

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2013

Vendula Krahulíková



UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Laboratoř růstových regulátorů

Endokrinně podmíněná hypertenze

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor:	Vendula Krahulíková
Studijní program:	B1501 Experimentální biologie
Studijní obor:	Experimentální biologie
Forma studia:	Prezenční
Vedoucí práce:	RNDr. Jiří Lukeš
Termín odevzdání práce:	24.4.2013

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora	Vendula Krahulíková
Název práce	Endokrinně podmíněná hypertenze
Typ práce	Bakalářská
Pracoviště	Fakultní nemocnice v Olomouci, Oddělení klinické biochemie
Vedoucí práce	RNDr. Jiří Lukeš
Rok obhajoby práce	2013
Abstrakt	<p>Bakalářská práce se zabývá problematikou hypertenze se zaměřením na endokrinně podmíněnou hypertenzi. V teoretické části se převážně věnuje klinickému významu osy renin-angiotenzin-aldosteron, jejímu vzniku a hormonům, které se podílejí na její regulaci. V další části se zabývá orgány, související s funkcí osy RAAS a jejími onemocněními.</p> <p>V části praktické se zaměřuje na konkrétní laboratorní metody, které se používají k diagnostice endokrinní hypertenze. Závěr práce je věnován zpracování laboratorních dat pacientů.</p>
Klíčová slova	System renin-angiotensin-aldosteron, renin, endokrinně podmíněná hypertenze, primární hyperaldosteronismus, aldosteron-renin-ratio
Počet stran	50
Počet příloh	0
Jazyk	Český

Bibliographical identification

Author's first name and surname	Vendula Krahulíková
Title of thesis	Endocrine hypertension
Type of thesis	Bachelor
Department	University Hospital in Olomouc, Department of Clinical Biochemistry
Supervisor	RNDr. Jiří Lukeš
The year of presentation	2013
Abstract	<p>This Bachelor's work deals with the issue of hypertension with a focus on endocrine hypertension. The theoretical part is mainly devoted to the clinical importance of rennin-angiotensin-aldosterone system, its development and hormones that are involved in its regulation. The next section deals with organs associated with RAAS function and its disease. The practical part is focused on specific laboratory methods used for the diagnosis of endocrine hypertension. The final section is devoted to the processing of laboratory data of patients.</p>
Keywords	Renin-angiotensin-aldosterone system, endocrine hypertension, primary aldosteronism, aldosterone-renin-ratio
Number of pages	50
Number of appendices	0
Language	Czech

Čestně prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně, pod vedením RNDr. Jiřího Lukeše a za použití literatury uvedené v závěru práce.

V Olomouci dne 24.4.2013

.....
Vendula Krahulíková

Děkuji vedoucímu bakalářské práce panu RNDr. Jiřímu Lukešovi, za odborný dohled, přístup a cenné rady, které mi poskytl při zpracování tohoto úkolu.

Dále děkuji Darině Trefilové za pomoc při realizaci měření. Velké poděkování patří také mé rodině a příteli za trpělivost a podporu při psaní bakalářské práce.

Obsah

Seznam použitých obrázků, schémat, tabulek a grafů	7
Seznam použitých symbolů a zkratek.....	8
Cíle práce	9
Teoretická část	10
Úvod	11
1. Osmolalita	13
1.1. Metabolismus sodíku.....	13
1.2. Systém renin-angiotenzin-aldosteron (RAAS).....	14
1.3. Reakce na přebytek sodíku a zvětšený krevní objem.....	18
2. Jednotlivé hormony účastníci se RAAS	19
2.1. Renin.....	19
2.2. Aldosteron	20
2.3. Angiotenzin	21
3. Orgány související s funkcí RAAS systému	23
3.1. Anatomický a fyziologický popis ledvin.....	23
3.2. Poruchy funkce ledvin.....	24
4. Sekundární hypertenze	26
4.1. Endokrinní formy hypertenze.....	27
4.1.1. Primární hyperaldosteronismus	27
Experimentální část	29
5. Laboratorní metody stanovení parametrů kaskády RAAS	30
5.1. Výpočet poměru aldosteron/renin (ARR, aldo-renin-ratio)	30
6. Stanovení plazmatické reninové aktivity	31
6.1. Princip stanovení	31
6.2. Biologický materiál	31
6.3. Reagencie dodávané v soupravě.....	32
6.4. Omezení metodiky.....	33
6.5. Postup stanovení.....	34
6.5.1. Vyvíjení angiotensinu I.....	34
6.5.2. Postup provedení RIA analýzy	34
6.6. Vyhodnocení výsledků měření PRA	35
7. Stanovení plazmatické koncentrace aldosteronu	37

