

Univerzita Karlova v Praze

Lékařská fakulta v Plzni



MUDr. Jitka Seidlerová

**Interaktivní vliv genetických vlivů a vlivů vnějšího prostředí na vlastnosti velkých tepen  
v souvislosti se sodným hospodařením**

Autoreferát dizertační práce

Vědní obor: Vnitřní nemoci

Plzeň, 2009

Dizertační práce byla vypracována v rámci spolupráce mezi Univerzitou Karlovou v Praze a Katolickou univerzitou v Lovani. Studium v doktorském studijním programu vnitřní nemoci na II. Interní klinice, LFUK a FN v Plzni.

Uchazečka: MUDr. Jitka Seidlerová  
II. Interní klinika, LFUK a FN v Plzni, Dr. E. Beneše 13, Plzeň 305 99

Školitelé: Prof. MUDr. Jan Filipovský, CSc.  
II. Interní klinika, LFUK a FN v Plzni, Dr. E. Beneše 13, Plzeň 305 99

Jan A. Staessen, MD, PhD, FESC, FAHA  
Laboratory of Hypertension, University of Leuven, Brusselsestraat 69, B-3000  
Leuven, Belgie

Prof Robert Fagard, MD  
Department of Cardiovascular Diseases, University of Leuven, Herestraat 49,  
B-3000 Leuven, Belgie

Oponenti: Prof. MUDr. Jiří Widimský, CSc., jr.  
III. Interní klinika 1.LF UK a VFN, U nemocnice 1, Praha 128 08

Prof. Patrick Segers  
Faculty of Engineering Science, De Pintelaan 185, Blok B, B-9000 Gent,  
Belgie

Prof. Paul Herijgers, MD, PhD.  
Department of Cardiac Surgery, University Hospital Leuven, Herestraat 49, B-  
3000, Belgie

Autoreferát byl rozeslán dne: .....

Obhajoba dizertační práce před komisí pro obhajobu disertačních prací v oboru vnitřní nemoci se koná dne:.....

Místo obhajoby:.....

S disertační prací je možno se seznámit na děkanátu Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni, Husova 3, Plzeň.

Prof. MUDr. Ondřej Topolčan, CSc.  
Předseda komise pro obhajobu disertačních prací v oboru vnitřní nemoci.

## Obsah

1	Úvod.....	4
1.1	Tepenný systém.....	4
1.2	Elastické vlastnosti tepen .....	4
1.2.1	Rychlost aortální pulzní vlny .....	4
1.2.2	Analýza pulzní vlny .....	4
1.2.3	Tepenná tuhost měřená lokálně.....	5
1.3	Ledvinné hospodaření se sodíkem .....	5
1.4	Kandidátní geny a tepenná tuhost .....	5
1.4.1	Děditelnost .....	5
1.4.2	Kandidátní geny .....	5
1.5	Hlavní cíle doktorské práce.....	6
2	Vlastnosti tepen u normotenzních potomků rodičů s nebo bez arteriální hypertenze.....	6
2.1	Metodika.....	6
2.2	Výsledky.....	7
2.3	Závěr.....	7
3	Děditelnost a genetická a environmentální korelace tepenných vlastností .....	7
3.1	Metodika.....	7
3.2	Výsledky.....	8
3.3	Závěr.....	8
4	Asociace mezi vlastnostmi tepen a ledvinným hospodařením se sodíkem v obecné populaci.....	8
4.1	Metodika.....	8
4.2	Výsledky.....	9
4.3	Závěr.....	9
5	Spojitosť mezi indexy lokální tepenné tuhosti a genetickou variabilitou podjednotek adducinu a renin-angiotensinového systému.....	10
5.1	Vlastnosti tepen v souvislosti s genetickou variabilitou podjednotek adducinu .....	10
5.1.1	Metodika.....	10
5.1.2	Výsledky.....	10
5.1.3	Závěr.....	11
5.2	Vlastnosti tepen v souvislosti s genetickou variabilitou $\alpha$ -podjednotky adducinu a geny pro renin-angiotensinový systém.....	11
5.2.1	Metodika.....	11
5.2.2	Výsledky.....	11
5.2.3	Závěr.....	12
6	Obecná diskuze .....	12
6.1	Statistická analýza .....	12
6.2	Rodinná agregace .....	12
6.3	Asociace tepenných vlastností s ledvinnými fenotypy .....	13
6.4	Genetická analýza .....	14
6.4.1	Vlastnosti velkých tepen ve spojitosti s geny pro podjednotky adducinu.....	14
6.4.2	Vlastnosti velkých tepen ve spojitosti s geny pro $\alpha$ -adducin podjednotku a systém renin-angiotensin.....	14
6.5	Závěr.....	15
7	Literatura .....	16
8	Publikační činnost .....	19

# 1 Úvod

Tato doktorská práce se zabývá vzájemným vlivem genetických faktorů a vnějšího prostředí na vlastnosti tepen. V souladu s Guytonovou prací jsme předpokládali, že vlastnosti tepen mohou záviset na ledvinném hospodaření se sodíkem. To samo je ovlivněno příjmem soli (vliv vnějšího prostředí) a variantami v mnoha genech. Tato doktorská práce je součástí European Project on Genes in Hypertension (EPOGH).

## 1.1 Tepenný systém

Velké elastické tepny mají především pružnickovou funkci. Během systoly funguje zdravá aorta a její větve jako roztažený rezervoár –tato vlastnost zabraňuje příliš strmému vzestupu systolického tlaku v centrálním řečišti. V diastole je krev vypuzována z centrálního řečiště – tím udržují tepny pružnickového typu kontinuální proud krve a zmenšují kolísání perfúze tkání. Funkce muskulárních tepen je dovést krev z centrálního řečiště do periferie s minimálním poklesem středního arteriálního tlaku. Hladká cévní svalovina může aktivně měnit průměr muskulárních tepen, a tak přizpůsobovat krevní průtok potřebě zásobované oblasti.

## 1.2 Elastické vlastnosti tepen

Tepenná tuhost je dobře rozpoznáný rizikový faktor kardiovaskulárních onemocnění [1]. Tepennou tuhost lze měřit více způsoby, několik z nich jsme použili v této doktorské práci. Snížení tepenné distenzibility znamená tužší tepny [2]. Rychlost aortální pulzní vlny (aortic pulse wave velocity), index tepenné tuhosti, se zdvojnásobuje mezi 15 a 70 lety věku [3]. Pulzní vlna se skládá z dopředné komponenty vyvolané srdečním stahem a odražené vlny, jež se vrací z periferie zpět k srdci [3]. U mladých zdravých jedinců, se odražená vlna vrací v průběhu diastoly, zvyšuje diastolický tlak a zlepšuje koronární perfúzi. Se zvyšováním tepenné rigidity (stárnutí, arteriální hypertenze) se odražená vlna pohybuje rychleji a dostává se k srdci během systoly a tím zvyšuje systolický krevní tlak, zatímco diastolický tlak se snižuje [3]. Snížený diastolický tlak může zhoršit průtok krve koronárními tepnami a vést k ischemizaci myokardu. Zvýšený systolický tlak zvyšuje srdeční práci a může vést k srdečnímu selhání a arytmiím [4].

### 1.2.1 Rychlost aortální pulzní vlny

Rychlost aortální pulzní vlny (PWV) je zlatým standardem pro měření tepenné tuhosti [1]. V naší práci jsme měřili PWV pomocí přístroje SphygmoCor. Pomocí aplanačního tonometru jsme za současné registrace EKG měřili pulzní vlnu na společné karotidě a na femorální tepně. PWV je určena pomocí časového posunu pulzní vlny mezi dvěma místy při známé vzdálenosti těchto míst. Čím rychleji se tlaková vlna šíří, tím rigidnější je cévní stěna.

### 1.2.2 Analýza pulzní vlny

Jak popsáno dříve, pulzní vlna je směsicí dopředné a odražené vlny [2]. Změna tvaru pulzní vlny, daná účinkem vyšší rychlosti pulzní vlny a změnou intenzity a načasování odrazu, může být kvantifikována pomocí tzv. augmentačním indexem (AIx). AIx je definovaný jako rozdíl mezi sekundárním a primárním systolickým vrcholem registrované pulzní vlny [1]. Pomocí přístroje SphygmoCor jsme registrovali pulzní vlnu na a. radialis a pomocí přenosové funkce získali parametry pulzní vlny v centrálním řečišti [5].

### 1.2.3 Tepenná tuhost měřená lokálně

V naší práci jsme dále měřili lokální parametry tepenné tuhosti na karotické, brachiální a femorální tepně pomocí wall-tracking sonografického přístroje (Wall Track System). Měřenými parametry byl průměr tepny, její poddajnost (compliance) a distenzibilita (roztažnost). Poddajnost je definovaná jako změna objemu daného cévního oddílu ( $V$ ) při změně tlaku ( $P$ ), tj.  $C = \Delta V / \Delta P$ . Za předpokladu, že daná céva má konstantní délku, lze objem nahradit průměrem ( $D$ ), tedy  $C = \Delta D / \Delta P$ . Distenzibilita je relativní změna objemu vztážená na změnu tlaku a odráží zatížení tepenné stěny vyvolané tlakovou vlnou. Vztah mezi poddajností ( $CC$ ) a distenzibilitou ( $DC$ ) a tepenným objemem ( $V$ ) je vyjádřen rovnicí:  $CC = DC \times V$ .

