslově vyspělých zemích 20 - 50 % dospělých (Karen, Cífková, Býma a kol., 2004). Rozlišujeme 2 typy hypertenze- primární a sekundární. U primární hypertenze bylo objeveno mnoho patogenetických faktorů, jež mají vliv na vznik tohoto onemocnění, ale vlastní příčinu nevíme. Tento typ je mnohem častější než sekundární hypertenze. Sekundární hypertenze je způsobena jinou chorobou. Hypertenze se rozděluje do třech stadií (Widimský a kol., 2004). Neléčená hypertenze může vést k levostrannému srdečnímu selhání, selhání ledvin, retinopatiím atd. (Rudolf, Macek, 2010). Arteriální hypertenze je zařazena mezi ovlivnitelné rizikové faktory aterosklerózy (Silbernagl, Lang, 2001).

Toto onemocnění se dá léčit dvěma způsoby: nefarmakologicky a farmakologickou léčbou. Mezi nefarmakologickou léčbu patří např. pohyb, zákaz kouření, dietní opatření, snížení váhy atd. (Souček, 2010). Hypertenze se léčí několika skupinami antihypertenziv např. inhibitory angiotenzin-konvertujícího enzymu, blokátory vápníkových kanálů, blokátory angiotenzinových receptorů typu 1, beta blokátory atd. (Rudolf, Macek, 2010). Mnoho pacientů nechce užívat předepsané léky, protože je často hypertenze neomezuje, ale neuvědomují si, jaké jsou důsledky neléčené hypertenze.

V teoretické části rigorózní práce jsem popsala definici, epidemiologii, etiopatogenezi a léčbu hypertenze. V další kapitole jsem se věnovala experimentálním modelům, které se využívají ve výzkumu hypertenze. Dále jsem popsala základní informace o sunitinibu. V poslední kapitole teoretické části jsem uvedla souhrn poznatků o ICAM-1. V praktické části jsem se zaměřila na zkoumání, jak léčivo sunitinib ovlivňuje expresi ICAM-1 u potkanů s hypertenzí a u normotenzních potkanů.

2 Hypertenze

2.1 Definice hypertenze

„Podle kritérií WHO/ISH z r. 1999 a doporučení ESH/ESC z r. 2003 označujeme za arteriální hypertenzi v dospělosti opakované zvýšení TK nad hodnotu 140/90 mmHg, a to alespoň u 2 ze 3 měření TK minimálně při dvou různých návštěvách u lékaře“ (Rudolf, Macek, 2010, str. 73).

Většinou pozorujeme při hypertenzi vzestup systolického i diastolického krevního tlaku, tento stav se nazývá systolicko-diastolická hypertenze. U starších pacientů se setkáváme mnohdy s nárůstem pouze systolického tlaku (Rudolf, Macek, 2010).

Tabulka č. 1 Definice hypertenze podle WHO/ISH z r. 1999 (Rudolf, Macek, 2010, s. 74).

hodnoty TK/závažnost hypertenze	sTK (mm Hg)		dTK(mm Hg)
optimální	<120	a	<80
normální	120-129	a	80-84
vyšší normální	130-139	a/nebo	85-89
mírná hypertenze	140-159	a/nebo	90-99
mírná hypertenze, podskupina hraniční	140-149	a/nebo	90-94
středně těžká hypertenze	160-179	a/nebo	100-109
těžká hypertenze	≥180	nebo	≥110
izolovaná systolická hypertenze	≥140	a	<90
Izolovaná systolická hypertenze, podskupina hraniční	140-149	a	<90

2.2 Epidemiologie arteriální hypertenze

Výskyt arteriální hypertenze u dospělých jedinců v průmyslově vyspělých zemích se pohybuje mezi 20 – 50 % (Karen, Cífková, Býma a kol., 2004). Jedna třetina dospělých lidí v našem státě, kteří jsou staří 25 - 64 let, trpí hypertenzí (Cífková, 2006).

2.3 Etiopatogeneze arteriální hypertenze

Arteriální hypertenzi dělíme na primární (esenciální) a sekundární (symptomatickou) hypertenzi. Primární hypertenze je charakterizovaná skutečností, že nevíme etiologickou příčinu tohoto onemocnění, ale definujeme mnoho patogenetických faktorů, které se podílejí na původu hypertenze. Sekundární hypertenze je stav, kdy hypertenze je příznakem jiné nemoci. Esenciální hypertenze se vyskytuje mnohem častěji než sekundární, informační zdroje uvádějí, že esenciální hypertenzí trpí asi 95 % pacientů s hypertenzí a zbývajících 5 % pacientů mají sekundární hypertenzi (Karen, Cífková, Býma a kol., 2004).

2.3.1 Patogeneze primární hypertenze

Esenciální hypertenze se řadí mezi multifaktoriální choroby. Hodnota krevního tlaku u esenciální hypertenze je dána vzájemným působením tří hlavních mechanismů (Widimský a kol., 2004).

Tabulka č. 2 Základní mechanismy podílející se na patogenezi arteriální hypertenze- tabulka vytvořena podle vzoru (Widimský a kol. 2004, s. 89).

<p>1. Faktory genetické</p> <ul style="list-style-type: none">- monogenní hypertenze u vzácných forem sekundárních hypertenzí- polygenní typ dědičnosti u esenciální hypertenze
<p>2. faktory zevního prostředí</p> <ul style="list-style-type: none">- nadměrný přívod sodíku, zvýšená citlivost na sodík- nedostatečný přívod draslíku a hořčíku- zvýšený kalorický příjem, obezita, zvláště abdominální- zvýšený přívod alkoholu- stres a socioekonomický status
<p>3. Poruchy endogenních regulačních mechanismů a metabolické odchylky</p> <ul style="list-style-type: none">- centrální a periferní nervový systém, baroreceptory- humorální působky vazokonstrikční a vazodilatační- elektrolytové transmembránové transportní mechanismy- renální exkretorické a endokrinní funkce- hemodynamické změny- endotel a stěna cévní- poruchy glukózové tolerance, inzulinorezistence, diabetes mellitus

Nyní bych chtěla popsat některé mechanismy, které se podílejí na hypertenzi.

- **Zvýšený přívod alkoholu**

Alkohol ovlivňuje hodnotu krevního tlaku dvěma způsoby- má schopnost působit na sympatický nervový systém a také má objemový účinek (Widimský a kol., 2004).

- **Zvýšený kalorický příjem, obezita, distribuce tělesného tuku**

Abdominální obezita je obvykle spojena s poruchou glukózové tolerance, syndromem inzulinové rezistence, dyslipidemií, hyperinzulinémií do Reavenova hypertenzního metabolického syndromu. Na původu vysokého krevního tlaku u obézních pacientů se podílí vyšší sympatoadrenální aktivita, zvýšený příjem sodíku a

senzitivita na něj a inzulinorezistence (Widimský a kol., 2004). Leptin má charakter hormonu a má důležité postavení v regulaci energetického metabolismu a příjmu stravy (Vokurka, Hugo a kol., 2009). Leptin přispívá k hypertenzi pomocí vyšší sympatoadrenální aktivity (Widimský a kol., 2004).

- **Odchytky v elektrolytových transportních mechanismech**

Odchytky v transportních mechanismech ($\text{Na}^+\text{-K}^+$ kotransport, $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ protitransport, $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPáza atd.) způsobují vzestup intracelulárního sodíku a druhotně i vápníku a z tohoto důvodu hladký sval cév má větší senzitivitu k vazokonstrikci (Widimský a kol., 2004).

- **Humorální působky**

Arteriální hypertenze může být způsobena nedostatkem vazorelaxačních nebo přebytkem vazopresorických působků, z tohoto důvodu dochází k nárůstu periferní cévní rezistence. Humorální a systémové působky mají schopnost působit na agregabilitu trombocytů, periferní cévní rezistenci, kontraktibilitu hladké svaloviny cév, její hypertrofii a atd. (Widimský a kol., 2004).

Tabulka č. 3 Přehled hlavních vazoaktivních humorálních působků podílejících se na regulaci krevního tlaku a patogenezi hypertenze - tabulka vytvořena podle vzoru (Widimský a kol., 2004, s. 99).

Vazokonstrikční natriumretenční růst stimulující působky	Vazodilatační natriuretické růst inhibující působky
katecholaminy	dopamin
renin-angiotenzinový systém	kalikrein-kininový systém
vazopresin	natriuretické peptidy (ANP, BNP, C typ)
endotelin	oxid dusnatý
TXA_2 , PGH_2	PGE_2 , PGI_2

- **Endotel a stěna cévy**

Endotel odděluje od sebe stěnu cévy a krev. Endotel je tvořen pouze jednou vrstvou buněk. Endotel ovlivňuje různé děje v lidském organismu např. má vliv na

propustnost a tonus cévy. Buňky endotelu mají schopnost exprimovat adhezni molekuly, které jsou důležité pro diapedézu bílých krvinek. Endotel má antiproliferativní, antikoagulační a vazodilatační schopnosti (Trojan a kol., 2003). Prostacyklin (PGI_2) je tvořen endotelem a způsobuje vazodilataci (Wagner, 2009). Endotelové buňky mají schopnost produkovat oxid dusnatý (NO) (Mourek, 2005). Buňky endotelu vytvářejí endotelin. Ve všech fázích arteriální hypertenze má podstatné postavení funkce hladké svaloviny a endotelu cévy, také poměr cévní stěny k lumen a šíře medie a intimy (Widimský a kol., 2004). Endoteliální dysfunkce má za následek nerovnováhu mezi hemokoagulačními a vazoaktivními faktory a také vyšší permeabilitu endotelu. Celkovým efektem těchto dějů je převaha protrombotických a vazokonstričních procesů a proaterogenní působení (Souček, Kára a kol. 2002).

Bylo zjištěno, že u pacientů s hypertenzí dochází k menší tvorbě oxidu dusnatého a je zaznamenána nižší vazodilatační reakce stěny cévy (Widimský a kol., 2004). Oxid dusnatý je také nazýván endoteliální relaxační faktor (EDRF/ NO). Mezi funkce oxidu dusnatého patří protitrombogenní účinek, inhibice přestupu monocytů do cévní stěny, redukce proliferace a migrace hladkého svalstva do subendoteliální vrstvy, vazodilatace atd. (Souček, Kára a kol. 2002).