7.1. Princip stanovení	37
7.2. Biologický materiál	37
7.3. Reagencie dodávané v soupravě.....	37
7.4. Omezení metodiky.....	39
7.5. Postup stanovení.....	39
7.6. Vyhodnocení výsledků měření ALDO	40
8. Výsledky pacientů	42
8.1. Zhodnocení významu laboratorních vyšetření	44
Závěr.....	46
Seznam použité literatury	47
Seznam použitých obrázků	50

Seznam použitých obrázků, schémat, tabulek a grafů

Obrázek

- 1 Juxtaglomerulární aparát
- 2 Renin
- 3 Anatomie ledviny

Schéma

- 1 Reakce organismu na ztrátu vody (hypotonické tekutiny)
- 2 Aktivace systému renin-angiotenzin-aldosteron (RAAS)
- 3 Řízení sekrece aldosteronu
- 4 Syntéza steroidních hormonů
- 5 Angiotenzin

Tabulka

- 1 Rozdělení nejčastějších příčin sekundární hypertenze a jejich diagnostika
- 2 Pipetování jednotlivých reagensů do zkumavek, PRA
- 3 Vyhodnocení parametrů kalibrace pro PRA, dle firemního protokolu na analyzátoru COBRA 5005
- 4 Pipetování jednotlivých reagensů do zkumavek, ALDO
- 5 Vyhodnocení parametrů kalibrace pro aldosteron, dle firemního protokolu na analyzátoru COBRA 5005
- 6 Zpracování laboratorních dat aldosteron/renin
- 7 Vysvětlivky pro jednotlivá diagnostikovaná onemocnění

Graf

- 1 Ukázka reálné kalibrační křivky pro PRA, jako výstup z analyzátoru COBRA 5005
- 2 Ukázka reálné kalibrační křivky pro aldosteron, jako výstup z analyzátoru COBRA 5005
- 3 Vyhodnocení výsledků ARR

Seznam použitých symbolů a zkratek

ACE	enzym konvertující angiotenzin
ADH	antidiuretický hormon
ALDO	plazmatický aldosteron
AMK	aminokyselina
Ang-I	angiotenzin-I
Ang-II	angiotenzin-II
ANP	atriový natriuretický peptid
ARR	aldo-renin-ratio
BNP	mozkový natriuretický peptid
CNP	natriuretický peptid typu C
CPM	počet impulsů za minutu
ECT	extracelulární tekutina
ICT	intracelulární tekutina
PRA	plazmatická reninová aktivita
RAAS	system renin-angiotenzin-aldosteron

Cíle práce

1. Teoreticky zpracovat problematiku hypertenze se zaměřením na endokrinně podmíněnou hypertenzi.
2. Popsat laboratorní metody používané k diagnostice endokrinní hypertenze.
3. Provést laboratorní měření hladiny aldosteronu a plazmatické reninové aktivity.
4. Zhodnotit laboratorní data pacientů za zvolené období.

Teoretická část

Úvod

Arteriální hypertenze je považována za civilizační onemocnění, jehož výskyt úměrně stoupá se stupněm civilizačního vývoje společnosti. Příčin onemocnění je mnoho, ovšem velkou roli, v dnešní uspěchané době, hrají nevhodný životní styl, nedostatek pohybu, špatné stravování a stres.