### 1.3 Ledvinné hospodaření se sodíkem

Ledviny hrají klíčovou roli v rozvoji hypertenze. Krevní tlak se zvyšuje za situace, kdy ledviny potřebují vyšší než obvyklý krevní tlak k udržení extracelulárního objemu v normálních mezích. Měření clearance endogenního lithia je způsob, jak kvantifikovat sodné hospodaření v nefronu [6]. Ionty lithia jsou volně filtrovány v ledvinném glomerulu a vstřebávány společně se sodíkem a vodou v proximálním ale ne v distálním tubulu. Pokud vyjádříme clearance lithia jako frakční exkrece získáme parametr, který započítává různou intenzitu glomerulární filtrace. Frakční exkrece lithia ( $FE_{Li}$ ) a frakční distální reabsorpce sodíku ( $RNA_{dist}$ ) jsou neinvazivní parametry reabsorpce sodíku v proximálním tubulu a části sodíku, který unikl reabsorpci v proximálním tubulu a je později vstřebán v distální části nefronu [6].

### 1.4 Kandidátní geny a tepenná tuhost

#### 1.4.1 Děditelnost

Před započítáním asociačních genetických studií je třeba ověřit, zda jsou sledované vlastnosti děditelné. Mnoho autorů před námi potvrdilo významnou děditelnost parametrů tepenné tuhosti, která v závislosti na struktuře rodin a míry adjustace nabývá hodnot mezi 0,36 až 0,40 pro PWV [7,8], a mezi 0,18 až 0,37 pro AIX [9,10].

#### 1.4.2 Kandidátní geny

Tato doktorská práce navazuje na předchozí zjištění projektu EPOGH. Jako kandidátní geny byly zvoleny ty geny, u nichž známe funkcionalitu nebo patofyziologickou významnost.

##### 1.4.2.1 Adducin

Adducin je cytoskeletonový protein vyskytující se prakticky ve všech typech buněk a skládá se buď z  $\alpha$ - a  $\beta$ - nebo  $\alpha$ - a  $\gamma$ - podjednotek [11]. Adducin ovlivňuje interakci mezi aktinem a spektrinem a expozici integrinů a adhezních molekul na povrchu buněk [12]. Mutace genu pro  $\alpha$ -adducin (*ADD1*) je spojena se zvýšenou aktivitou sodíko-draslíkové pumpy [12] a zvýšenou reabsorpcí sodíku v ledvinách [11]. Změna aktivity sodíko-draslíkové pumpy a následně intracelulární koncentrace  $Na^+$  může ovlivňovat na sodíku-závislý transmembranózní přenos  $Ca^{2+}$  v buňkách cévní hladké svaloviny a tímto mechanismem modulovat tonus tepen [2].

##### 1.4.2.2 Angiotensinogen –variace v promotorové oblasti genu

Odštěpení 23 aminokyselin z prekurzoru angiotensinogenu reninem je klíčový krok v kaskádě enzymatických procesů vedoucí ke vzniku angiotensinu II, který vazbou na angiotensinový receptor typu 1 ( $AT_1$ ) způsobuje vazokonstrikci a vaskulární hypertrofii. Jako následek existuje pozitivní vztah mezi plazmatickou hladinou AGT a Ang II. Polymorfismus *AGT*

*G-6A* je spojen s lehce vyšší transkripcí *AGT*, což může vysvětlit vyšší plazmatickou hladinu *AGT* u jedinců nesoucí *-6A* alelu [13]. Studie zahrnující francouzské rodiny a zdravé jedince zároveň demonstrovaly vyšší plazmatickou hladinu *AGT* u jedinců nesoucí *AGT -532T* alelu [14,15].

### 1.4.2.3 Receptor typu 1 pro angiotensin II

Jeden z nejvíce studovaných polymorfismů genu pro  $AT_1$  receptor (*AT1R*) je *A1166C*. Dle našich znalostí se pouze jedna práce zabývala efektem tohoto polymorfismu na tepennou tuhost [16]. V průřezové práci u 201 hypertoniků bez známek kardiovaskulárních komplikací a 201 věkově-odpovídajících zdravých kontrol byla aPWV významně vyšší u jedinců nesoucích *A1166C* alelu než u *AT1R AA* homozygotů [16].

## 1.5 Hlavní cíle doktorské práce

Na základě výše uvedených důkazů z experimentálních a klinických studií jsme si kladli za úkol zodpovědět otázku, do jaké míry jsou vlastnosti velkých tepen spojeny s ledvinným sodným hospodařením a variantami v genech kódující RAAS a adducin.

V **Kapitole 2** jsme studovali rozdíl mezi indexy tepenné tuhosti u potomků s normotenzními nebo hypertenzními rodiči.

V **Kapitole 3** jsme stanovili děditelnost a genetickou a environmentální korelaci indexů tepenné tuhosti.

V **Kapitole 4** jsme se soustředili na vztah mezi ledvinným sodným hospodařením a vlastnostmi tepen.

**Kapitola 5** je věnovaná vztahům mezi indexy lokální tepenné tuhosti a genetickými variantami a skládá se ze 2 částí:

- **Část 1** se věnuje vztahům mezi tepennými vlastnostmi a *ADD1 (Gly460Trp)*, *ADD2 (C1797T)* a *ADD3 (A386G)*.
- **Část 2** zahrnuje *ADD1 (Gly460Trp)* a několik kandidátních genů systému RAAS jako je *AGT (G-6A, C-532A)* a *AT1R (A1166C)*.

## 2 Vlastnosti tepen u normotenzních potomků rodičů s nebo bez arteriální hypertenze

### 2.1 Metodika

Studijní populace se skládala z náhodně vybraných rodin z polského Krakova ( $n=299$ ) a Plzně ( $n=183$ ). Osmdesát jedinců bylo vyloučeno z analýzy, protože naměřená pulzní vlna nedosahovala dostatečné kvality nebo se jednalo o hypertenzní potomky nebo chyběla informace u krevním tlaku u rodičů. Analyzováno bylo tedy 402 jedinců, z nichž bylo 233 potomků.

Krevní tlak byl průměr z pěti po sobě jdoucích hodnot naměřených na návštěvě v domovech účastníků studie. Účastníci studie dále podstoupili 24-hodinovou monitoraci krevního tlaku. Všichni jedinci vyplnili standardizovaný dotazník sledující osobní anamnézu, údaje o kouření a příjmu alkoholu a užívaných lécích.

Vlastnosti tepen jsme měřili pomocí přístroje SphygmoCor a sledované parametry byly: aortální PWV, periferní a centrální AIX a centrální pulzní tlak. Dále jsme stanovili lačnou glykémii a lipidogram.

Pro statistickou analýzu jsme použili program SAS. Průměry a proporce jsme porovnávali pomocí *t*-testu a  $\chi^2$ -statistiky. Po možných důležitých proměnných jsme pátrali pomocí stepwise regrese. Použili jsme regresní postup PROC MIXED softwaru SAS, který umožňuje

nejenom adjustovat pro významné faktory, ale také pro ne-nezávislost sledovaných parametrů v rámci rodin.

## 2.2 Výsledky

Studie zahrnovala 59 potomků s normotenzními rodiči a 174 potomků, kteří měli alespoň jednoho rodiče hypertonika. Děti hypertenzních rodičů byli o 2,5 roku starší a měly vyšší BMI o 1,5 kg/m<sup>2</sup> oproti potomkům normotenzních rodičů. Hodnoty lipidů a glykémie, stejně jako návyky – kouření a příjem alkoholu se nelišily v obou skupinách.

Děti hypertenzních rodičů v porovnání s dětmi normotenzních rodičů měly vyšší ( $0,14 < P < 0,0007$ ) konvenční krevní tlak a pulzní tlak měřený konvenčně (121/75 vs. 114/71 mm Hg a 46 vs. 42 mm Hg) stejně jako tlak při 24-hodinové monitoraci (118/70 vs. 114/67 mm Hg a 48 vs. 47 mm Hg). Děti hypertenzních rodičů měly také vyšší ( $0,05 < P < 0,0008$ ) hodnoty centrálního pulzního tlaku (28 vs. 26 mm Hg), periferní AIX (54,7 vs. 44,9 %), centrální AIX (108,8 vs. 99,8%) a aortální PWV (7,4 vs. 6,6 m/s). Po komplexní adjustaci, včetně kontroly na střední arteriální tlak a věk, ovšem tyto rozdíly mezi potomky hypertenzních a normotenzních rodičů vymizely jak pro periferní a centrální AIX tak pro aortální PWV.

## 2.3 Závěr

Závěrem lze říci, že normotenzní děti hypertenzních rodičů mají oproti normotenzním dětem rodičů s hypertenzí zhoršené elastické vlastnosti tepen. Výsledky této průřezové studie napovídají, že alterace tepenných funkcí u osob s rodinou historií hypertenze jsou determinovány především zvýšeným krevním tlakem a věkem-danými hemodynamickými změnami.