Předpokládá se, že i další vazodilatační působky (EDHF-endoteliální hyperpolarizační faktor, PGI_2) jsou také redukovány. Tvorba vazopresorických látek (endoteliny, katecholaminy, systém renin-angiotenzin) je vyšší nebo je vyšší senzitivita jejich receptorů (Widimský a kol., 2004).

- **Poruchy glukózové tolerance, inzulinorezistence, diabetes mellitus a hypertenze**

Vysoký krevní tlak bývá hlavně u obézních pacientů ve spojitosti s poruchou glukózové tolerance z důvodu inzulinorezistence, jenž je substrátově a orgánově specifická. Jde hlavně o postreceptorový efekt inzulínu v hladkém svalstvu. Následkem je stav zvaný hyperinzulinémie, která způsobuje hypertenzi. Je zajímavé, že inzulinorezistencí mohou trpět i hypertonici bez obezity, důvodem jsou nejspíše anomálie ve vnímavosti receptorů na inzulín (Widimský a kol., 2004).

Tabulka č. 4 Základní mechanismy, kterými se hyperinzulinémie podílí na zvýšení krevního tlaku a patogenezi hypertenze (Widimský a kol., 2004, s. 103).

<ul style="list-style-type: none">• retence sodíku a vody ledvinami
<ul style="list-style-type: none">• zvýšení citlivosti TK na přívod sodíku v potravě
<ul style="list-style-type: none">• zvýšení sympatoadrenální aktivity-zvýšení noradrenalinu v plazmě ve tkáních
<ul style="list-style-type: none">• zvýšení presorického a aldosteron-stimulujícího účinku angiotenzinuII
<ul style="list-style-type: none">• poruchy transmembránového transportu elektrolytů s následným zmnožením intracelulárního Na⁺ a Ca⁺⁺
<ul style="list-style-type: none">• proliferace a migrace buněk hladkého svalstva stěny cévní

- **Sympatický nervový systém**

Nadměrná sympatická aktivita má za následek zadržetí sodíku ledvinami, abnormality v transportu iontů, vazokonstrikci, trofický účinek na cévy a hypertrofii levé srdeční komory. Nadměrná sympatoadrenální aktivita se podílí na vzniku Reavenova syndromu a inzulinové rezistence (Widimský a kol., 2004).

2.3.2 Příčiny sekundární hypertenze

Tabulka č. 5 Rozdělení a diagnostika nejčastějších příčin sekundární hypertenze-
tabulka vytvořena podle vzoru (Sovová, Hřčková, Marečková a kol., 2008, s. 43).

Typ hypertenze	Podtyp	Diagnostika
Renální	parenchymatózní	patologický nález v moči a sedimentu zvýšený kreatinin sonografie ledvin
	renovaskulární	šelest v břiše duplexní sonografie renálních tepen CT-angiografie tepen
Endokrinní	hyperaldosteronizmus	hypokalemie plazmatický aldosteron/plazmatická reninová aktivita>30 CT, MR nadledvin
	feochromocytom	záchvatovitá hypertenze kyselina vanilmandlová>50 $\mu\text{mol l}^{-1}$ moči normetanefrin>360 $\mu\text{g 24 h}^{-1}$ v moči metanefrin>300 $\mu\text{g 24 h}^{-1}$ v moči CT, MR břicha ¹³¹ I- metajodbenzylguanidin
	Cushingův syndrom	typická obezita, strie kortizol>600nmol 24 h ⁻¹ v moči CT, MR hypofýzy a nadledvin
	Další endokrinní	tyreotoxikóza, akromegalie, primární hyperparatyreóza, vrozené syndromy
Koarktace aorty		šelest mezi lopatkami, věk pod 30 let TK na HK o \geq 20 mm Hg vyšší než na dolních končetinách echokardiografie srdce a descendentní aorty
Léky, chemikálie, potraviny	objemová hypertenze	antacida, lékořice, estrogeny, adiuretin, nesteroidní antirevmatika, kortikoidy
	stimulace sympatiku	kokain, nikotin, fenylefrin, ketamin, naloxon, ergotamin, bromokriptin, metoklopramid, tyramin (sýry)
	kombinované+jiné	cyklosporin, erythropoetin, těžké kovy, lithium
Gestační hypertenze		hypertenze TK \geq 140/90 mm Hg nebo vzestup TK o \geq 25/15 mm Hg oproti prvnímu trimestru těhotenství proteinurie>300mg 24 h ⁻¹

Neurogení	zvýšení intrakraniálního TK	bolesti hlavy, zvracení, oční pozadí, CT, MR mozku
	syndrom spánkové apnoe	únava, usínání během dne, chrápání, apnoické pauzy polysomnografie
Akutní stresová		operace, hypoglykemie, psychogenní hyperventilace, po resuscitaci, abstinenční alkoholová reakce

2.4 Stadia hypertenze

Arteriální hypertenze se ze začátku nemusí projevovat subjektivními symptomy nebo dané symptomy považujeme za málo zřetelné. Je zajímavé, že okolo 50 % pacientů netuší, že trpí arteriální hypertenzí a k odhalení tohoto onemocnění dojde při měření hodnoty tlaku u lékaře (Rudolf, Macek, 2010).

U arteriální hypertenze rozlišujeme 3 stadia:

- Stadium I - zde dochází pouze k nárůstu krevního tlaku, na orgánech nejsou žádné odlišnosti (Widimský a kol., 2004).
- Stadium II - u tohoto stadia kromě zvýšení krevního tlaku už můžeme vidět odlišnosti na orgánech, které se také označují podle ESH/ESC jako poškození cílových orgánů. Do tohoto stadia by patřily změny jako kalcifikace aorty nebo dalších arterií, mikroalbuminurie, hypertrofie levé srdeční komory patrná z echokardiogramu nebo EKG, také zde patří anomálie u femorálních nebo karotických artériích patrné během ultrasonografie. Funkce orgánů by neměla být zřetelně narušena (Widimský a kol., 2004).
- Stadium III - pro tuto fázi jsou typické závažné změny na orgánech, také dochází k poškození funkcí jednotlivých orgánů. Zde řadíme postižení ledvin, ICHS, levostranné srdeční selhání atd. Onemocnění, která jsou typická pro toto stadium, se také nazývají přidružená onemocnění (Widimský a kol., 2004).

Klinické projevy arteriální hypertenze

Mezi projevy I. stadia tohoto onemocnění patří zvýšená unavenost, palpitace srdce, bolesti hlavy atd. Tyto problémy se projevují výrazněji ve II. stadiu. Pacienti trpící III. stadiem si stěžují na otoky nohou, zrakové poruchy, dušnost, plicní edém, demenci atd., tyto problémy jsou v souvislosti s poškozením jednotlivých orgánů (Rudolf, Macek, 2010). Arteriální hypertenze pomáhá uspišit průběh aterosklerózy, pro toto onemocnění je charakteristické hromadění tukových částic do stěny tepny (Štochlová, Cífková, 2007).

Tabulka č. 6 Faktory ovlivňující prognózu hypertoniků- tabulka vytvořena podle vzoru (Widimský a kol., 2004, s. 24).

<p>A. Rizikové faktory kardiovaskulárních onemocnění použité ke stratifikaci rizika podle projektu SCORE*</p> <ul style="list-style-type: none"> - věk - pohlaví - kouření - hodnoty systolického tlaku - hodnoty celkového cholesterolu nebo poměr celkový cholesterol/ HDL-cholesterol
<p>B. Poškození cílových orgánů (dříve tzv. orgánové změny) typické pro stadium II hypertenze</p> <ul style="list-style-type: none"> - hypertrofie levé srdeční komory (EKG)- kritéria Sokolowa-Lyona>38mm; Cornellovo kritérium>2440 mm/ ms; na echokardiografii LVMI, tj. index hmotnosti levé srdeční komory $\geq 125\text{g/m}^2$ u mužů, $\geq 110\text{g/m}^2$ u žen - ultrazvukové známky ztlustění tepen (IMT karotid$\geq 0.9\text{mm}$) nebo aterosklerotické pláty či kalcifikace aorty či jiných tepen - mírné zvýšení sérového kreatininu (u mužů 115-133$\mu\text{mol/l}$, u žen 107-124$\mu\text{mol/l}$) - mikroalbuminurie (30-300mg/24hod), poměr albumin/kreatinin u mužů ≥ 22, u žen $\geq 31\text{mg/g}$)
<p>C. Diabetes mellitus</p> <ul style="list-style-type: none"> - glykémie na lačno 7.0 mmol/l a vyšší - postprandiální glykémie >11.0 mmol/l
<p>D. Přidružená onemocnění (dříve tzv. orgánové komplikace, typické pro stadium III hypertenze)</p> <ul style="list-style-type: none"> - cévní onemocnění mozku: ischemická cévní mozková příhoda, mozkové krvácení, TIA - postižení srdce: infarkt myokardu, angina pectoris, koronární revaskularizace, srdeční selhání - renální postižení: -diabetická a nediabetická nefropatie, pokles renálních funkcí (sérový kreatinin u mužů > 133$\mu\text{mol/l}$, u žen > 124$\mu\text{mol/l}$), proteinurie (>300mg/24hod) - onemocnění periferních tepen -pokročilá retinopatie: krvácení nebo exsudáty, edém papily

* Hodnoty absolutního rizika KV onemocnění jsou vyšší než hodnoty odečtené z tabulky SCORE.

2.5 Léčba arteriální hypertenze

Za nejdůležitější záměr léčby tohoto onemocnění se považuje redukce kardiovaskulární mortality a morbidity (Cífková, 2006).

Pokles krevního tlaku se musí u pacientů provádět postupně (Rudolf, Macek, 2010). Pro všechny stupně hypertenze byly doporučené cílové hodnoty stanoveny pod 140/90 mmHg. Pro hodnoty krevního tlaku u pacientů trpících nemocemi ledvin, kardiovaskulárními chorobami nebo diabetem mellitus podle úpravy Evropských doporučení pro léčbu hypertenze z roku 2009 se stanovilo rozmezí 130-139/80-85mm Hg (Souček, 2010).