Hodnoty krevního tlaku 140 mm a více rtuťového sloupce u systolického a 90 mm a více rtuťového sloupce u diastolického tlaku, jsou brány jako patologické, které by měly být léčeny.

Samotná hypertenze je často podceňována, mnoho lidí a nemocných si neuvědomuje závažnost komplikací a jiné možné příčiny vzniku dalších chorob.

Podle etiopatogeneze rozeznáváme dva typy arteriální hypertenze, primární (esenciální) a sekundární (symptomatická) hypertenze. U primární hypertenze nedochází ke zvýšení krevního tlaku v důsledku jiného onemocnění. Tlak se chronicky zvyšuje v cévním řečišti, což vede k poškození cév a následným onemocněním (ischemické choroby, infarkt myokardu, plicní embolie). U populace, trpící hypertenzí, se vyskytuje asi v 90%. Naopak u sekundární hypertenze dochází ke zvýšení krevního tlaku na základě jiného zjištěného onemocnění, to je případ 5 – 15 % všech pacientů, léčících se na hypertenzi. Odlišení od esenciální formy hypertenze je důležité pro možnost léčby a odstranění potencionálních příčin (renovaskulární hypertenze, endokrinně podmíněná hypertenze), což může vést v brzkých stádiích až k úplnému vyléčení hypertenze. Jde tedy o klinicky závažný problém, který je potencionálně řešitelný.

Endokrinně podmíněnou hypertenzi řadíme mezi sekundárně podmíněné formy vysokého krevního tlaku. Mezi nejčastější formy patří primární hyperaldosteronismus, který se vyznačuje autonomní nadprodukcí mineralokortikoidu - aldosteronu, a hypertenze podmíněná systémem RAAS. Na možnost tohoto onemocnění musíme myslet u člověka tehdy, když se dlouhodobě a ne příliš úspěšně léčí s vysokým krevním tlakem, užívá kombinaci mnoha léků, které snižují krevní tlak, ale bez výsledku.

Na vzniku hypertenze i mnoha dalších kardiovaskulárních onemocnění se podílí angiotensin-II (Ang-II), aldosteron a renin. Právě sledováním jejich hladin se zabývá systém renin-angiotensin-aldosteron (RAAS). Začátky poznatků o vztahu mezi systémem RAAS a hypertenzí jsou známy více než sto let, avšak teprve využití moderních laboratorních technik v posledním desetiletí umožnilo rozvoj nových

vědeckých poznatků a jejich klinické využití v diagnostice a terapii arteriální hypertenze. [1]

1. Osmolalita

V těle lidského organismu se nachází spousta tělních tekutin. Mezi nejvýznamnější řadíme krev, krevní plazmu, moč a vodu, ve kterých je rozpuštěné velké množství osmoticky aktivních částic. Nejdůležitější složku tvoří ionty, zejména pak sodík, draslík, vápník, chloridy a další osmoticky významné sloučeniny. Souhrnně tento jev nazýváme osmolalita. [6]

1.1. Metabolismus sodíku

Metabolismus sodíku, který je hlavním extracelulárním kationtem, se největší mírou podílí na osmotickém tlaku. *“ Ze všech iontů na sebe váže nejvíce vody, retence sodíku je proto vždy doprovázena retencí vody a naopak. “* [6, 93 s.] Z toho důvodu patří neodmyslitelně metabolismus sodíku k metabolismu vody a důležitá je jejich regulace. Odlišně pak bude organismus reagovat na ztrátu vody (hypotonické tekutiny) než na ztrátu vody se solemi (izotonické tekutiny). [6]

Sodík je přijímán potravou ve formě chloridu sodného (kuchyňská sůl). Za fyziologických okolností 90% sodného kationtu se vyloučí močí, dále stolicí a potem. 99% tohoto množství je pak zpětně ledvinami resorbováno a pouhé 1% je vyloučeno v definitivní moči. Část resorpce, která se odehrává v distálním tubulu (viz kapitola 3.1.), je kontrolována hormonem aldosteronem. [6]