# 3 Děditelnost a genetická a environmentální korelace tepenných vlastností

## 3.1 Metodika

Studijní populace se skládala z náhodně vybraných rodin projektu EPOGH, kteří podstoupili měření tepen. Po vyloučení 31 jedinců, jejichž tepenné měření nedosahovalo potřebných kvalit jsme do analýzy zahrnuli 201 jedinců z polského Krakova, 115 osob z belgického Hechtel-Ekselu a 178 osob z Plzně. Všichni jedinci vyplnili standardizovaný dotazník sledující osobní anamnézu, údaje o kouření a příjmu alkoholu a užívaných lécích.

Krevní tlak byl průměr z pěti po sobě jdoucích hodnot naměřených na návštěvě v domovech participantů studie. Vlastnosti tepen jsme měřili pomocí přístroje SphygmoCor a sledované parametry byly: aPWV, periferní a centrální AIX a pulzní tlak.

Pro statistickou analýzu jsme použili program SAS. Průměry a proporce jsme porovnávali pomocí Tukey *t*-testu a  $\chi^2$ -statistiky. Pro analýzu děditelnosti a familiární agregace jsme použili centrum-specifické standardizované distribuce. Po možných důležitých proměnných jsme pátrali pomocí stepwise regrese.

### ➤ Děditelnost

Pro analýzu děditelnosti jsme použili maximum likelihood postup v programu ASSOC statistického softwaru S.A.G.E. Děditelnost ( $h^2$ ) je charakterizován jako poměr polygenetické komponenty vůči celkové fenotypické varianci [17].

### ➤ Genetická a environmentální korelace

Genetické a environmentální korelace jsme stanovili po komplexní adjustaci na významné proměnné. Celková variance sledovaného parametru ( $V$ ) je dána součtem aditivní polygenetické komponenty ( $A$ ) a environmentální komponenty  $E$ . Fenotypická korelace ( $\rho_F$ )

mezi dvěma sledovanými parametry se skládá z obou – genetické ( $\rho_G$ ) a environmentální ( $\rho_E$ ) komponenty dle této rovnice:  $\rho_P = \rho_G \sqrt{h_1^2} \sqrt{h_2^2} + \rho_E \sqrt{(1-h_1^2)} \sqrt{(1-h_2^2)}$ . Statisticky významné hodnoty  $\rho_G$  a  $\rho_E$  svědčí pro vliv sdílených genetických faktorů a faktorů vnějšího prostředí [17].

#### ➤ **Intrafamiliální agregace**

Mezi členy jednotlivých rodin jsme počítali korelační koeficienty jako měřítko shody (pozitivní korelace) a neshody (negativní korelace). Použili jsme regresní postup PROC GENMOD softwaru SAS, který umožňuje nejenom adjustovat pro významné faktory, ale také pro ne-nezávislost sledovaných parametrů v rámci rodin.

### **3.2 Výsledky**

Průměrný věk rodičů a potomků ( $\pm$ SD) byl 51,7 $\pm$ 6,5 let a 29,4 $\pm$ 10,8 let. V porovnání s dětmi, byli rodiče více obézní, měli vyšší krevní tlak, zvýšené indexy tepenné tuhosti a častěji byli léčeni antihypertenzivy. Nalezli jsme významnou děditelnost ( $P \leq 0,0001$ ) pro střední arteriální tlak ( $h^2=0,39$ ), periferní pulzní tlak ( $h^2=0,37$ ), a periferní a centrální AIX ( $h^2=0,39$  a 0,41). Děditelnost aortální PWV byla 0,19 ( $P=0,08$ ). Genetické korelace mezi aortální PWV a dalšími tepennými indexy byly významné ( $\rho_G \geq 0,29$ ;  $P < 0,0001$ ). Korespondující environmentální korelace byly významné pro periferní pulzní tlak ( $\rho_E \geq 0,10$ ;  $P=0,03$ ). Intrafamiliární korelace u párů rodič-potomek byly pozitivní a statisticky významné pro všechny tepenné indexy ( $r \geq 0,12$ ;  $P \leq 0,02$ ). Korelace mezi sourozenci byly navíc významné pro centrální AIX ( $r=0,22$ ;  $P=0,001$ ).

### **3.3 Závěr**

Naše práce ukázala významnou děditelnost různých indexů tepenné tuhosti, jako je pulzní tlak, centrální a periferní augmentační index a aortální rychlost pulzní vlny. Potvrdili jsme vliv genetických faktorů na tyto indexy pomocí významné rodinné korelace u párů rodič-potomek a absencí významné pozitivní environmentální komponenty mezi většinou těchto tepenných fenotypů. Jako první jsme ukázali mírnou, avšak statisticky významnou, genetickou korelaci mezi několika indexy tepenné tuhosti, což výrazně podporuje tvrzení, že společně sdílené geny musí ovlivňovat tyto parametry.

## **4 Asociace mezi vlastnostmi tepen a ledvinným hospodařením se sodíkem v obecné populaci**

### **4.1 Metodika**

Studijní populace se skládala z náhodně vybraných rodin ze severní Belgie. Ze 1306 jedinců, kteří se zúčastnili měření tepen, jsme z analýzy vyloučili 237 osob, protože kvalita jejich měření tepen nedosahovala dostatečné kvality nebo chybělo měření clearance endogenního lithia nebo jeho koncentrace byla příliš vysoká. Z analýzy byli také vyloučeni všichni jedinci užívající antihypertenzní léčbu.

Účastníci studie vyplnili standardizovaný dotazník týkající se jejich návyků – kouření a příjem alkoholu a užívané léčby. Na klinice jsme změřili antropometrické údaje, jako je výška a váha a pětkrát po sobě změřili krevní tlak. Hodnoty krevního tlaku užití v analýze nebo v popisu populace byly průměry z těchto pěti měření.

Parametry lokální tepenné tuhosti byly měřeny pomocí ultrazvuku (Wall Track System) na společné krkavici, brachiální a femorální tepně. Poddajnost (CC) a distenzibilitu (DC) jsme stanovili z průřezu tepny v diastole (A), systolického zvětšení tepenného průřezu ( $\Delta A$ ) a lokálního pulzního tlaku (PP):  $CC = \Delta A / PP$  a  $DC = (\Delta A / A) / PP$ .



Hospodaření se sodíkem v ledvinách jsme stanovili pomocí clearance endogenního lithia. Koncentrace kreatininu v séru a v moči jsme měřili automatizovanou enzymatickou metodou. Lithium jsme měřili pomocí elektrotermální atomické absorpční spektrofotometrie [6]. Clearance byla počítána pomocí klasické rovnice  $C_x = U_x \times V/P_x$ , kde  $U_x$  a  $P_x$  jsou koncentrace prvku  $x$  v moči a plazmě. Frakční exkreci sodíku ( $FE_{Na}$ ) a lithia ( $FE_{Li}$ ) jsme počítali jako podíl clearance sodíku ( $C_{Na}$ ) a lithia ( $C_{Li}$ ) ke clearance kreatininu. Frakční distální reabsorpce sodíku ( $RNa_{dist}$ ) je daná vzorcem  $[(FE_{Li} - FE_{Na})/FE_{Li} \times 100]$ . Frakční proximální reabsorpce sodíku ( $RNa_{prox}$ ) jsme definovali jako  $100 - FE_{Li}$ .

Pro statistickou analýzu jsme použili program SAS. Průměry a proporce jsme porovnávali pomocí  $z$ -testu pro velké soubory a Fischerovým exaktním testem. Po možných důležitých proměnných jsme pátrali pomocí stepwise regrese. Použili jsme regresní postup PROC MIXED softwaru SAS, který umožňuje nejenom adjustovat pro významné faktory, ale také pro ne-nezávislost sledovaných parametrů v rámci rodin. Zpočátku jsme analyzovaly ženy a muže zvlášť, avšak pokud interakční činitel mezi sledovaným parametrem a pohlavím nebyl statisticky významný ( $P \geq 0,15$ ), sloučili jsme obě skupiny dohromady.  $RNa_{prox}$  a  $RNa_{dist}$  jsme standardizovali k průměrné hodinové exkreci sodíku v celé populaci.

## 4.2 Výsledky

Průměrný věk účastníků studie byl 41,6 let (10,9 – 81,5let). Ženy měly v porovnání s muži nižší ( $P \leq 0,0009$ ) BMI ( $24,3 \pm 4,2$  vs.  $25,4 \pm 3,7$  kg/m<sup>2</sup>), systolický tlak ( $122,1 \pm 14,9$  vs.  $128,0 \pm 13,1$  mm Hg), diastolický tlak ( $76,6 \pm 9,9$  vs.  $81,0 \pm 10,4$  mm Hg), sérovou koncentraci sodíku ( $141,0 \pm 3,3$  vs.  $142,6 \pm 2,4$  mmol/l) a lithia ( $0,17 \pm 0,13$  vs.  $0,19 \pm 0,10$  μmol/l). Ženy měly v porovnání s muži také nižší  $FE_{Na}$  ( $0,92 \pm 0,44$  vs.  $1,00 \pm 0,32$ ;  $P = 0,006$ ), ale vyšší  $RNa_{dist}$  ( $95,0 \pm 3,1$  vs.  $94,6 \pm 3,2$ ;  $P = 0,02$ ).  $RNa_{prox}$  se nelišila mezi ženami a muži ( $79,3 \pm 8,4$  vs.  $79,5 \pm 8,3$ ;  $P = 0,64$ ). Ve všech měřených lokalitách ( $P < 0,0007$ ) měly ženy menší tepenný průměr, lokální pulzní tlak a poddajnost, ovšem distenzibilita jejich tepen byla vyšší.