Léčbu arteriální hypertenze můžeme členit na nefarmakologickou a farmakologickou. Stručně bych chtěla popsat obě dvě léčby:

1) Nefarmakologická léčba arteriální hypertenze

Do pravidel nefarmakologické léčby se řadí snížení množství kuchyňské soli (NaCl 5-6g/24 hod), vzestup příjmu zeleniny a ovoce, přijatelná fyzická aktivita (30-45 minut 3-4 krát týdně), ukončení kouření. Mezi další potravní opatření můžeme považovat omezení příjmu alkoholu (10-20g pro ženy, 20-30 g denně pro muže) a také redukci množství přijatých nenasycených tuků. Dalším opatřením by mělo být vyvarování se léčiv, která pomáhají zadržet vodu a soli (kortikosteroidy, sympatomimetika, nesteroidní antiflogistika atd.). Také bychom si měli uvědomit, jak je u obézních pacientů a u lidí s nadváhou důležitá redukce váhy (BMI 18.5 - 24.9) (Souček, 2010).

2) Farmakologická léčba arteriální hypertenze

Nyní bych stručně popsala hlavní skupiny léků, které se užívají k léčbě arteriální hypertenze.

- **Inhibitory angiotenzin - konvertujícího enzymu (ACEI)**

Tato léčiva se používají v léčbě hypertenze samostatně nebo i ve spojení s dalšími antihypertenzivy (Rudolf, Macek, 2010). Tato skupina léčiv zamezuje, aby se angiotenzin I přeměnil na velmi účinný angiotenzin II pomocí angiotenzin konvertujícího enzymu. Pacienti si nejčastěji ztěžují na zažívací problémy, suchý kašel, hyperkalémii, hypotenzi atd. (Lincová, Farghali, 2002).

- **Blokátory angiotenzinových receptorů typu 1 (blokátory AT₁-receptorů, sartany)**

Tato skupina látek má schopnost znemožnit angiotenzinu II vázat se na receptory AT₁ (Rudolf, Macek, 2010). Za nejběžnější nežádoucí účinky se uvádí závratě a nauzea (Sovová, Hrčková, Marečková a kol., 2008).

- **Beta blokátory**

Tato skupina léčiv inhibuje účinky sympatického nervového systému např. způsobuje redukci tvorby arytmií, zlepšuje zásobování srdce krví atd. Mezi nežádoucí účinky se řadí pocit chladných nohou, problémy se spánkem, únava atd. (Sovová, Hrčková, Marečková a kol., 2008). Beta blokátory se také používají ve spojení s dalšími antihypertenzivy (ACEI, blokátory vápníkových kanálů atd.) (Kačerovský, Brndiar, Jebavý a kol., 2006).

- **Blokátory vápníkových kanálů**

Tato skupina léčiv má schopnost relaxovat hladké svalstvo v tepně a následkem je nižší periferní vaskulární rezistence, a z tohoto důvodu nastane pokles tlaku (Lincová, Farghali, 2002). Tato skupina léčiv nenavozuje poškození metabolických pochodů pacienta, proto je používání těchto léčiv výhodné (Cheitlin, Sokolow, McIlroy, 2005). Závratě, periferní otoky, bolesti hlavy jsou nejčastějšími nežádoucími účinky této skupiny antihypertenziv (Lincová, Farghali, 2002).

- **Diuretika**

Diuretika stimulují exkreci moči, sodíku a některých dalších minerálních látek. Diuretika také mají schopnost vazodilatace (Sovová, Hrčková, Marečková a kol., 2008).

Podle mechanismu účinku rozlišujeme několik druhů diuretik.

Thiazidová diuretika

Ovlivňují děje v distálních tubulech, mezi nežádoucí účinky patří vyšší koncentrace kyseliny močové v krvi, ztráty draslíku, vyšší cholesterolémie, křeče atd. (Lincová, Farghali, 2002).

Kličková diuretika

Působí v Henleově kličce. Furosemid je základním představitelem této skupiny. Nežádoucí účinky furosemidu jsou vyšší hladina kyseliny močové v krvi (hyperurikémie), gastrointestinální problémy, nižší hladiny hořčíku, vápníku a draslíku atd. (Lincová, Farghali, 2002).

Antagonisté aldosteronu

Tato léčiva mají schopnost vytěsnit aldosteron z vazby na jeho receptory (Štejfa a kol., 2007). Zástupce této skupiny látek je spironolakton. Spironolakton se často používá ve spojení s dalšími diuretiky (thiazidová a kličková diuretika) (Gregor, Widimský a kol., 1999). Mezi nežádoucí účinky spironolaktonu patří poruchy menstruačního cyklu, gynektomastie, hyperkalemie, kožní alergie atd. (Štejfa a kol., 2007).

- **α_1 -blokátory**

Tato skupina léčiv se používá v kombinaci s jinými antihypertenzivy pro léčení rezistentního a těžkého vysokého tlaku krve (Rudolf, Macek, 2010). Mezi nežádoucí účinky patří bolesti hlavy, posturální hypotenze, unavenost atd. (Souček, Kára a kol. 2002).

Tab č. 7 Indikace a kontraindikace hlavních skupin antihypertenziv- tabulka vytvořena podle vzoru (Štejfa a kol., 2007, s. 551).

Skupina antihypertenziv	Stavy podporující jejich užití	Kontraindikace	
		absolutní	relativní
diuretika (thiazidová)	měštnavé srdeční selhání hypertenze u starších osob izolovaná systolická hypertenze u osob afrického původu	dna	těhotenství
diuretika (kličková)	renální insuficience měštnavé srdeční selhání		
diuretika (antagonisté aldosteronu)	měštnavé srdeční selhání pacienti po prodělaném infarktu myokardu	renální selhání hyperkalemie	
beta-blokátory	angina pectoris stavy po infarktu myokardu měštnavé srdeční selhání*(s titrací směrem nahoru) těhotenství tachyarytmie	astma A-Vblok(stupeň 2 nebo 3)	CHOPN ischemická choroba DK sportovci a fyzicky aktivní pacienti
blokátory kalciových kanálů (dihydropyridinového typu)	pacienti ve vyšším věku izolovaná systolická hypertenze angina pectoris ischemická choroba DK, aterosklerotické postižení karotid těhotenství		tachyarytmie měštnavé srdeční selhání
blokátory kalciových kanálů (verapamil, diltiazem)	angina pectoris aterosklerotické postižení karotid supraventrikulární tachykardie	A-V blok (stupeň 2 nebo 3) měštnavé srdeční selhání	

inhibitory ACE		městnavé srdeční selhání systolická dysfunkce LK pacienti po infarktu myokardu hypertrofie levé komory srdeční nediabetická nefropatie nefropatie u diabetu 1. typu proteinurie	těhotenství hyperkalemie bilaterální stenóza renálních tepen	
blokátory receptorů	AT ₁ -	nefropatie u diabetu 2. typu proteinurie hypertrofie levé komory srdeční městnavé srdeční selhání kašel při užívání ACEI	těhotenství, hyperkalemie bilaterální stenóza renálních tepen	
alfa ₁ -blokátory		benigní hypertrofie prostaty	ortostatická hypotenze	městnavé srdeční selhání

* karvedilol, bisoprolol, retardovaný metoprolol, nebivolol

3 Experimentální modely využívané při výzkumu arteriální hypertenze

Využití experimentálních modelů se podílí na odhalení důvodů hypertenze, objevení mechanismu hypertenze a pomáhá tak ke snížení výskytu tohoto onemocnění (Kuněš, Zicha, 2003). Výsledky experimentů na zvířecích modelech musí vědci vyhodnocovat s obezřetností z důvodu odlišností mezi člověkem a zvířetem (Pravenec, Kurtz, 2010). Hlavně genetické modely považujeme za značně přínosné z důvodu napodobení vzájemného působení mezi vlivy vnějšího prostředí a genetickými faktory. Mezi přínosy práce s experimentálními modely řadíme rychlost vývoje hypertenze, dostupnost modelů, standardizaci experimentálních podmínek atd. (Kuněš, Zicha, 2003).

Potkan z důvodu snadného měření hemodynamických parametrů a vzhledem k svojí dosažitelnosti patří k nejčastějšímu experimentálnímu modelu arteriální hypertenze. V pokusech se zejména využívají tzv. inbrední kmeny potkanů, tento výraz vyjadřuje, že potkani jsou z pohledu genetiky stejní (Kuněš, Zicha, 2003). Experimentální modely rozlišujeme vzhledem k původu vysokého krevního tlaku na 2 hlavní skupiny. U první skupiny se vysoký krevní tlak vytváří jako genetický defekt, jenž se může projevit po působení podnětu (např. při vzestupu příjmu soli) nebo spontánně. U druhé skupiny je vysoký krevní tlak navozen u zvířat s normálním tlakem krve operačním či farmakologickým zákrokem (Souček, Kára a kol. 2002). Nyní bych stručně popsala několik modelů potkanů používaných při experimentech.

- **Spontánně hypertenzní potkani (Spontaneously hypertensive rats- SHR)**

Spontánně hypertenzní potkani se často využívají pro experimenty, poněvadž byla u nich objevena značná podobnost s mechanismy, které zodpovídají za původ primární hypertenze (Kuněš, Zicha, 2003). Vysoký krevní tlak je u spontánně hypertenzních potkanů způsobován hlavně vyšší periferní rezistencí. Spontánně hypertenzní potkani mají mnoho podkmenů (Souček, Kára a kol. 2002).

- **Stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP)**

Jedná se o podkmen SHR. Pro tento podkmen je typický častý výskyt mozkové příhody u jedinců starých 9-13 měsíců (Souček, Kára a kol. 2002).

- **Dahl-salt sensitive rats**

Tento typ potkana řadíme do skupiny genetických modelů. Pokud bychom tyto potkany krmili potravou s vysokým obsahem soli, byla by u nich pozorována těžká hypertenze. Je zajímavé, že hypertenze je patrná u tohoto modelu, i když potkani byli krmeni potravou s normálním podílem soli (Pinto, Paul, Ganten, 1998).