„Následkem ztráty vody je zvýšení osmolality a koncentrace sodíkového kationtu v ECT, které vyvolávají přesun osmoticky aktivních látek z ECT do buněk, resp. přesun vody opačným směrem; nedostatek vody se tedy rovnoměrně rozloží mezi oba tyto prostory a dlouho nemusejí být přítomny větší potíže nemocného. “ [6, 93 s.] V krvi pak začne narůstat koncentrace bílkovin a hemoglobinu. Organismus na zvýšení osmolality reaguje produkcí antidiuretického hormonu (ADH). Ten svým působením na distální tubulus v ledvinách, vyvolá zpětnou resorpci vody, jak je patrné ze schématu 1. [6]

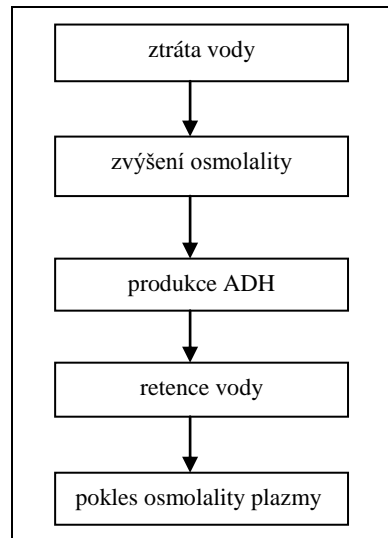


Schéma 1.: *Reakce organismu na ztrátu vody (hypotonické tekutiny)*

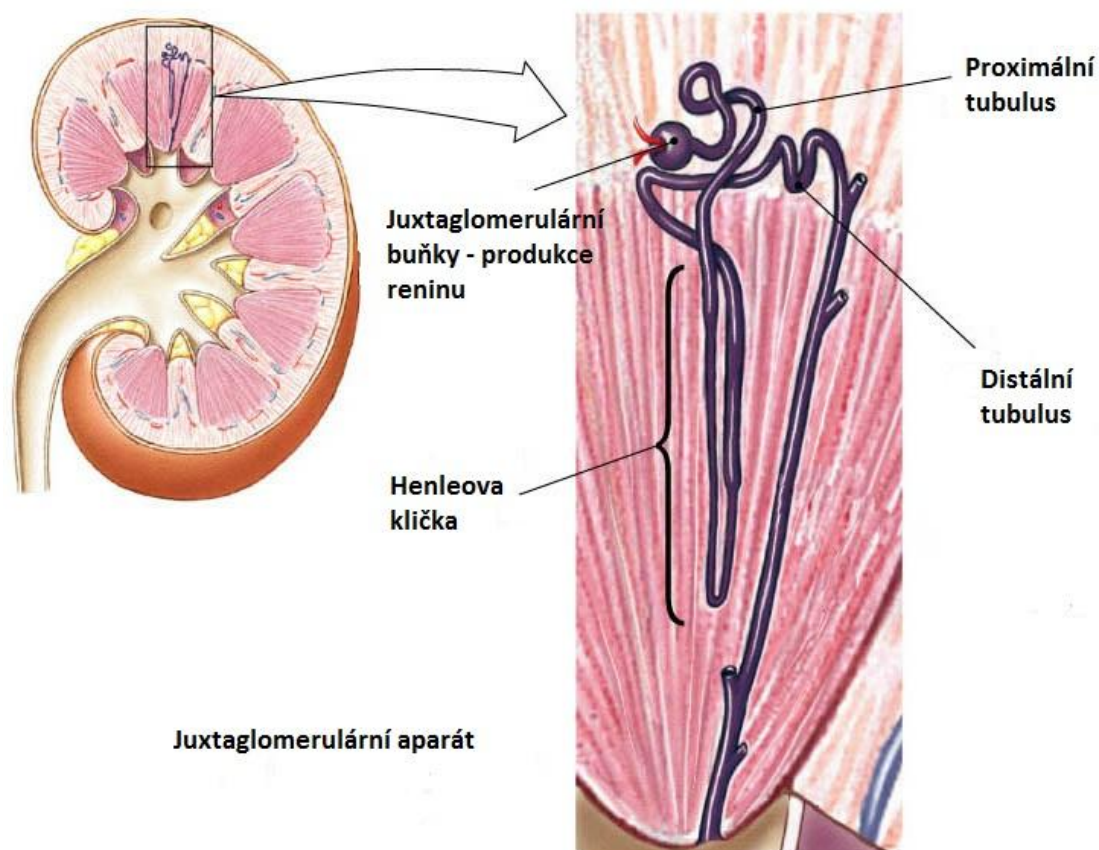
[6]