Po adjustaci na významné proměnné a standardizaci na průměrnou hodinovou exkreci sodíku se u obou pohlaví poddajnost a distenzibilita femorální tepny zvyšovala s vyšší frakční exkrecí sodíku v distálním nefronu. Změny femorální poddajnosti a distenzibility spojené se změnou o 1 směrodatnou odchylku (1-SD)  $RNa_{dist}$  byly  $51,7$  mm<sup>2</sup>/kPa  $\times 10^{-3}$  (95% CI, 23,9–79,5;  $P = 0,0002$ ) a  $0,56 \times 10^{-3}$ /kPa (95%CI, 0,17–0,94;  $P = 0,004$ ). U žen, stejně jako u mužů, vzestup proximální reabsorpce sodíku o 1-SD byl spojen se zmenšením průměru femorální a brachiální tepny o 111,6 μm (95% CI, 38,2–185,1;  $P = 0,003$ ) a 52,5 μm (95% CI, 10,0–94,9;  $P = 0,003$ ). Nenalezly jsme žádnou konzistentní spojitost mezi vlastnostmi elastické karotické tepny a ledvinným sodným hospodařením.

Dále jsme našli negativní asociaci mezi středním arteriálním a diastolickým tlakem s  $RNa_{prox}$ . Vzestup o 1-SD  $RNa_{prox}$  (10%) byl spojen se snížením středním arteriální tlaku o 0,95 mm Hg (CI, 0,42–1,49;  $P = 0,0005$ ) a snížením diastolického tlaku o 1,13 mm Hg (CI, 0,59–1,66;  $P = 0,0009$ ).

## 4.3 Závěr

Objevem této studie byl nález statisticky významné asociace mezi tepennými vlastnostmi a ledvinným sodným hospodařením. Vyšší reabsorpce sodíku v distálním nefronu byla spojena s vyšší elasticitou femorální tepny a vyšší reabsorpce sodíku v proximálním nefronu byla spojena s menším průměrem femorální a brachiální tepny. Tyto výsledky ukazují na možný vliv ledvinného sodného hospodaření na vlastnosti tepen nebo obráceně, anebo že společné fyziologické mechanismy mohou ovlivňovat jak tepenné tak ledvinné funkce.

## 5 Spojitost mezi indexy lokální tepenné tuhosti a genetickou variabilitou podjednotek adducinu a renin-angiotensinového systému

### 5.1 Vlastnosti tepen v souvislosti s genetickou variabilitou podjednotek adducinu

#### 5.1.1 Metodika

Studijní populace se skládala stejně jako v kapitole 4 z náhodně vybraných rodin ze severní Belgie. Ze 1306 jedinců, kteří se zúčastnili měření tepen, jsme z analýzy vyloučili 180 osob, protože kvalita jejich měření tepen nedosahovala dostatečné kvality, nebo chyběl jejich genotyp, či jsme prokázali nesrovnalost v Mendeliánské segregaci.

Účastníci studie podstoupili stejný protokol jako v Kapitole 4 (dotazník, antropometrické údaje, měření krevního tlaku, vyšetření tepen ultrazvukem).

Genotypy byly extrahovány z leukocytů. Pro stanovení genotypů jsme použili přístroj ABI Prism 7700 Sequence Detection System. Podrobná metodika, včetně popisu primerů a podmínek PCR byla popsána dříve [18-20].

Pro statistickou analýzu jsme použili program SAS. Průměry a proporce jsme porovnávali pomocí *z*-testu pro velké soubory a Fischerovým exaktním testem. Po možných důležitých proměnných jsme pátrali pomocí stepwise regrese. Použili jsme jak population- tak family-based analýzu. V prvním případě, jsme aplikovali regresní postup PROC MIXED softwaru SAS pro testování asociace mezi fenotypy a SNPs. Tento program umožňuje nejenom adjustovat pro významné faktory, ale také pro ne-nezávislost sledovaných parametrů v rámci rodin. Family-based analýzou jsme zjišťovali within- a between-family komponentu fenotypické variability pomocí ortogonálního modelu, který navrhl Abecasis [21]. Tento postup umožňuje testovat vliv populační stratifikace a vyloučit tak nepravou asociaci mezi genotypem a fenotypem.

#### 5.1.2 Výsledky

Studijní populace zahrnovala 187 zakladatelů rodin a 273 nepříbuzných jedinců a 696 potomků. Jedinci ve skupině zakladatelů rodin byly starší ( $P \leq 0,0082$ ) oproti potomkům ( $51,5 \pm 12,4$  vs.  $39,0 \pm 15,1$  let), měli vyšší BMI ( $25,5 \pm 3,6$  vs.  $24,7 \pm 4,2$  kg/m<sup>2</sup>), systolický a diastolický krevní tlak ( $130,5/81,8$  vs.  $124,3/77,3$  mm Hg) a častěji užívali antihypertenzní léčbu ( $16,5$  vs.  $10,9$  %).

#### Frekvence genotypů:

Gen	Polymorfismus	Genotyp		
<i>ADD1</i>	<i>Gly460Trp</i>	<i>GlyGly</i>	<i>GlyTrp</i>	<i>TrpTrp</i>
		666 (59,2)	390 (34,6)	70 (6,2)
<i>ADD2</i>	<i>C1797T</i>	<i>CC</i>	<i>CT</i>	<i>TT</i>
		888 (78,9)	224 (19,9)	14 (1,2)
<i>ADD3</i>	<i>A386G</i>	<i>AA</i>	<i>AG</i>	<i>GG</i>
		388 (34,4)	521 (46,3)	217 (19,3)

Hodnoty udávají počet genotypů (%). *ADD1* je gen kódující  $\alpha$ -podjednotku adducinu, *ADD2* kóduje  $\beta$ -podjednotku a *ADD3* kóduje  $\gamma$ -podjednotku adducinu.

Po komplexní adjustaci jsme našli statisticky významnou asociaci mezi *ADD3 A386G* polymorfismem a vlastnostmi brachiální tepny. Průměr brachiální tepny byl o 0,15 mm (95%CI, 0,05– 0,24;  $P=0,0022$ ) širší, zatímco distenzibilita a poddajnost brachiální tepny byly

o  $1,55 \times 10^{-3}/\text{kPa}$  (CI, 0,33–2,77;  $P=0,013$ ) a  $0,017 \text{ mm}^2/\text{kPa}$  (CI, 0,002–0,032;  $P=0,0029$ ) menší u *ADD3 AA* než *ADD3 GG* homozygotů s aditivním efektem G alely. Při analýze více genů, jsme tuto asociaci mezi brachiálním průměrem a distenzibilitou našli pouze u *ADD1 GlyGly* homozygotů. Další asociace mezi *ADD1* nebo *ADD2* polymorfismy a tepennými vlastnostmi ve třech měřených úsecích nebyl významné. Nenalezli jsme důkaz pro populační stratifikaci. U 342 informativních potomků byl přenos mutované *ADD3 G* alely spojen s užším průměrem brachiální tepny ( $-0,12 \pm 0,04 \text{ mm}$ ;  $\chi^2=6,99$ ;  $P=0,0085$ ) a u 209 potomků – homozygotů pro *ADD1 GlyGly* ( $-0,14 \pm 0,06 \text{ mm}$ ;  $\chi^2=5,72$ ;  $P=0,018$ ).

### 5.1.3 Závěr

Vlastnosti muskulární brachiální tepny jsou spojené s *ADD3 A386G* polymorfismem, a to zejména u *ADD1 GlyGly* homozygotů. Nenalezli jsme důkaz pro populační stratifikaci. U dalších studovaných tepen jsme nenalezli významnou spojitost pro geny kódujících podjednotky adducinu.

## 5.2 Vlastnosti tepen v souvislosti s genetickou variabilitou $\alpha$ -podjednotky adducinu a geny pro renin-angiotensiový systém

### 5.2.1 Metodika

Studijní populace, stejně jako způsob měření antropometrických charakteristik, krevního tlaku, vlastností tepen a statistické postupy byly stejné jako v předchozí kapitole. Navíc jsme pomocí softwaru SAS rekonstruovali haplotypy - aplikace PROC ALLELE a PROC HAPLOTYPE. Počet jedinců zahrnutých do této analýzy činil 1064 osob.