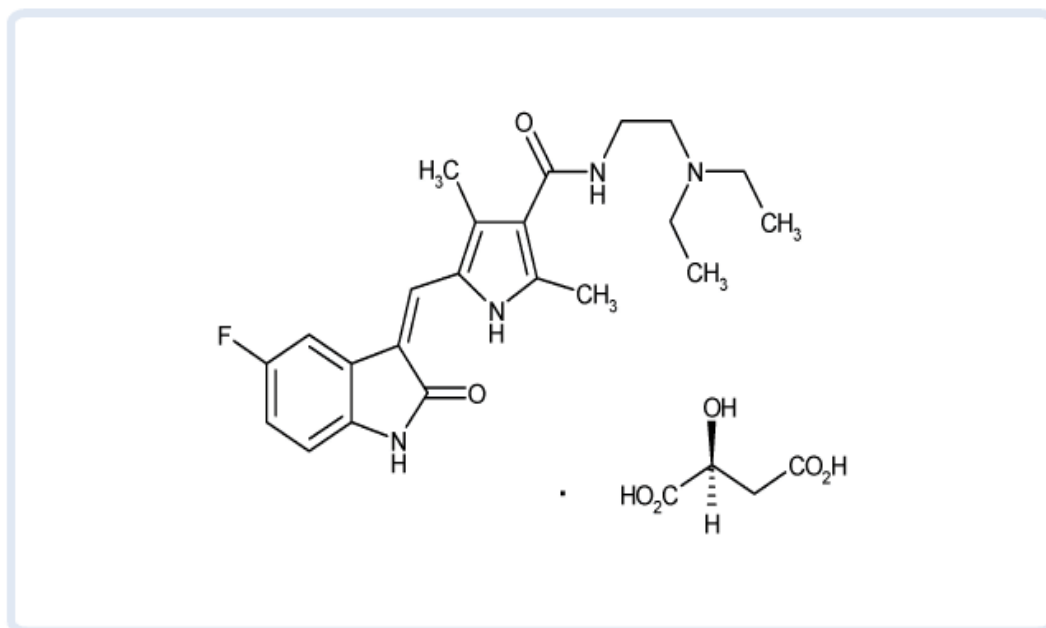
4 Sunitinib

4.1 Chemická struktura sunitinibu

Sunitinib je z chemického hlediska (N-[2-(diethylamino) ethyl]-5-[(Z)-(5-fluoro-1,2-dihydro-2-oxo-3H-indol-3ylidin)methyl]-2,4-dimethyl-1H-pyrrol-3-karboxamid. Léčivý přípravek Sutent obsahuje sůl sunitinib malát (Rock, Goodman, Jiang a kol, 2007).

Obrázek č. 1 – Struktura sunitinibu- citováno dne 30. 07. 2012 z internetové stránky:

http://www.pfizerpro.com/hcp/oncology/sutent?rid=/wyeth_html/home/minisites/oncology/sutent/pi/description.html



4.2 Mechanismus účinku

Sunitinib řadíme do skupiny tzv. malých molekul, tyrozinkinázových inhibitorů (Kocák, Kocáková, 2007). Tyrozinkinázy jsou enzymy a mají důležitou roli v buněčném dělení. Sunitinib má schopnost zbrzdit zvětšování nádoru a zpomalit angiogenezi a také schopnost redukovat nebezpečí tvorby metastáz (Fínek, Slíva, 2007). Sunitinib inhibuje receptorové, ale i nereceptorové tyrozinkinázy (Petruželka, 2007). Vědci objevili, že sunitinib inhibuje tyrozinkinázy, které jsou asociované s receptory vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGFR 1, 2 a 3) a receptory pro destičkový růstový faktor (PDGFR α a β). Sunitinib má také schopnost inhibovat receptory pro kolonie stimulující faktor typu 1 (CSF-1R), receptory faktoru kmenových buněk (KIT) atd. (Fínek, Slíva, 2007).

4.3 Farmakokinetické parametry sunitinibu

Sunitinib je pacientům podáván perorálně, maximální plazmatická koncentrace po tomto typu podání je za 6-12 hodin. Jídlo neovlivňuje biologickou dostupnost (Kocák, Kocáková, 2007). Cytochrom CYP3A4 metabolizuje sunitinib hlavně na farmakologicky účinný N-desethylmetabolit (Faivre, Delbaldo, Vera a kol., 2006). Pokud by pacient užíval látku, která inhibuje enzym CYP3A4, bude se koncentrace sunitinibu v plazmě zvyšovat, naopak po užití induktoru CYP3A4 bude hladina sunitinibu v plazmě nižší. Pokud bychom se nemohli vyvarovat užití těchto léčiv, museli bychom pozměnit dávky sunitinibu (Petruželka, 2007). Sunitinib má dlouhý eliminační poločas 41-68 hodin (Kocák, Kocáková, 2007). Sunitinib a jeho metabolit mají velkou vazebnost na bílkoviny plazmy (Petruželka, 2007). Sunitinib se z těla vylučuje hlavně stolicí (Kocák, Kocáková, 2007).

4.4 Indikace

Food and Drug Administration povolil používat sunitinib pro léčení pokročilého renálního karcinomu a gastrointestinálního stromálního tumoru (GIST) při rezistenci na imatinib nebo po progresi (Rock, Goodman, Jiang a kol, 2007).

Gastrointestinální stromální tumory se řadí mezi mezenchymální novotvary a jsou nejčastěji lokalizovány v žaludku, ale byly také objeveny v rektu, tenkém střevě atd. (Kocák, Kocáková, 2007).

4.5 Dávkování

Sunitinib je podáván pacientovi v doporučené dávce 50 mg jednou denně per os po 4 týdny, poté 2 týdny pacient sunitinib neužívá. Tato přestávka uzavírá celý 6 týdenní cyklus. Denní dávka by neměla být nižší než 37,5 mg a vyšší než 87,5mg (Petruželka, 2007).

4.6 Nežádoucí účinky

Klinické studie ukazují, že sunitinib patří mezi léky, které jsou pacienty dobře snášeny. Nejčastějšími nežádoucími účinky jsou hypertenze, hand-foot syndrom, průjemy, nevolnost, stomatitida, leukopenie, únava atd. Popsanými obtížemi trpí pacienti zpravidla jen dočasně (Kocák, Kocáková, 2007). Níže jsou popsány některé druhy nežádoucích účinků.

- **Hand-foot syndrom (syndrom palmoplantární erytrodysézie, hand-foot skin reaction HFSR)**

Pro tento syndrom jsou typická erytrotomatózní bolestivá ložiska často se vyskytující na chodidlech a dlaních. Mezi další symptomy typické pro tento syndrom patří odlupování pokožky, puchýře, otok atd. Inhibice VEGFR a PDGFR může být jedna z důvodů pro vznik tohoto syndromu, protože při inhibici VEGFR a PDGFR dochází k poruchám reparačních vaskulárních procesů (Bednaříková, Kocák, 2010).

- **Hypertenze**

Při léčbě sunitinibem odborníci doporučují kontrolu krevního tlaku a léčení hypertenze (Petruželka, 2007). Aktivace VEGFR-2 má za následek expresi endoteliální NO syntázy (Vaklavas, Lenihan, Kurzrock, 2010). Při léčbě sunitinibem se důvodu ovlivnění VEGF tvoří méně oxidu dusnatého a dochází k následné vazokonstrikci, která způsobuje hypertenzi. Hypertenze může také vzniknout z důsledku nižší glomerulární filtrace a poklesu vylučování vody a sodíkového iontu (Rini, Cohen, Lu a kol., 2011). Také dochází k zániku malých krevních cév (Vaklavas, Lenihan, Kurzrock, 2010). Je zajímavé, že se hypertenze objevila častěji u pacientů, kterým se podával sunitinib stále v dávce 37.5 mg než u skupiny, které se sunitinib podával po 4 týdny v denní dávce 50mg a poté se na 2 týdny nepodával žádný sunitinib. Příčina tohoto jevu není zřejmá. Můžeme předpokládat, že přestávka 2 týdny, kdy se sunitinib nepodává, pomáhá k regeneraci cévního endotelu (Zhu, Stergiopoulos, Wu, 2009). Hypertenze navozená

sunitinibem byla Rutkowskim a spol. potvrzena jako ukazatel účinku. Tento závěr vyplynul z výsledků, které dokazují, že jednoleté přežití bez progresu bylo procentuálně vyšší u skupiny pacientů se sunitinibem navozenou hypertenzí nad 140/90 mmHg než u pacientů bez hypertenze způsobené sunitinibem. Z tohoto závěru vyplývá myšlenka podat sunitinib v takovém množství, které způsobí hypertenzi. Tímto uváděným množstvím je 87.5 mg/ den (Linke, Kalousová, 2011) Pro léčbu hypertenze se používají RAAS inhibitory (ACEI nebo sartany), kteří chrání srdce před srdečním selháním (Vaklavas, Lenihan, Kurzrock, 2010).

4.7 Kontraindikace

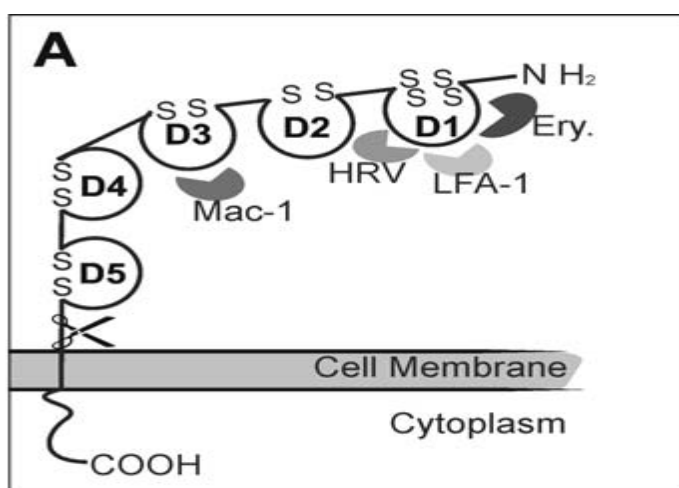
Pacienti, kteří jsou alergičtí na sunitinib, nemohou podstoupit léčbu sunitinibem (Petruželka, 2007).