Pokles objemu cirkulující tekutiny nastává až u pokročilé dehydratace; v tom případě je aktivován systém renin-angiotenzin-aldosteron. [6]

1.2. Systém renin-angiotenzin-aldosteron (RAAS)

Izotonická tekutina se z organismu ztrácí např. zvracením, krvácením, průjmy apod. „Protože v tomto případě nestoupá osmolalita ECT, nedochází k přesunu tekutiny z ICT a ztráta ECT tedy není ničím kompenzována.“ [6, 94 s.] Nemocný pak nemá žízeň, do popředí se dostává únava, adynamie a snižuje se turgor kůže. Záhy se projeví následek poklesu krevního objemu, klesne diuréza a nemocný je ohrožen selháním ledvin, selháním krevního oběhu a úpadkem do bezvědomí. [6]

„Na pokles krevního tlaku, a tedy i snížení tlaku ve vas afferens ledviny, reaguje juxtaglomerulární aparát produkcí reninu.“ [6, 94 s.] (obrázek 1) Dalším signálem k produkci reninu je snížení koncentrace sodného kationtu či aktivace β_1 – adrenoreceptorů v oblasti juxtaglomerulárních buněk.[6], [23]



Obrázek 1. *Juxtaglomerulární aparát*

[7]

Renin je enzym, jehož hlavním úkolem je přeměna angiotenzinogenu, kolujícího v krvi, na peptid angiotensin-I. Ten se následně zkrátí o dvě aminokyseliny leucin a histidin působením angiotensin-konvertujícího enzymu (ACE), který vzniká v plicní tkáni. Takto vzniklý angiotensin-II a jeho metabolit angiotensin-III, centrálně zvyšují tonus sympatiku, v neurohypofýze stimulují sekreci vasopresinu s následnou retencí vody a vyvolávají zvýšení produkce aldosteronu v kůře nadledvin (viz schéma 2). [23]