### 5.2.2 Výsledky

Studijní populace zahrnovala 152 zakladatelů rodin a 252 nepříbuzných jedinců a 660 potomků. Jedinci ve skupině zakladatelů rodin byly starší ( $P \leq 0,0008$ ) oproti potomkům ( $51,0 \pm 12,4$  vs.  $39,1 \pm 15,2$  let), měli vyšší BMI ( $25,5 \pm 3,6$  vs.  $24,7 \pm 4,2 \text{ kg/m}^2$ ), systolický a diastolický krevní tlak ( $130,2/81,8$  vs.  $124,6/77,5 \text{ mm Hg}$ ) a měli vyšší celkový sérový cholesterol ( $5,65$  vs.  $5,15 \text{ mmol/l}$ ).

#### Frekvence genotypů:

Gen	Polymorfismus	Genotyp		
<i>ADD1</i>	<i>Gly460Trp</i>	<i>GlyGly</i>	<i>GlyTrp</i>	<i>TrpTrp</i>
		636 (59,8)	364 (34,2)	64 (6,0)
<i>AT1R</i>	<i>A1166C</i>	<i>AA</i>	<i>AC</i>	<i>CC</i>
		507 (47,6)	451 (42,4)	106 (10,0)
<i>AGT</i>	<i>C-532T</i>	<i>CC</i>	<i>CT</i>	<i>TT</i>
		855 (80,4)	194 (18,2)	15 (1,4)
<i>AGT</i>	<i>G-6A</i>	<i>GG</i>	<i>GA</i>	<i>AA</i>
		345 (32,4)	513 (48,2)	206 (19,4)

Hodnoty udávají počet genotypů (%). *ADD1* je gen kódující  $\alpha$ -podjednotku adducin, *AT1R* kóduje AT<sub>1</sub> receptor a *AGT* kóduje angiotensinogen.

Frekvence haplotypů promotorové oblasti genu pro angiotensinogen byla 56,3% pro kombinaci *-532C* a *-6G* (*H1-CG*), 33,3% pro kombinaci *-532C* a *-6A* (*H2-CA*) a 10,4% pro kombinaci *-532T* a *-6A* (*H3-TA*).

U jedinců nesoucí *ADD1 Trp* alelu, ale ne u jedinců homozygotních pro *ADD1 GlyGly* ( $P$  hodnota pro interakci  $\leq 0,014$ ), byla poddajnost femorální tepny statisticky významně vyšší ( $0,74 \pm 0,03$  vs.  $0,65 \pm 0,03 \text{ mm}^2/\text{kPa}$ ;  $P=0,020$ ) u jedinců nesoucích *AT1R C* alelu než u *AT1R*

AA homozygotů. Stejný trend jsme našli pro femorální distenzibilitu ( $11,3 \pm 0,4$  vs.  $10,2 \pm 0,0,4 \cdot 10^{-3}/\text{kPa}$ ;  $P=0,055$ ). Tyto asociace byly nezávislé na potenciálně významných proměnných, včetně věku. Family-based analýza tyto výsledky potvrdila. Nenalezli jsme důkaz pro populační stratifikaci. U 115 informativních potomků, nesoucích *ADD1 Trp* alelu, byl přenos mutované *AT1R C* alely spojen s významným zvýšením femorální distenzibility ( $+2,5 \pm 1,1 \times 10^{-3}/\text{kPa}$ ;  $\chi^2=5,39$ ;  $P=0,022$ ) s podobným trendem pro femorální poddajnost ( $+0,12 \pm 0,07 \text{ mm}^2/\text{kPa}$ ;  $\chi^2=2,63$ ;  $P=0,11$ ).

Průměr brachiální tepny ( $4,35 \pm 0,04$  vs.  $4,18 \pm 0,05 \text{ mm}$ ) a plasmatická reninová aktivita ( $0,23$  [95%CI,  $0,18-0,30$ ] vs.  $0,14$  [ $0,12-0,16$ ] ng/ml/h) byly vyšší ( $P \leq 0,0050$ ) u homozygotů pro *AGT CG* haplotyp v porovnání s jedinci nesoucí jiné haplotypy, zatímco opak byl pravdou pro distenzibilitu brachiální tepny ( $12,4 \pm 0,6$  vs.  $14,4 \pm 0,7 \cdot 10^{-3}/\text{kPa}$ ;  $P=0,011$ ). Nenalezli jsme žádnou interakci mezi *AGT* a dalšími studovanými geny v souvislosti s měřenými fenotypy.

### 5.2.3 Závěr

Geny pro  $\alpha$ -adducin a receptor typu 1 pro angiotensin II ovlivňují elastické vlastnosti femorální tepny. Dále jsme našli efekt haplotypů v promotorové oblasti genu pro angiotensinogen na brachiální tepnu. Tato asociace může být vysvětlena změnou cirkulující hladiny angiotensinogenu a angiotensinu II, jak napovídá snížená plasmatická reninová aktivita u homozygotů pro *AGT CG* haplotyp.

## 6 Obecná diskuze

Příjem soli má silný dopad na tuhost tepen. Ledviny hrají klíčovou roli v sodném hospodaření. Tento proces je ovlivňuje jak systém renin-angiotensin-aldosteron, tak cytoskeletární protein adducin. Otázka, zda je ledvinné sodné hospodaření spojeno s vlastnostmi tepen zůstalo až dosud nezodpovězeno. V této doktorské práci jsme zkoumali roli ledvinného sodného hospodaření a genetické variability systémů regulujících sodnou homeostázu na vlastnosti velkých tepen.

### 6.1 Statistická analýza

Asociační studie založené na kandidátních genech jsou jednou z hlavních strategií identifikace genetických faktorů ovlivňujících komplexní fenotypy, jakou jsou vlastnosti velkých tepen. Obvykle jsou prováděny ve skupinách nepříbuzných jedinců, jako jsou case-control nebo kohortní studie. V těchto studiích ovšem nelze vyloučit vliv populační stratifikace [22]. Na druhou stranu existují family-based analýzy rodokmenů navržené tak, aby identifikovaly a vyloučily matoucí efekt populační stratifikace, jež může být přítomna v asociačních studiích založených na nepříbuzných jedincích [22]. Ve vzorku nepříbuzných jedinců jsou do statistické analýzy zahrnuti všichni jedinci. Oproti tomu, ve family-based studiích jsou do analýzy zahrnuti pouze informativní potomci. Family-based analýza je komplementární k populačně-založené studii, protože přináší dodatečnou informaci o nepřítomnosti populační stratifikace (statisticky nevýznamná between-family komponenta) [21,23]. Within-family komponenta určuje míru genetického efektu na fenotyp.

Na základě výše zmíněných důkazů, naše genetické studie zahrnovaly obě metody - asociační studie založené jak na populaci tak na rodině.

### 6.2 Rodinná agregace

Vlastnosti velkých tepen jsou komplexní multigenetické fenotypy, což znamená, že mohou být determinovány variantami v mnoha genech, a interakcemi typu gen-gen a/nebo genotyp-

fenotyp. To že má určitý sledovaný fenotyp vysokou děditelnost podporuje výzkum genetických faktorů tohoto znaku.

V naší první práci jsme ukázali, že rychlost aortální pulzní vlny a odraz pulzní vlny jsou zhoršeny u normotenzních dětí hypertenzních rodičů v porovnání s normotenzními potomky normotenzních rodičů. Tento výsledek naznačuje, že modifikace elastických tepenných vlastností je přítomna již u prehypertenzních jedinců a může přispívat k progresi hypertenze v dalším věku.

V naší druhé studii, jsme zkoumali rodinnou agregaci vlastností velkých tepen. Nalezli jsme statisticky významnou intrafamiliární korelaci u párů rodič-potomek stejně jako statisticky významnou děditelnost pro aortální rychlost pulzní vlny, periferní a centrální augmentační index a pulzní tlak. Námi zjištěná děditelnost se poněkud lišila od dříve publikovaných prací [8-10]. Děditelnost je populačně specifická. Proto typ studované populace (studie dvojčat, malých nebo rozsáhlých rodin), způsob měření tepenných vlastností, jejich reproducibilita nebo míra adjustace hrají významnou roli v odhadu děditelnosti a mohou vysvětlovat rozdíly ve zjištěných hodnotách děditelnosti.

Dále jsme zkoumali efekt sdílených genů a vlivů vnějšího prostředí. Nalezli jsme významnou pozitivní genetickou korelaci mezi rychlostí aortální pulzní vlny a augmentačními indexy a pulzním tlakem, zatímco korespondující environmentální korelace byly pozitivní pouze pro pulzní tlak. Tento výsledek naznačuje, že společné geny ovlivňují tyto hemodynamické vlastnosti. Sdílené vlivy vnějšího prostředí, kromě faktorů životního stylu zahrnutých do analýzy, patrně hrají pouze vedlejší roli v rodinné agregaci těchto fenotypů. Tyto výsledky podporují další výzkum genů působících na tuhost tepen.

### 6.3 Asociace tepenných vlastností s ledvinnými fenotypy

Klíčová role ledvin v patogenezi arteriální hypertenze je velmi dobře známá. Střední arteriální tlak je hnacím motorem tlakové natriurézy a navíc ovlivňuje strukturu a funkci tepen. Systém renin-angiotensin-aldosteron je důležitým faktorem pro ledvinné sodné hospodaření a vlastnosti velkých tepen. Proto jsme v naší práci zkoumali vlastnosti tří velkých tepen v souvislosti s ledvinným sodným hospodařením.