5 Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1, CD54)

Český název ICAM-1 je intercelulární adhezní molekula-1 (Špičák, 2005). ICAM-1 patří mezi adhezní molekuly. Adhezní molekuly umožňují pomocí vzájemného působení kontakt mezibuněčné hmoty (extracelulární matrix) s buňkami a také kontakt mezi dvěma buňkami (Ferenčík, Rovenský, Shoenfeld a kol., 2005). Do skupiny adhezních molekul řadíme hlavně integriny, adhezní molekuly z imunoglobulinové rodiny a selektiny (Trojan a kol., 2003). Selektiny mají důležitou funkci v kutálení (rolling) leukocytů po stěně cévy. Adhezní molekuly z imunoglobulinové rodiny a integriny vzájemně působí mezi sebou a také se součástmi mezibuněčné hmoty. Tyto adhezní molekuly mají významnou roli v efektorových úlohách lymfocytů (cytotoxicita) a granulocytů (fagocytóza) a také mají podstatný význam pro agregaci a migraci bílých krvinek přes stěnu cévy (Bartůňková, Šedivá, Janda, 2007). Adheze leukocytů na buňky endotelu cévy je důležitým momentem ve vývoji zánětlivé odpovědi (Komatsu, Panés, Russell a kol., 1997). Cytokiny, oxidanty a toxiny bakterií mají schopnost indukovat tvorbu buněčných adhezních molekul endotelu (např. ICAM-1, E-selektin atd.). Adhezní molekuly mají potencionální význam jako modulátoři nekontrolovatelných interakcí mezi buňkami, které vedou k dysfunkci cév a porušení tkáně (Krieglstein, Granger, 2001).

ICAM-1 se řadí do skupiny transmembránových molekul a vyskytuje se na povrchu buňky (Bella, Kolatkar, Marlora a kol., 1998). Exprese ICAM-1 je na několika druzích buněk také na buňkách endotelu a bílých krvinkách (Lawson, Wolf, 2009). Molekulová hmotnost ICAM-1 je 80-114 kDa a je závislá na stupni glykosylace (Lawson, Wolf, 2009). ICAM-1 se řadí mezi glykoproteiny (Rovenský a kol., 2006). Struktura ICAM-1 je tvořena 5 extracelulárními imunoglobulinu podobnými doménami, transmembránovou částí a krátkým cytoplazmatickým úsekem (Thomson, Satoh, Nüssler a kol., 1994).

Obrázek č. 2 Struktura ICAM-1 (Lawson, Wolf, 2009, s. 23).



ICAM-1 má podstatný význam pro získanou i vrozenou imunitní odpověď. ICAM-1 se účastní interakcí mezi T buňkami a antigen prezentujícími buňkami a také má roli v transendoteliálním přechodu bílých krvinek do místa zánětu (Lawson, Wolf, 2009). ICAM-1 má také funkci receptoru na buněčném povrchu pro hlavní skupinu lidských rhinovirů. Pro zahájení vstupu viru do buňky hostitele je tato interakce důležitá. Červené krvinky, které jsou napadeny *Plasmodium falciparum*, mají schopnost tvořit vazbu s doménou 1 ICAM-1. Integryny LFA-1 a Mac-1 jsou ligandy ICAM-1. Při normálním stavu je exprese ICAM-1 velmi malá (Bella, Kolatkar, Marlor a kol., 1998). Exprese ICAM-1 je zvýšená při zánětu z důvodu odezvy na prozánětlivé prvky (Tong, Neboori, Tran a kol., 2011). Tvorba ICAM-1 je stimulována TNF- α , IL-1 a IFN- γ (Rovenský a kol., 2006). Při endoteliální dysfunkci dochází k nárůstu exprese adhezních molekul VCAM-1, ICAM-1, P- a E-selektinu. Tyto molekuly zprostředkovávají adhezi leukocytů na endotel (Hlubocká, Umnerová, Heller a kol., 2002). Zvýšená koncentrace ICAM-1 se řadí k markerům dysfunkce endotelu (Tesař, Shück a kol., 2006). Vědci objevili výskyt ICAM-1 v aterosklerotických lézích. ICAM-1 se účastní progresu aterosklerózy (Lawson, Wolf, 2009).

Z povrchu buňky do séra může být ICAM-1 uvolňován v podobě rozpustné formy (s ICAM-1) (Terol, Tormo, Martinez-Climent a kol., 2003). S ICAM-1 se nazývá cirkulující ICAM-1 (Thomson, Satoh, Nüssler a kol., 1994). S ICAM-1 vzniká při štěpení extracelulární části ICAM-1 pomocí např. matrix metaloproteinázy- 9, elastázy atd. (Tong, Neboori, Tran a kol., 2011). Struktura molekuly s ICAM-1 je tvořena 5 extracelulárními imunoglobulinu podobných domén ICAM-1 (Thomson, Satoh, Nüssler

a kol., 1994). Ale transmembránová a cytoplazmatická část se nevyskytují ve struktuře s ICAM-1. V séru člověka jsou hladiny s ICAM-1 při normálním stavu v rozmezí 100-450 ng/ml. Vyšší koncentrace s ICAM-1 se vyskytovaly u pacientů, kteří trpěli rakovinou, autoimunitními nemocemi a kardiovaskulárními chorobami (Lawson, Wolf, 2009). U pacientů s inzulin-dependentním diabetem byly naměřeny vyšší koncentrace s ICAM-1 v séru (Krieglstein, Granger, 2001). U pacientů s primární biliární cirhózou a jinými autoimunitními nemocemi jater byl zjištěn signifikantní nárůst koncentrace s ICAM-1 (Thomson, Satoh, Nüssler a kol., 1994). Zvýšení hladiny s ICAM-1 u pacientů s hypertenzí byly potvrzeny několika studiemi (Tong, Neboori, Tran a kol., 2011).

6 Cíl práce, zadání práce

Cílem této rigorózní práce bylo kvantifikovat expresi ICAM-1 v aortě u spontánně hypertenzních potkanů (SHR) a normotenzních Wistar Kyoto (WKY) potkanů po podávání sunitinibu za použití imunohistochemických metod a stereologických metod.

7 Experimentální část

7.1 Sunitinib – design experimentu

Výzkum byl rozdělen na 2 experimenty, u kterých se sledovaly změny způsobené dlouhodobým příjmem sunitinibu experimentálními zvířaty (10 mg/kg za den v pitné vodě). Pro první experiment jsme použili inbrední samce kmene SHR, ve druhém experimentu nám posloužili jako laboratorní zvířata inbrední samci kmene WKY. Oba dva kmeny potkanů mají shodnou genetickou výbavu, ale kmen WKY má normální krevní tlak.

Potkani v obou experimentech byli rozděleni do dvou skupin. Potkani v první skupině dostávali sunitinib, potkani ve druhé skupině tvořili kontrolní skupinu a místo sunitinibu přijímali čistou vodu. Potkani dostávali každý den během 8 týdnů sunitinib (experimentální skupina) nebo čistou vodu (kontrolní skupina). Období 8 týdnů je dvakrát delším obdobím, jež je doporučeno u pacientů. Během 5 dnů po 8 týdenním podávání sunitinibu organismus potkanů regeneroval, pak začali potkani opětně přijímat sunitinib. Zvířata ze SHR kmene přijímali sunitinib dalších 8 týdnů. Potkani z kmene WKY dostávali sunitinib po dobu pouze 2 týdnů, poněvadž delší užívání tohoto léčiva nebylo možné, protože potkani vykazovali zřetelné symptomy celkové toxicity a snížení hmotnosti. Potkani byli usmrceni 24 hodin po podání poslední dávky.

7.2 Imunohistochemie

Pro imunohistochemickou analýzu byla zvolena aorta laboratorních potkanů. Vzorky cév byly dány do zmrazovacího média, následně byly tyto vzorky zmrazeny v tekutém dusíku a uschovány při teplotě – 80°C. Pomocí zmrazovacího mikrotonu byla vytvořena skupina příčných řezů, které měly tloušťku 7 µm. Jednotlivé řezy byly umístěny na sklíčko s želatinou, poté se musely vysušit vzduchem a zafixovat v acetonu (doba 20 minut při teplotě 20°C). V experimentu jsme aplikovali metodiku En Vision s detekcí pomocí DAB, abychom zjistili expresi ICAM-1.

7.2.1 Metodika En Vision

Pracovní postup

Když byla jednotlivá sklíčka s preparáty zafixována v acetonu, nechala jsem je uschnout na vzduchu po dobu 30 minut, poté jsem sklíčka uložila do fosfátového pufru (PBS) na dobu 5 minut. Aby byl experiment průkazný, musela jsem blokovat nescifická vazebná místa 10 % roztokem goat séra (kozí sérum- Sigma- Aldrich, Německo), který byl ředěn fosfátovým pufrem. Tato blokáda nescifických vazebných míst trvala 30 minut. Poté jsem aplikovala na jednotlivé řezy primární protilátku mouse anti-rat ICAM-1 (CD54), která byla ředěna v BSA 1:50 (Pharmingen, USA), protilátka působila 1 hodinu. Následně jsem preparáty omyla v PBS dvakrát po 5 minutách. Protože jsem potřebovala utlumit endogenní peroxidázovou aktivitu tkáně, vložila jsem vzorky do 3% peroxidu vodíku, který byl ředěn PBS, na 15 minut. Následně jsem preparáty vložila do PBS na 2x 5 minut. Nyní jsem aplikovala sekundární protilátku goat anti-mouse IgG (DAKO, USA) a nechala působit 30 minut. Poté jsem opět omyla vzorky v PBS 2x 5 minut, následně jsem uskutečnila vizualizaci navázaných protilátek za použití DAB-diaminobenzidinu (DAB substrát-chromogen roztok, DAKO, USA), který účinkoval na vzorky 45 vteřin. DAB se využívá k vizualizaci antigenu, poněvadž v místě pozitivní reakce tvoří hnědou barvu. Po následném omytí v PBS a destilované vodě jsem jádra buněk dobarvovala pomocí barviva hematoxilinu na dobu 10 vteřin. Následně jsem provedla po dobu 1 minuty modránění pod tekoucí vodou a omyla preparáty v acetonu. Poté jsem musela odstranit nadbytečnou vodu pomocí odvodňovací série aceton- xylen (10:1) po dobu 3 minut, aceton-xylen (1:10) po dobu 3 minut, nakonec 3x xylen po dobu 2minut. Na závěr jsem zafixovala vzorky do Eukitu.