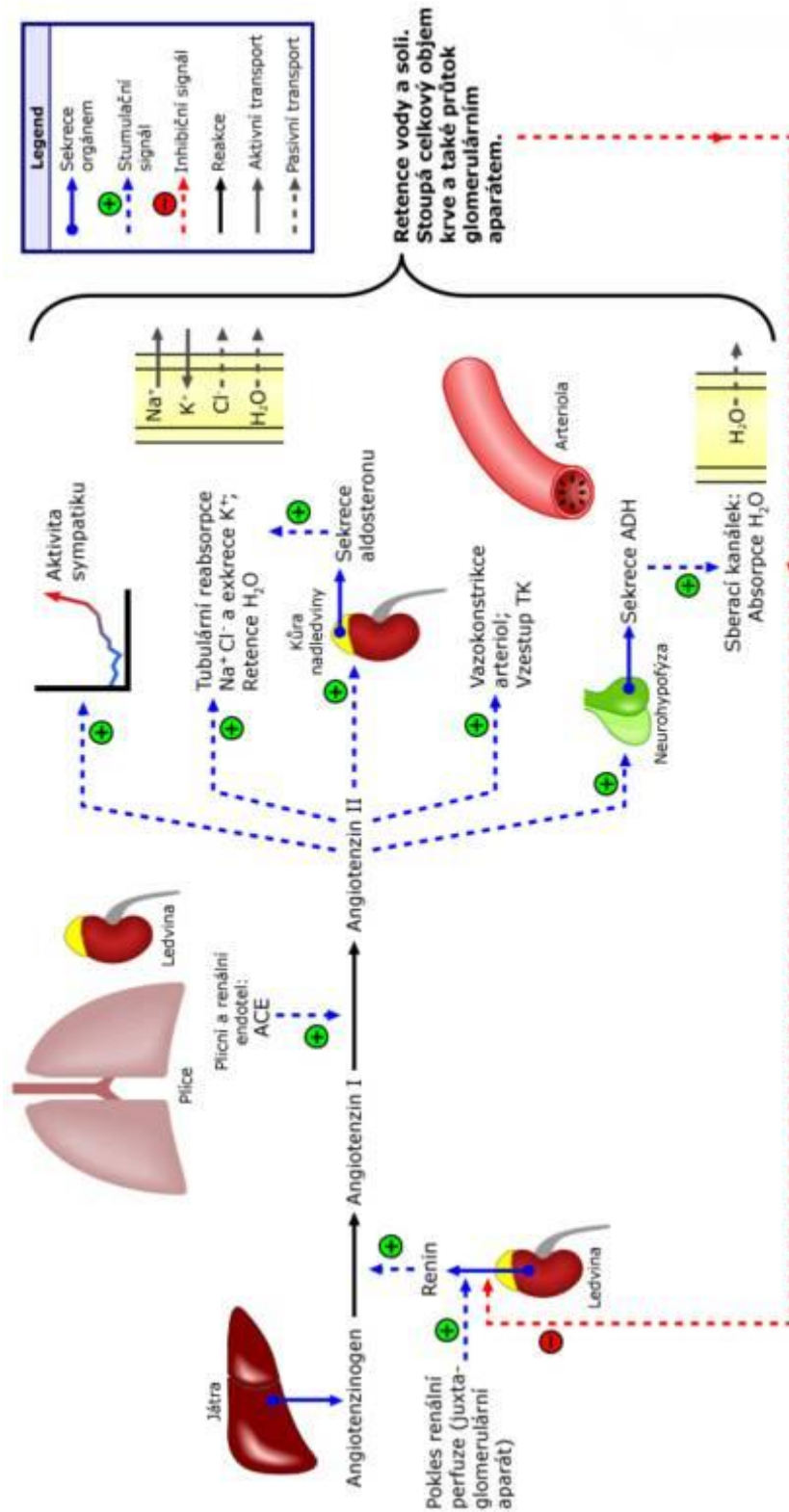


Schéma 2: Aktivace systému renin-angiotenzin-aldosteron (RAAS)

Aldosteron zvýší resorpci sodného kationtu v distálním tubulu. Sodík se spojuje s vodou a spolu s vazokonstrikčním působením angiotensinu-II a -III vyvolají zvýšení krevního tlaku a zlepší průtok tekutin ledvinami, jak je patrné ze schématu 3. [6]