V naší práci jsme prokázali, že elastické vlastnosti femorální tepny se zlepšují s vyšší reabsorpcí sodíku v distálním tubulu, zatímco průměr muskulárních brachiální a femorální tepny se snižoval s vyšší reabsorpcí sodíku v proximálním tubulu.

Naše průřezová studie nemůže objasnit mechanismus této asociace. Možností je, že společný mechanismus působící jak v ledvinných tubulech, tak ve stěně tepen, může ovlivnit jak vlastnosti tepen, tak ledvinné sodné hospodaření, například, genetická variabilita ovlivňující transport iontů přes buněčnou membránu. Naše pracovní skupina ve stejné populaci již dříve prokázala, že mutace cytoskeletonového proteinu  $\alpha$ -adducin (*ADD1 Gly460Trp*) a angiotensin konvertujícího enzymu (*ACE I/D*) společně předpovídá incidenci arteriální hypertenze [18], je spojena s vyšší koncentrací kreatininu v séru [24], vyšší tloušťkou intimy-medie femorální tepny [25] a 24-hodinovou proteinurií [24]. Je tedy možné, že tyto účinky nejsou omezeny jen na buňky ledvinných tubulů, ale mohou být přítomné i v buňkách hladké svaloviny cév. V cévních myocytech může zvýšená aktivita sodíko-draslíkové pumpy snižovat sarkolemální  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  výměnu a modulovat tak kontrakci [2].

Vyšší reabsorpce sodíku v proximálním tubulu byla prokázána u zvířecích modelů hypertenze [26], hyperteniků [27] a normotenzních jedinců s pozitivní rodinnou anamnézou hypertenze [28]. Vasokonstrikce je charakteristickým znakem hypertenze, což je možným vysvětlením negativní asociace mezi průměrem muskulárních tepen a reabsorpce v proximálním tubulu.

## 6.4 Genetická analýza

### 6.4.1 Vlastnosti velkých tepen ve spojitosti s geny pro podjednotky adducinu

Adducin je heterodimer, skládající se buď z podjednotek  $\alpha$ - a  $\beta$ - nebo  $\alpha$ - a  $\gamma$ , což dává fyziologický a biochemický podklad pro studium interakce mezi třemi geny pro adducin, které jsou lokalizovány na různých chromozomech [11]. Naším klíčovým poznatkem bylo, že zatímco průměr brachiální tepny se zmenšoval, tak brachiální distenzibilita vzrůstala s *ADD3 G* alelou, ale pouze u *ADD1 GlyGly* homozygotů. Nenalezli jsme důkaz pro populační stratifikaci. Transmise mutované *G* alely byla spojena s menším průměrem brachiální tepny. Pro femorální nebo karotickou tepnu jsme nenalezli spojitost s geny pro adducin.

Naše průřezová studie dovoluje pouze spekulovat o možném vysvětlení této asociace. Možným vysvětlením je, že tento polymorfismus moduluje neurogenní tonus buněk hladké svaloviny. Předchozí experimentální práce prokázaly zvýšení nervového přenosu po inhibici  $\gamma$ -adducinu dodáním  $\gamma$ -adducin-specifických protilátek [29]. Kromě toho bylo ve zvířecích modelech zvýšení krevního tlaku spojeno se snížením hladiny mRNA a  $\gamma$ -adducin proteinu [29,30]. Jelikož jsme však u dalších dvou studovaných tepen nenalezli spojitost se sledovanými polymorfismy, vysvětlení této asociace leží spíše v mechanismu lokalizovaném v brachiální tepně.

### 6.4.2 Vlastnosti velkých tepen ve spojitosti s geny pro $\alpha$ -adducin podjednotku a systém renin-angiotensin

Tato práce byla pokračováním výzkumu naší skupiny, kde jsem prokázali interakci mezi *ADD1*, *ACE* a genem pro aldosteron-syntázu v souvislosti s femorální tloušťkou intimy-medie [25] a karotickou a femorální distenzibilitou [31]. Zkoumali jsme tedy, zda i jiné geny RAAS mohou interagovat s *ADD1*. Klíčovým výsledkem této práce bylo, že femorální distenzibilita a poddajnost byly vyšší u nositelů *AT1R C* alely než u *AT1R AA* homozygotů, pokud byli zároveň nositelé mutované *ADD1 Trp* alely. Family-based analýza potvrdila tento výsledek populační analýzy.

Tento výsledek se zdá být v rozporu s literaturou [32]. Ve studii zahrnující hypertoniky [32] byla tuhost tepen měřená pomocí rychlosti aortální pulzní vlny vyšší u nositelů *AT1R C* alely. Tato a naše práce bychom ovšem neměli porovnávat. Poddajnost je parametr měřený na malém tepenném segmentu, zatímco aPWV je parametr odrážející vlastnost tepny mezi dvěma místy měření, tedy na karotidě a femorální tepně. Dále, elastická aorta a muskulární femorální tepna mají jiné vlastnosti. Navíc, pozorování zjištěné na populaci hypertoniků by nemělo být extrapolováno do obecné populace. A konečně, námi zjištěná asociace mezi *AT1R C* alelou byla přítomna pouze u nositelů *ADD1 Trp* alely, což svědčí pro genovou interakci.

Dále jsme našli asociaci mezi haplotypy v promotorové oblasti genu pro angiotensinogen a průměr a distenzibilitu brachiální tepny. Protože polymorfismy v tomto haplotypu jsou spojeny s mírně vyšší mírou transkripce *AGT* genu [13], je možné že nositelé haplotypu *H2-CA* nebo *H3-TA* mohou mít vyšší hladinu angiotensinogenu jak v plasmě, tak ve tkáních. Zjištění nižší plazmatické reninové aktivity u *H2-CA* a *H3-TA* nositelů podporuje toto tvrzení. Jedinci se suprimovaným systémem renin-angiotensin a nižším cirkulujícím objemem mohou mít menší průměr brachiální tepny, a tedy vyšší distenzibilitu [33].

Nenalezli jsme spojitost mezi sledovanými geny a vlastnostmi elastické karotické tepny. Elastické tepny mají jiné vlastnosti a funkci než tepny muskulární [34]. Směrem od centrálním k periferním tepnám se obrací poměr kolagen/elastin, převládající složkou cévní stěny se stává hladká svalovina a navíc se mění fenotyp buněk hladké cévní svaloviny [34]. Možným vysvětlením pro rozdílnou expresi genů podél tepenného řečiště může být míra střížného napětí [35].

## 6.5 Závěr

Tuhost tepen, především aortální PWV je nezávislý predikátor kardiovaskulárních morbidit a mortality v obecné populaci [36], stejně jako u pacientů s různými nosologickými jednotkami [37-39]. Rychlost aortální pulzní vlny  $>12\text{m/s}$  je zařazena v Doporučeních Evropské společnosti pro hypertenzi jako faktor ovlivňující kardiovaskulární prognózu [40]. Tyto důkazy mohou být vysvětleny fenoménem nazývaným „ventricular-arterial coupling“ [41]. Přes obrovskou snahu mnoha vědců genetický výzkum dosud nezodpověděl všechny otázky týkající se akcelerovaného zvyšování tepenné rigidity.

Naše práce potvrdila statisticky významnou rodinou agregaci a děditelnost a demonstrovala genetickou korelaci mezi několika indexy tepenné tuhosti. V návaznosti na předchozí práce našeho týmu jsme pokračovali ve výzkumu účinku genů pro adducin a RAAS na vlastnosti tepen. Navíc jsme zaznamenali spojitost mezi vlastnostmi tepen a hospodařením sodíku v ledvinách.