7.3 Statistická analýza

Všechny hodnoty v grafech jsou formulovány jako průměr \pm SEM pro 6 potkanů v každé skupině. Uplatnili jsme nepárový T test pro vyhodnocení rozdílů ve výsledcích mezi jednotlivými skupinami potkanů. Odlišnosti mezi jednotlivými skupinami zvířat byly statisticky důležité, jestliže $P \leq \alpha$, kde $\alpha = 0.05$. GraphPad Prism software (verze 4.0) byl využit pro vyhodnocení.

8 Výsledky

8.1 Imunohistochemické barvení ICAM-1 v aortě

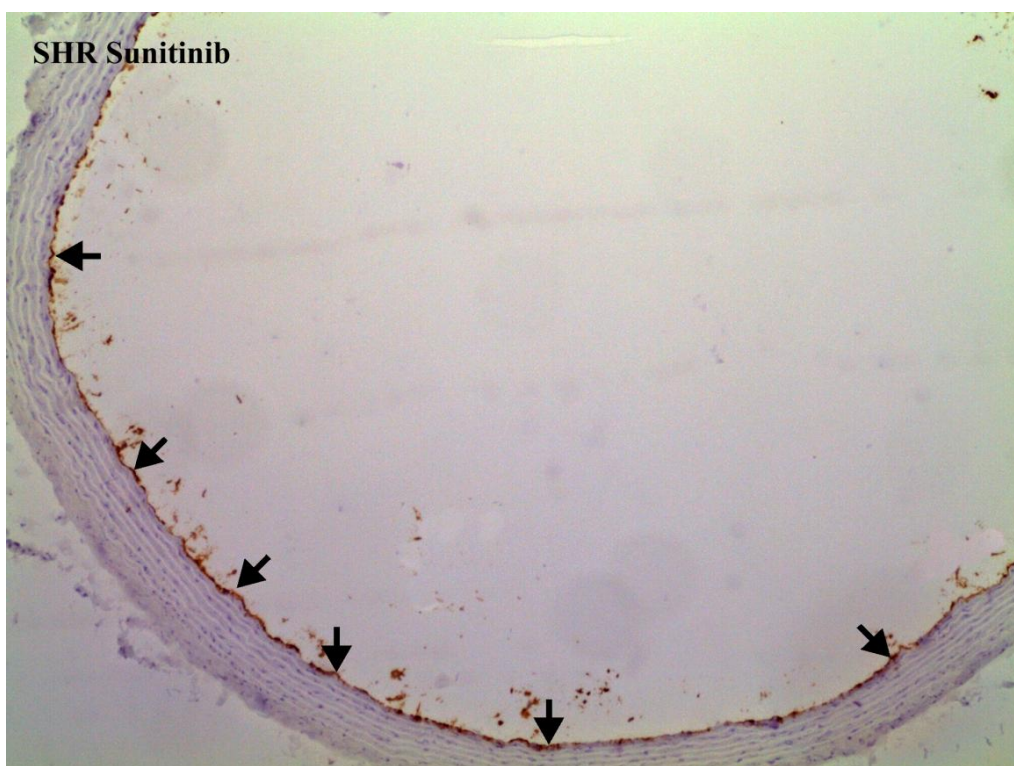
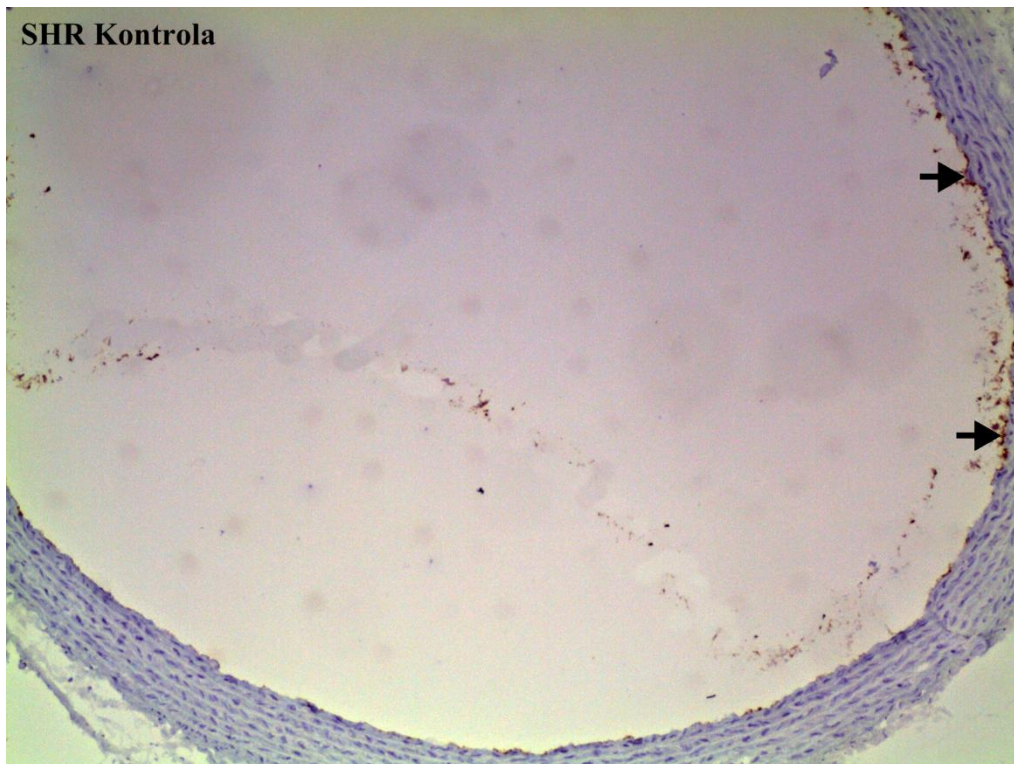
Barvení se uskutečnilo u 120 preparátů, které obsahovaly 5 preparátů systematicky náhodně zvolených řezů od 6 potkanů z jednotlivých skupin. Expres ICAM-1 byla detekována výhradně u buněk endotelu.

Expres ICAM-1 byla výraznější u zvířat, kterým byl podáván sunitinib pokud to srovnáme s kontrolními zvířaty. Nejvýraznější exprese ICAM-1 se zdála být u SHR potkanů se sunitinibem. Po takto vyhodnoceném barvení jsme přistoupili ke stereologické analýze.

Obrázek č. 3 Reprezentativní obrázky ICAM-1 exprese u WKY potkanů v aortě. Expresse byla detekována pouze u endoteliálních buněk (šipky). Expresse ICAM-1 je výraznější u zvířat, která byla léčena Sunitinibem. Jádra jsou dobarvena hematoxylinem. Zvětšení 10x.



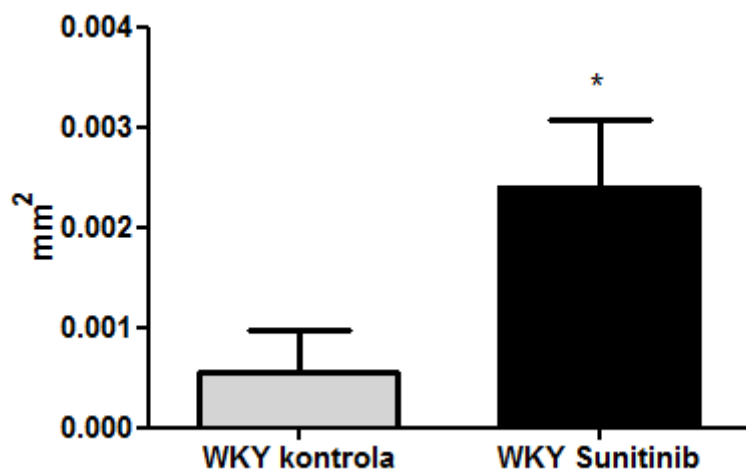
Obrázek č. 4 Reprezentativní obrázky ICAM-1 exprese u SHR potkanů v aortě. Expres byla detekována pouze u endoteliálních buněk (šipky). Expres ICAM-1 je výraznější u zvířat, která byla léčena Sunitinibem. Jádra jsou dobarvena hematoxylinem. Zvětšení 10x.



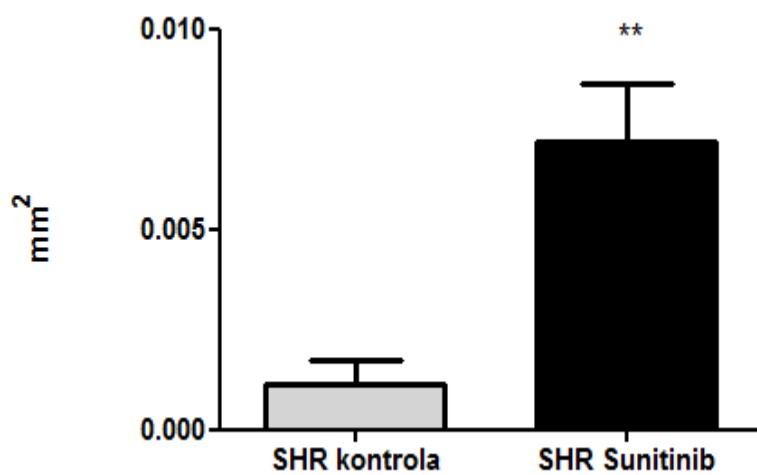
8.2 Stereologická analýza exprese ICAM-1 v aortě

Stereologická analýza byla provedena celkem u 120 řezů. 30 řezů bylo hodnoceno v každé skupině. Výsledky ukazují, že podávání sunitinibu zvyšovalo expresi ICAM-1. U WKY došlo ke statisticky významnému nárůstu exprese ICAM-1 ve srovnání s kontrolní skupinou ($0,0006 \pm 0,0004$ versus $0,0024 \pm 0,0006$ mm², P = 0,04) (graf č. 1). Podobně také u SHR potkanů podávání sunitinibu vedlo ke zvýšení exprese ICAM-1 ($0,001 \pm 0,0005$ versus $0,007 \pm 0,0001$ mm², P = 0,0036) (graf č.2).