## 7 Literatura

1. Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, Boutouyrie P, Giannattasio C, Hayoz D, *et al.* Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J* 2006;**27**:2588-2605.
2. Staessen JA, Wang J, Bianchi G, Birkenhäger WH. Essential hypertension. *Lancet* 2003;**361**:1629-1641.
3. O'Rourke MF, Staessen JA, Vlachopoulos C, Duprez D, Plante GE. Clinical applications of arterial stiffness; definitions and reference values. *Am J Hypertens* 2002;**15**:426-444.
4. Borlaug BA, Kass DA. Ventricular-vascular interaction in heart failure. *Heart Fail Clin* 2008;**4**:23-36.
5. Chen CH, Nevo E, Fetis B, Pak PH, Yin FC, Maughan WL, *et al.* Estimation of central aortic pressure waveform by mathematical transformation of radial tonometry pressure. Validation of generalized transfer function. *Circulation* 1997;**95**:1827-1836.
6. Burnier M, Rutschmann B, Nussberger J, Versaggi J, Shahinfar S, Waeber B, *et al.* Salt-dependent renal effects of an angiotensin II antagonist in healthy subjects. *Hypertension* 1993;**22**:339-347.
7. Mitchell GF, DeStefano AL, Larson MG, Benjamin EJ, Chen MH, Vasan RS, *et al.* Heritability and a genome-wide linkage scan for arterial stiffness, wave reflection, and mean arterial pressure: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2005;**112**:194-199.
8. Sayed-Tabatabaei FA, van Rijn MJ, Schut AF, Aulchenko YS, Croes EA, Zillikens MC, *et al.* Heritability of the function and structure of the arterial wall: findings of the Erasmus Rucphen Family study. *Stroke* 2005;**36**:2351-2356.
9. Snieder H, Hayward CS, Perks U, Kelly RP, Kelly PJ, Spector TD. Heritability of central systolic pressure augmentation: a twin study. *Hypertension* 2000;**35**:574-579.
10. North KE, MacCluer JW, Devereux RB, Howard BV, Welty TK, Best LG, *et al.* Heritability of carotid artery structure and function: The Strong Heart Family Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;**22**:1698-1703.
11. Bianchi G, Ferrari P, Staessen JA. Adducin polymorphism: detection and impact on hypertension and related disorders. *Hypertension* 2005;**45**:331-340.
12. Tripodi G, Valtorta F, Torielli L, Chierigatti E, Salardi S, Trusolino L, *et al.* Hypertension-associated point mutations in the adducin  $\alpha$  and  $\beta$  subunits affect actin cytoskeleton and ion transport. *J Clin Invest* 1996;**97**:2815-2822.
13. Inoue I, Nakajima T, Williams CS, Quackenbush J, Puryear R, Powers M, *et al.* A nucleotide substitution in the promoter of human angiotensinogen is associated with essential hypertension and affects basal transcription in vitro. *J Clin Invest* 1997;**99**:1786-1797.
14. Paillard F, Chansel D, Brand E, Benetos A, Thomas F, Czekalski S, *et al.* Genotype-phenotype relationships for the renin-angiotensin-aldosterone system in a normal population. *Hypertension* 1999;**34**:423-429.
15. Brand E, Chatelain N, Paillard F, Tiret L, Visvikis S, Lathrop M, *et al.* Detection of putative functional angiotensinogen (AGT) gene variants controlling plasma AGT levels by combined segregation-linkage analysis. *Eur J Hum Genet* 2002;**10**:715-723.
16. Rehman A, Rasool AH, Naing L, Roshan TM, Rahman AR. Influence of the Angiotensin II type I receptor gene 1166A > C polymorphism on BP and aortic pulse wave velocity among Malays. *Ann Hum Genet* 2007;**71**:86-95.



17. Freeman MS, Mansfield MW, Barrett JH, Grant PJ. Insulin resistance: an atherothrombotic syndrome. The Leeds family study. *Thromb Haemost* 2003;**89**:161-168.
18. Staessen JA, Wang JG, Brand E, Barlassina C, Birkenhäger WH, Herrmann SM, *et al.* Effects of three candidate genes on prevalence and incidence of hypertension in a Caucasian population. *J Hypertens* 2001;**19**:1349-1358.
19. Wang JG, Staessen JA, Barlassina C, Fagard R, Kuznetsova T, Struijker-Boudier HA, *et al.* Association between hypertension and variation in the  $\alpha$ - and  $\beta$ -adducin genes in a white population. *Kidney Int* 2002;**62**:2152-2159.
20. Cwynar M, Staessen JA, Tichá M, Nawrot T, Citterio L, Kuznetsova T, *et al.* Epistatic interaction between  $\alpha$ - and  $\gamma$ -adducin influences peripheral and central pulse pressures in white Europeans. *J Hypertens* 2005;**23**:961-969.
21. Abecasis GR, Cardon LR, Cookson WO. A general test of association for quantitative traits in nuclear families. *Am J Hum Genet* 2000;**66**:279-292.
22. Cardon LR, Palmer LJ. Population stratification and spurious allelic association. *Lancet* 2003;**361**:598-604.
23. Spielman RS, McGinnis RE, Ewens WJ. Transmission test for linkage disequilibrium: the insulin gene region and insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). *Am J Hum Genet* 1993;**52**:506-516.
24. Wang JG, Staessen JA, Tizzoni L, Brand E, Birkenhäger WH, Fagard R, *et al.* Renal function in relation to three candidate genes. *Am J Kidney Dis* 2001;**38**:1158-1168.
25. Balkestein EJ, Wang JG, Struijker-Boudier HA, Barlassina C, Bianchi G, Birkenhäger WH, *et al.* Carotid and femoral intima-media thickness in relation to three candidate genes in a Caucasian population. *J Hypertens* 2002;**20**:1551-1561.
26. Biollaz J, Waeber B, Diezi J, Burnier M, Brunner HR. Lithium infusion to study sodium handling in unanesthetized hypertensive rats. *Hypertension* 1986;**8**:117-121.
27. Burnier M, Biollaz J, Magnin JL, Bidlingmeyer M, Brunner HR. Renal sodium handling in patients with untreated hypertension and white coat hypertension. *Hypertension* 1994;**23**:496-502.
28. Skrabal F, Herholz H, Neumayr M, Hamberger L, Ledochowski M, Sporer H, *et al.* Salt sensitivity in humans is linked to enhanced sympathetic responsiveness and to enhanced proximal tubular reabsorption. *Hypertension* 1984;**6**:152-158.
29. Yang H, Francis SC, Sellers K, DeBarros M, Sun C, Summers C, *et al.* Hypertension-linked decrease in the expression of brain  $\gamma$ -adducin. *Circ Res* 2002;**91**:633-639.
30. Yang H, Reaves PY, Katovich MJ, Raizada MK. Decrease in hypothalamic gamma adducin in rat models of hypertension. *Hypertension* 2004;**43**:324-328.
31. Balkestein EJ, Staessen JA, Wang JG, van der Heijden-Spek JJ, Van Bortel LM, Barlassina C, *et al.* Carotid and femoral artery stiffness in relation to three candidate genes in a white population. *Hypertension* 2001;**38**:1190-1197.
32. Benetos A, Topouchian J, Ricard S, Gautier S, Bonnardeaux A, Asmar R, *et al.* Influence of angiotensin II type 1 receptor polymorphism on aortic stiffness in never-treated hypertensive patients. *Hypertension* 1995;**26**:44-47.
33. Resnick LM, Catanzaro D, Sealey JE, Laragh JH. Acute vascular effects of the angiotensin II receptor antagonist olmesartan in normal subjects: relation to the renin-aldosterone system. *Am J Hypertens* 2004;**17**:203-208.
34. Safar ME, Levy BI, Struijker-Boudier H. Current perspectives on arterial stiffness and pulse pressure in hypertension and cardiovascular diseases. *Circulation* 2003;**107**:2864-2869.

35. Reneman RS, Arts T, Hoeks AP. Wall shear stress-an important determinant of endothelial cell function and structure-in the arterial system in vivo. Discrepancies with theory. *J Vasc Res* 2006;**43**:251-269.
36. Willum-Hansen T, Staessen JA, Torp-Pedersen C, Rasmussen S, Thijs L, Ibsen H, *et al.* Prognostic value of aortic pulse wave velocity as index of arterial stiffness in the general population. *Circulation* 2006;**113**:664-670.
37. Boutouyrie P, Tropeano AI, Asmar R, Gautier I, Benetos A, Lacolley P, *et al.* Aortic stiffness is an independent predictor of primary coronary events in hypertensive patients: a longitudinal study. *Hypertension* 2002;**39**:10-15.
38. Blacher J, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, Safar ME, London GM. Impact of aortic stiffness on survival in end-stage renal disease. *Circulation* 1999;**99**:2434-2439.
39. Weber T, Auer J, O'Rourke MF, Kvas E, Lassnig E, Berent R, *et al.* Arterial stiffness, wave reflections, and the risk of coronary artery disease. *Circulation* 2004;**109**:184-189.
40. Mancia G, De BG, Dominiczak A, Cifkova R, Fagard R, Germano G, *et al.* 2007 Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J Hypertens* 2007;**25**:1105-1187.
41. Kass DA. Ventricular arterial stiffening: integrating the pathophysiology. *Hypertension* 2005;**46**:185-193.

## 8 Publikační činnost

### Publikace:

1. **Kučerová J**, Filipovský J: Esenciální hypertenze. *Causa subita* 2004;**6**:228-231.
2. **Kučerová J**, Filipovsky J, Staessen JA, Cwynar M, Wojciechowska W, Stolarz K, et al. Kuznetsova T, Gasowski J, Dolejšova M, Grodzicki T, Kawecka-Jaszcz, Fagard R. Arterial characteristics in normotensive offspring of parents with or without a history of hypertension. *Am J Hypertens* 2006;**19**:264-269.
3. **Seidlerová J**, Staessen JA, Maillard M., Nawrot T, Zhang H, Bochud M, Kuznetsova T, Richard T, Van Bortel LM, Struijker-Boudier HA, Manuta P, Burnier M, Fagard R, Filipovský J. Association between Arterial Properties and Renal Sodium Handling in a General Population. *Hypertension* 2006;**48**:609-615.
4. Wojciechowska W, Staessen JA, Nawrot T, Cwynar M, **Seidlerova J**, Stolarz K, Gasowski J, Ticha M, Richard T, Thijs L, Grodzicki T, Kawecka-Jaszcz K, Filipovsky J: European Project on Genes in Hypertension (EPOGH) Investigators. Reference values in white Europeans for the arterial pulse wave recorded by means of the SphygmoCor device. *Hypertens Res* 2006;**29**:475-483.
5. **Seidlerová J**, Filipovský J. Léčba arteriální hypertenze ve stáří. *Interní Med* 2007;**2**.
6. Thijs , Hansen T, Kikuya M, Bjorklund-Bodegard K, Li Y, Dolan E, Tikhonoff V, **Seidlerová J**, Kuznetsova T, Stolarz K, Bianchi M, Richart T, Casiglia E, Malyutina S, Filipovský J, Kawecka-Jaszcz K, Nikitin Y, Ohkubo T, Sandoya E, Wang J, Torp-Pedersen C, Lind L, Ibsen H, Imai Y, Staessen JA, O'Brien E, on behalf of the IDACO Investigators. The International Database of Ambulatory blood pressure in relation to Cardiovascular Outcome (IDACO): protocol and research perspectives. *Blood Press Monit* 2007;**12**:243-244.
7. Fagard R, Stolarz K, Kuznetsova T, **Seidlerova J**, Tikhonoff V, Grodzicki T, Nikotin Y, Filipovsky J, Peleska J, Casiglia E, Thij L, Staessen JA, Kawecka-Jaszcz K. Sympathetic activity, assessed by power spectral analysis of heart rate variability, in white-coat, masked and sustained hypertension versus true normotension. *Journal of Hypertens* 2007;**25**:2280-2285.
8. Tikhonoff V, Staessen JA, Kuznetsova T, Thijs L, Hasenkamp S, Bäumer V, Stolarz K, **Seidlerová J**, Filipovský J, Nikotin Y, Peleška J, Kawecka-Jaszcz K, Casiglia E, Brand-Herrmann S-F, Brand E, for the European Project on Genes in Hypertension (EPOGH) investigators. SAG gene variants revisited in the European Project on Genes in Hypertension. *Journal of Hypertens* 2008;**26**:244-250.
9. **Seidlerová J**, Bochud M, Staessen JA, Cwynar M, Dolejšová M, Kuznetsova T, Nawrot T, Olszanecka A, Stolarz K, Thijs L, Wojciechowska W, Struijker-Boudier HA, Kawecka-

Jaszcz K, Elston RC, Fagard R, Filipovský J, on behalf of the EPOGH investigators. Heritability and intrafamilial aggregation of arterial characteristics. *J Hypertens* 2008;**26**:721-728.

10. **Seidlerová J**, Staessen JA, Nawrot T, Brand E, Brand-Herrmann S-M, Casamassima N, Citterio L, Hasenkamp S, Kuznetsova T, Li Y, Manunta P, Richart T, Struijker-Boudier HA, Fagard R, Filipovský J. Arterial properties in relation to genetic variations in  $\alpha$ -adducin and the renin-angiotensin-system in a White population. *J Hum Hypertension* 2009;**23**:55-64.
11. **Seidlerová J**, Staessen JA, Bochud M, Nawrot T, Casamassima N, Citterio L, Kuznetsova T, Jin Y, Manunta P, Richart T, Struijker-Boudier HA, Fagard R, Filipovský J., Bianchi G. Arterial properties in relation to genetic variations in the adducin subunits in a White population. *Am J Hypertens* 2009;**22**:21-26.
12. Hirmerová J, Ulčová-Gallová Z, **Seidlerová J**, Filipovský J, Bibková K, Mičanová Z, Mayer O Jr. Laboratory evaluation of antiphospholipid antibodies in patients with venous thromboembolism. *Clin Appl Thromb Hemost* 2009; publikováno online 15. února 2009.

### **Přednášky:**

1. **Kučerová J**, Filipovský J, Tichá M, Roučka P. Krevní tlak a vlastnosti artérií v hypertenzních a kontrolních rodinách. Konference České společnosti pro hypertenzi. Jeseník 2004. Sborník referátů.
2. **Kučerová J**, Staessen JA, Bochud M, Kuznetsova T, Stolarz K, Dolejšová M, et al. Jaká je dědičnost vlastností tepenného řečiště?. Konference České společnosti pro hypertenzi. Český Krumlov 2005. Sborník referátů.
3. **Seidlerová J**, Filipovský J, Staessen JA, Stolarz K, Kuznetsova T, Dolejšová M, et al. Vlastnosti tepen normotenzních potomků rodičů s nebo bez hypertenze. Studentská vědecká konference LFUK v Plzni, 2006. Sborník referátů.
4. **Seidlerová J**, Staessen JA, Richard T, Nawrot T, Bochud M, Kuznetsova T, et al. Souvislosti mezi tepennými vlastnostmi a sodným hospodařením v ledvinách. Konference České společnosti pro hypertenzi. Mariánské Lázně, 2006. Sborník referátů.
5. **Seidlerová J**, Filipovsky J, Staessen JA, Cwynar M, Wojchiechowska W, Stolarz K, et al. Arterial characteristics in normotensive offspring of parents with or without a history of hypertension. The Czech-Belgian symposium. Mariánské Lázně, 2006. Sborník referátů.
6. **Seidlerová J**, Staessen JA, Maillard M., Nawrot T, Zhang H, Bochud M, et al. Association between arterial properties and renal sodium handling in a general population. Scientific meeting European Society of Hypertension. Madrid, Španělsko 2006. Sborník referátů.
7. **Seidlerová J**, Staessen JA, Maillard M., Nawrot T, Zhang H, Bochud M, et al. Association between arterial properties and renal sodium handling in a general population. New frontiers in the research of PhD students. Conference of medical schols, Hradec Králové, 2006. Sborník referátů.
8. **Seidlerová J**, Bochud M, Staessen JA, Cwynar M, Dolejšová M, Kuznetsova T, et al. Heritability and intrafamilial aggregation of arterial characteristics. Artery 7, Praha, 2007. Sborník referátů.
9. **Seidlerová J**. Vliv genetických faktorů a ledvinného hospodářství se sodíkem na vlastnosti velkých tepen. Grant ČSH podporovaný PROMED. Konference České společnosti pro hypertenzi. Mikulov 2007. Sborník referátů.
10. **Seidlerová J**. Vztah mezi metabolismem sodíku v ledvinách a vlastnostmi velkých tepen. Studentská vědecká konference LFUK Plzeň 2008. Sborník referátů.
11. **Seidlerová J**, Staessen JA, Filipovský J, Nawrot T, Kuznetsova T, Bianchi G, et al. Vlastnosti tepen v souvislosti s variací v genech pro podjednotky adducin. Konference České společnosti pro hypertenzi. Český Krumlov 2008. Sborník referátů.

12. **Seidlerová J**, Filipovský J, Mayer O jr., Dolejšová M. Predictors of arterial stiffening in the elderly: results of a nine-year follow-up. Scientific meeting European Society of Hypertension. Milán, Itálie 2009. Sborník referátů.

**Postery:**

1. **Kučerová J**, Filipovský J, Staessen JA, Cwynar M, Wojchiechowska W, Stolarz K, *et al.* Arterial characteristics of normotensive offspring of parents with or without history of hypertension. European meeting on hypertension. Milán, Itálie 2005. Sborník referátů.
2. **Kučerová J**, Bochud M, Staessen JA, Cwynar M, Dolejšová M, Kuznetsova T, *et al.* Intrafamilial aggregation and heritability of arterial characteristics European meeting on hypertension. Milán, Itálie 2005. Sborník referátů.
3. **Kučerová J**, Bochud M, Staessen JA, Cwynar M, Dolejšová M, Kuznetsova T, *et al.* The heritability of arterial properties. Annual meeting of European council for cardiovascular research (ECCR). Nice, Francie 2005. Sborník referátů.
4. **Seidlerová J**, Staessen JA, Maillard M., Nawrot T, Zhang H, Bochud M, *et al.* Association between arterial properties and renal sodium handling. Scientific meeting International society of hypertension. Fukuoka, Japonsko 2006. Sborník referátů.
5. **Seidlerová J**, Staessen JA, Nawrot T, Brand E, Brand-Herrmann S-M, Casamassima N, *et al.* Epigenetic interaction between  $\alpha$ -adducin and renin-angiotensin-system in relation to the elastic properties of the femoral artery. Artery 7, Praha, 2007. Sborník referátů.
6. **Seidlerová J.**, Staessen JA, Nawrot T, Brand E, Brand-Herman S.-M., Casamassima N., *et al.* Arterial properties in relation to genetic variation in  $\alpha$ -adducin and the renin-angiotensin-system in a white population. Scientific meeting European Society of Hypertension + Scientific meeting International Society of Hypertension, Berlín, Německo 2008. Sborník referátů.
7. **Seidlerová J**, Staessen JA, Bochud M, Nawrot T, Casamassima N, Citterio L, *et al.* Arterial properties in relation to genetic variation in the adducin subunits in a white population. Artery 8. Gent Belgie, 2008. Sborník referátů.