Graf č. 1 Stereologická analýza exprese v ICAM-1 v aortě u WKY potkanů.



Graf č. 2 Stereologická analýza exprese v ICAM-1 v aortě u SHR potkanů.



9 Diskuse

Sunitinib se řadí mezi tyrozinkinázové inhibitory. Sunitinib je multikinázovým inhibitorem a je v současné době podáván pacientům s diagnózou gastrointestinálních stromálních tumorů a pokročilým renálním karcinomem. Je několik klinických studií, které se zabývají účinky sunitinibu i u jiných typů nádorů (Papaetis, Syrigos, 2009).

Sunitinib malát má schopnost inhibovat specifické receptorové tyrozinkinázy: receptory vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGFR) typ 1 a 2, receptory pro destičkový růstový faktor α a β (PDGFR- α , β), receptor pro neurotrofický faktor odvozený od gliálních buněk (RET), receptor faktoru kmenových buněk a Fms-podobná tyrosinkináza 3 (FLT3) (Mena, Pulido, Guillen-Ponce, 2010). Inhibitoři angiogeneze mají schopnost zamezit extracelulární vazbě mezi receptorem vaskulárního endoteliálního růstového faktoru a vaskulárním endoteliálním růstovým faktorem, což jsou např. anti VEGF protilátky nebo zablokovat intracelulární signální cestu VEGFR pomocí inhibice přenosu signálu pomocí receptorových tyrozinkináz (Faivre, Demetri, Sargent a kol., 2007).

Hypertenze se řadí k zásadním nežádoucím účinkům podávání sunitinibu a její incidence je hlášena v klinických studiích. U pacientů, kterým byl podáván sunitinib byla incidence všech stupňů hypertenze i vysokého stupně hypertenze vyhodnocena u 21.6 % pacientů a u 6.8 % bylo zjištěno podstatně vyšší nebezpečí vysokého stupně hypertenze (Szmit, Langiewicz, Zlneriek a kol., 2012).

Vzhledem k tomu, že hypertenze je spjata s rozvojem endoteliální dysfunkce (Marson, 2008) využili jsme v této rigorózní práci normotenzní (WKY) a hypertenzní (SHR) potkany a sledovali jsme změny exprese buněčné adhezní molekuly ICAM-1 po podávání sunitinibu.

Do skupiny adhezních molekul z imunoglobulinové rodiny se zařazuje mnoho molekul s více imunoglobulinu podobných domén. Někteří zástupci této skupiny jsou důležití pro choroby cév - PECAM-1, VCAM-1, ICAM-1 a ICAM-2 (Galkina, Ley, 2007). ICAM-1 exprese se zvyšuje při rozvoji endoteliální dysfunkce, která je spojena s aterogenezí (Nachtigal, Kopecký, Solichova a kol., 2005) ale i s rozvojem arteriální hypertenze (Krieglstein, Granger, 2001).

Z tohoto důvodu jsme chtěli zjistit, zda podávání sunitinibu může vést ke zvýšení exprese tohoto markeru v aortě. Imunohistochemická a stereologická analýza 120 řezů ze 4 experimentálních skupin ukázala, že exprese ICAM-1 byla pozorována

pouze na cévním endotelu, což je v souladu s předchozími studiemi (Wilczynski, Banasik, Glowacka a kol., 2002) (Wang, Adair, Weeks a kol., 1999). Dále jsme zjistili statisticky významně zvýšenou expresi ICAM-1 na cévním endotelu po podávání sunitinibu u normotenzních i hypertenzních potkanů. To může vést k hypotéze, že nárůst exprese ICAM-1 souvisí s vysokým krevním tlakem a tedy následným rozvojem dysfunkce endotelu.

Vzhledem k tomu, že v současné době nejsou hodnoty krevního tlaku u těchto zvířat vyhodnoceny, nemůžeme vyloučit ani variantu jiného toxického vlivu podávaného sunitinibu na cévní endotel. To bude ovšem předmětem dalších studií, stejně jako zjišťování vlivu sunitinibu na cévy studiem dalších markerů.

10 Závěr

Cílem této rigorózní práce bylo kvantifikovat expresi ICAM-1 v aortě u spontánně hypertenzních potkanů a normotenzních potkanů po podávání sunitinibu.

Imunohistochemická analýza prokázala expresi ICAM-1 pouze na cévním endotelu u všech skupin zvířat.

Stereologická analýza prokázala statisticky významný nárůst exprese ICAM-1 u normotenzních i hypertenzních zvířat po podávání sunitinibu.

Přesný mechanismus, jak by sunitinib mohl zvyšovat endoteliální dysfunkci, je však stále neznámý a bude předmětem dalších studií.

11 Zkratky

ACEI	Inhibitory angiotenzin - konvertujícího enzymu
ANP	Artriální natriuretický peptid
AT ₁ receptor	Receptor pro angiotenzin II-typ 1
AV	Atrioventrikulární
BMI	Body-mass index
BNP	(Brain) mozkový natriuretický peptid
BSA	Bovinní sérový albumin
CSF-1R	Receptory pro kolonie stimulující faktor typu 1
CT	Počítačová tomografie
CYP	Cytochrom P450
DAB	Diaminobenzidin
DK	Dolní končetina
dTK	Diastolický tlak krve
EDHF	Endoteliální hyperpolarizační faktor
EDRF	Endoteliální relaxační faktor
EKG	Elektrokardiografie
ESC	European Society of Cardiology Evropská kardiologická společnost
ESH	European Society of Hypertension Evropská společnost pro hypertenzi
FLT3	Fms- like tyrosine kinase-3 Fms- podobná tyrozinkináza 3
GIST	Gastrointestinální stromální tumor
HDL-cholesterol	Cholesterol v lipoproteinech o vysoké hustotě
HK	Horní končetina
CHOPN	Chronická obstrukční plicní nemoc
ICAM-1	Intercellular cell adhesion molecule - 1 Intercelulární adhezní molekula-1
ICAM-2	Intercellular cell adhesion molecule – 2 Intercelulární adhezní molekula-2
IFN- γ	Interferon gama
IgG	Imunoglobulin G
ICHS	Ischemická choroba srdeční
IL-1	Interleukin-1
IMT	Intima-media thickness Ztluštění intimy-medie

ISH	International Society of Hypertension Mezinárodní společnost pro léčbu hypertenze
kDa	Kilodalton
KIT	Receptory faktoru kmenových buněk
KV	Kardiovaskulární
LFA-1	Lymphocyte function - associated antigen- 1
LK	Levá komora
Mac-1	Macrophage- 1 antigen
MR	Magnetická rezonance
NaCl	Chlorid sodný
NO	Oxid dusnatý
PBS	Fosfátový pufr
PDGFR	Platelet derived growth factor receptor Receptor pro destičkový růstový faktor
PECAM-1	Platelet-endothelial cell adhesion molecule-1 Destičková a endoteliální celulární adhezní molekula-1
PG	Prostaglandin
PGI ₂	Prostacyklin I ₂
PGE ₂	Prostaglandin E ₂
PGH ₂	Prostaglandin H ₂
RAAS	Renin-angiotenzin-aldosteronový systém
RET	Glial cell – line derived neurotrophic factor receptor Receptor pro neurotrofický faktor odvozený od gliálních buněk
SEM	Střední chyba průměru
SHR	Spontaneously hypertensive rats Spontánně hypertenzní potkani
sICAM	Solubilní forma ICAM-1
sTK	Systolický tlak krve
TIA	Tranzitorní ischemická ataka
TK	Tlak krve
TNF- α	Tumor-nekrotizující faktor alfa
TXA ₂	Tromboxan A ₂
VCAM-1	Vascular cell adhesion molecule-1 Vaskulární adhezní molekula- 1
VEGF	Vascular endothelial growth factor Vaskulární endoteliální růstový faktor

VEGFR	Vascular endothelial growth factor receptor Receptory vaskulárního endoteliálního růstového faktoru
WHO	World Health Organization Světová zdravotnická organizace
WKY	Wistar Kyoto potkani

12 Použitá literatura

BARTUŇKOVÁ, J., ŠEDIVÁ, A., JANDA, A. *Imunodeficiencie*. 2.vyd. Praha: Grada Publishing, 2007. s. 46 - 47. ISBN 978-80-247-1980-1.

BEDNAŘÍKOVÁ, D., KOCÁK, I. Hand-foot syndrom po podání inhibitorů tyrosinkinázové aktivity. *KLINICKÁ ONKOLOGIE*, 2010, roč. 23, č. 5, s. 301 - 303. ISSN 1802-5307.

BELA, J., KOLATKAR, P. R., MARLOR, C. W. a kol. The structure of the two amino-terminal domains of human ICAM-1 suggests how it functions as a rhinovirus receptor and as an LFA-1 integrin ligand. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95, s. 4140.

CÍFKOVÁ, R. Kombinovaná léčba hypertenze. *Farmakoterapie*, 2006, roč. 2, č. 4, s. 413. ISSN 1801-1209.

FAIVRE, S., DELBALDO, C., VERA, K. a kol. Safety, pharmacokinetic, and antitumor activity of SU 11248, a novel oral multitarget tyrosine kinase inhibitor, in patients with cancer. *J Clin Oncol*, 2006, 24, s. 26.

FAIVRE, S., DEMETRI, G., SARGENT, W. a kol. Molecular basis for sunitinib efficacy and future clinical development. *Nat Rev Drug Discov*, 2007, 6, s. 734 - 745.

FERENČÍK, M., ROVENSKÝ, J., SHOENFELD, Y. a kol. *IMUNITNÍ SYSTÉM-informace pro každého*. 1.vyd. Praha: Grada Publishing, 2005. s. 74. ISBN 80-247-1196-6.

FÍNEK, J., SLÍVA, J. Sunitinib- nové klinické studie. *Farmakoterapie*, 2007, roč. 3, č. 4, s. 301-302. ISSN 1801-1209.

GALKINA, E., LEY, K. Vascular adhesion molecules in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasv Biol*, 2007, 27, s. 2292 - 2301.

GREGOR, P., WIDIMSKÝ, P. a kol. *Kardiologie druhé, přepracované a rozšířené vydání*. 2. vyd. Praha: Galén, 1999. s. 145. ISBN 80-7262-021-5.

HLUBOCKÁ, Z., UMNEROVÁ, V., HELLER, S. a kol. 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, s. 558.

http://www.pfizerpro.com/hcp/oncology/sutent?rid=/wyeth_html/home/minisites/oncology/sutent/pi/description.html.

- CHEITLIN, M. D., SOKOLOW, M., MCLLROY, M. B. *Klinická kardiologie*. 1. čes. vyd. Jinočany: Nakladatelství H&H, Vyšehradská, s.r.o., 2005. s. 359. ISBN 80-7319-005-2.
- KAČEROVSKÝ, J., BRNDIAR, M., JEBAVÝ, L. a kol. *Aktuální problémy arteriální hypertenze*. 1.vyd. Hradec Králové: Univerzita obrany, 2006. s. 35. ISBN 80-85109-47-6.
- KAREN, I., CÍFKOVÁ, R., BÝMA, S. a kol. *Arteriální hypertenze: doporučený diagnostický a léčebný postup pro všeobecné praktické lékaře*. Praha: Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP, 2004. s. 3. ISBN 80-903573-3-4.
- KOCÁK, I., KOCÁKOVÁ, I. Sunitinib. *Farmakoterapie*, 2007, roč. 3, č. 2, s. 143 – 146. ISSN 1801-1209.
- KOMATSU, S., PANÉS, J., RUSSELL, J. M. a kol. Effects of chronic arterial hypertension on constitutive and induced intercellular adhesion molecule- 1 expression in vivo. *Hypertension*, 1997, 29, s. 683-689.
- KRIEGLSTEIN, C. F., GRANGER, D. N. Adhesion molecules and their role in vascular disease. *Am J Hypertens*, 2001, 14, s. 44 - 54.
- KUNEŠ, J., ZICHA, J. Použití experimentálních modelů pro výzkum hypertenze. *Hypertenze-bulletin České společnosti pro hypertenzi*, 2003, roč. 6, č. 1, s. 14 - 15. ISSN 1211-9679.
- LAWSON, C., WOLF, S. ICAM-1 signaling in endothelial cells. *Pharmacol Rep*, 2009, 61, s. 22 - 32.
- LINCOVÁ, D., FARGHALI, H. *Základní a aplikovaná farmakologie*. 1. vyd. Praha: Galén, 2002. s. 204, 205, 229, 236 a 237. ISBN 80- 7262-168-8.
- LINKE, Z., KALOUSOVÁ, M. Novinky v léčbě gastrointestinálního stromálního nádoru. *Farmakoterapie*, 2011, roč. 7, č. 5, s. 508 – 509. ISSN 1801-1209.
- MARSON, B. P. e NOS polymorphisms in hypertension. *Clin Chim Acta*, 2008, 390, s. 161.
- MENA, A. C., PULIDO, E. G., GUILLEN-PONCE, C. Understanding the molecular based mechanism of action of the tyrosine kinase inhibitor: sunitinib. *Anticancer Drugs*, 2010, 21, s. 3 - 11.
- MOUREK, J. *FYZIOLOGIE- Učebnice pro studenty zdravotnických oborů*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2005. s. 115. ISBN 80-247-1190-7.
- NACHTIGAL, P., KOPECKY, M., SOLICHOVA, D. a kol. The changes in the endothelial expression of cell adhesion molecules and iNOS in the vessel wall after the

short-term administration of simvastatin in rabbit model of atherosclerosis. *J Pharm Pharmacol*, 2005, 57, s. 197 - 203.

PAPAETIS, G. S., SYRIGOS, K. N. Sunitinib: a multitargeted receptor tyrosine kinase inhibitor in the era of molecular cancer therapies. *BioDrugs*, 2009. 23, s. 377 - 389.

PETRUŽELKA, L. Sunitinib v léčbě karcinomu ledviny. *REMEDIA*, 2007, roč. 17, č. 2, s. 212-214, ISSN 0862-8947.

PINTO, Y. M., PAUL, M., GANTEN, D. Lessons from rat model of hypertension: from Goldblatt to genetic engineering. *Cardiovasc Res*, 1998, 39, s. 82.

PRAVENEK, M., KURTZ, T. W. Recent advances in genetics of the spontaneously hypertensive rat. *Curr Hypertens Rep*, 2010, 12, s. 6.

RINI, B. I., COHEN, D.P., LU ,D. R.a kol. Hypertension as a biomarker of efficiency in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with sunitinib. *J Natl Cancer Inst*, 2011, 103, s. 763 a 770.

ROCK, E. P., GOODMAN, V., JIANG, J. X. a kol. Food and Drug Administration drug approval summary: Sunitinib malate for the treatment of gastrointestinal stromal tumor and advanced renal cell carcinoma. *The Oncologist*, 2007, 12, s. 108.

ROVENSKÝ, J. a kol. *Revmatologický výkladový slovník*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2006. s. 96. ISBN 978-80-247-1614-5.

RUDOLF, K., MACEK, K. Arteriální hypertenze in VLČEK, J., FIALOVÁ, D. a kol. *Klinická farmacie I*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2010. s. 73 - 90. ISBN 978-80-247-3169-8.

SILBERNAGL, S., LANG, F. *Atlas patofyziologie člověka*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2001. s. 236. ISBN 80-7169-968-3.

SOUČEK, M. Aktuální pohled na léčbu hypertenze. *Farmakoterapie*, 2010, roč. 6, č. 4, s. 415 - 416, ISSN 1801-1209.

SOUČEK, M., KÁRA, T. a kol. *Klinická patofyziologie hypertenze*. 1.vyd. Praha: Grada Publishing, 2002. s. 30, 32, 190, 191 a 605. ISBN 80-247-0227-4.

SOVOVÁ, E., HRČKOVÁ, Y. MAREČKOVÁ, J. a kol. *Hypertenze pro praxi-pro lékaře, studenty, sestry, pacienty*. 1. vyd. Olomouc:Univerzita Palackého v Olomouci, 2008. s. 43, 97 - 99. ISBN 978-80-244-1968-8.

SZMIT, S., LANGIEWICZ, P., ZLNIEREK, J. a kol. Hypertension as a predictive factor for survival outcomes in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with sunitinib after progression on cytokines. *Kidney Blood Press Res*, 2012, 35, s. 18 - 25.

- ŠPIČÁK, J. *Akutní pankreatitida*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2005. s. 81. ISBN 80-247-0942-2.
- ŠTEJFA, M. a kol. *Kardiologie*. 3. vyd. Praha: Grada Publishing, 2007. s. 280, 551. ISBN 978-80-247-1385-4.
- ŠTOCHLOVÁ, J., CÍFKOVÁ, R. *Vysoký krevní tlak-dieta a rady lékaře*. 1.vyd.Praha: Triton, 2007. s. 15. ISBN 978-80-7254-633-6.
- TEROL, M. J., TORMO, M., MARTINEZ-CLIMENT, J. A. a kol. Soluble intercellular adhesion molecule-1 (s ICAM-1/ s-CD54) in diffuse large B-cell lymphoma: association with clinical characteristics and outcome. *Ann Oncol*, 2003, 14, s. 468.
- TESAŘ, V., SHÜCK, O. a kol. *Klinická nefrologie*. 1.vyd. Praha: Grada Publishing, 2006. s. 493. ISBN 80-247-0503-6.
- THOMSON, A. W., SATOH, S., NÜSSLER, A. K. a kol. Circulating intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in autoimmune liver disease and evidence for the production of ICAM-1 by cytokine -stimulated human hepatocytes. *Clin Exp Immunol*, 1994, 95, s. 83 - 90.
- TONG, S., NEBOORI, H. J., TRAN, E. D. a kol. Constitutive expression and enzymatic cleavage of ICAM-1 in the spontaneously hypertensive rat. *J Vasc Res*, 2011, 48, s. 387.
- TROJAN, S. a kol. *Lékařská fyziologie*. 4. vyd. Praha: Grada Publishing, 2003. s. 151 a 159. ISBN80-247-0512-5.
- VAKLAVAS, C., LENIHAN, D., KURZROCK, R. a kol. Anti-vascular endothelial growth factor therapies and cardiovascular toxicity: what are the important clinical markers to target? *The Oncologist*, 2010, 15, s. 135 a 137.
- VOKURKA, M., HUGO, J a kol. *Velký lékařský slovník* . 8.vyd.Praha: Maxdorf, 2009. 1144 s. ISBN 978-80-7345-166-0.
- WAGNER, R. *Kardioanestezie a perioperační péče v kardiochirurgii*. 1.vyd. Praha: Grada Publishing, 2009. s. 104. ISBN 978-80-247-1920-7.
- WANG, Y., ADAIR, C. D., WEEKS, J. W. a kol. Increased neutrophil-endothelial adhesion induced by placental factors is mediated by platelet-activating factor in preeclampsia. *J Soc Gynecol Investig*, 1999, 6, s. 136 - 141.
- WIDIMSKÝ, J. a kol. *Hypertenze*. 2.vyd. Praha: Triton, 2004. s. 23, 24, 37, 89, 94 - 103. ISBN 80-7254-515-9.
- WILCZYNSKI, J. R., BANASIK, M., GLOWACKA, E. a kol. Expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) on the surface of peripheral blood

lymphocytes of pregnant women with pregnancy-induced hypertension. *Ginekol Pol*, 2002, 73, s. 494 - 500.

ZHU, X., STERGIOPOULOS, K., WU, S. Risk of hypertension and renal dysfunction with an angiogenesis inhibitor sunitinib: systematic review and meta-analysis. *Acta Oncol*, 2009, 48, s. 12 a 15.