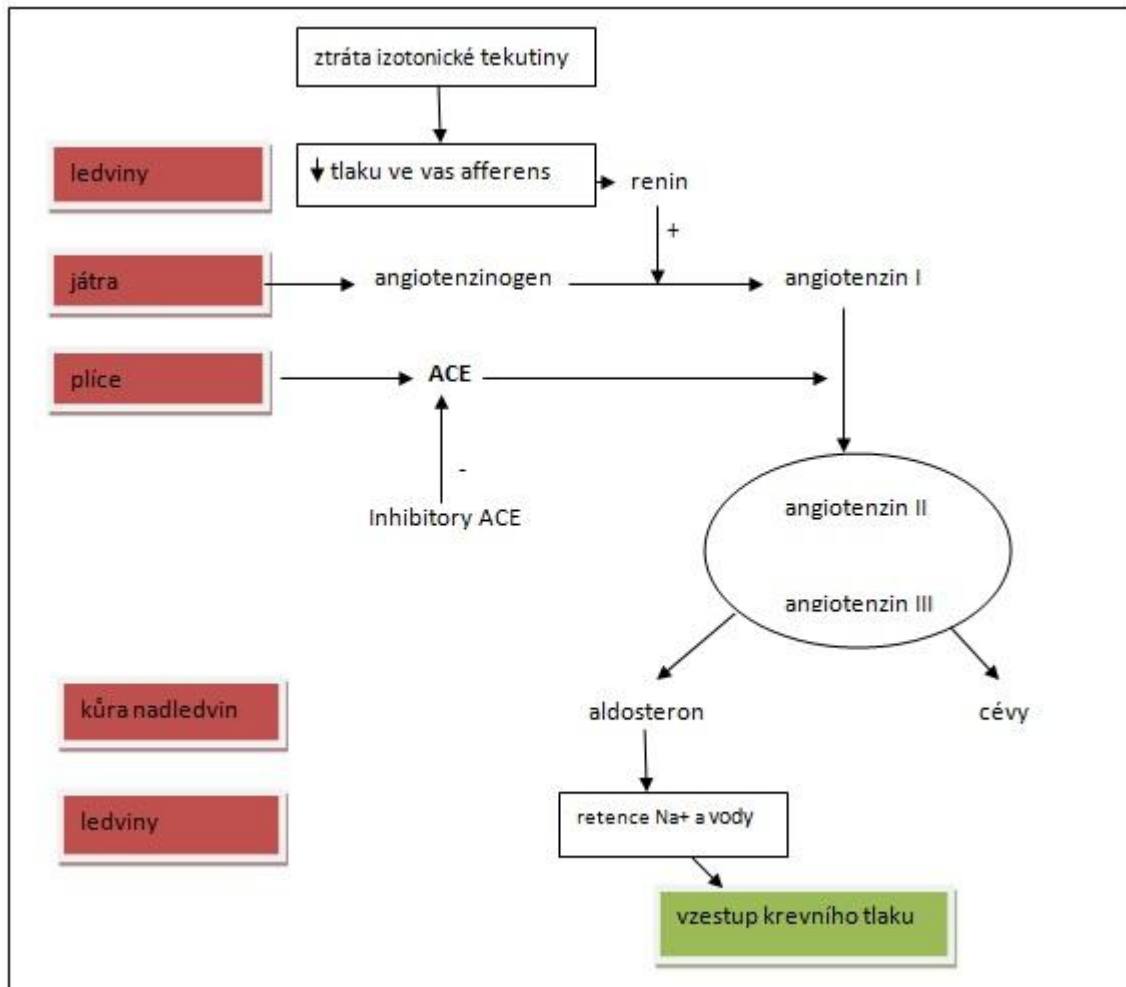


Schéma 3: Řízení sekrece aldosteronu

[6]

1.3. Reakce na přebytek sodíku a zvětšený krevní objem

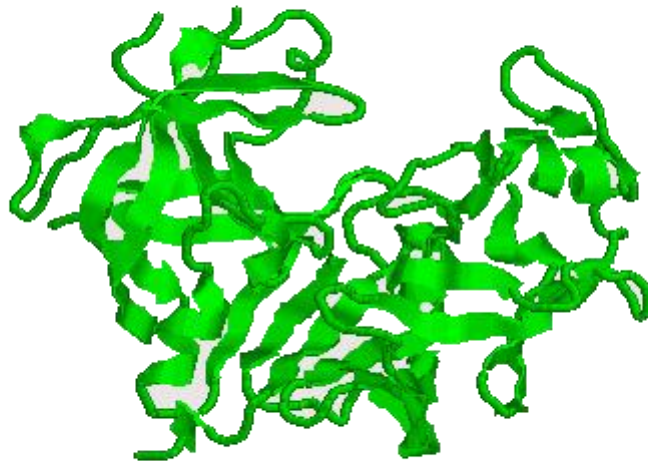
Reakce na přebytek sodíku a zvětšený krevní objem cirkulující tekutiny je dán sekrecí natriuretických peptidů. Známé jsou tři typy, atriový natriuretický peptid (ANP), mozkový natriuretický peptid (BNP) a natriuretický peptid typu C (CNP). Peptidy jsou produkovány svalovinou levé srdeční komory a síně, některými oblastmi mozku a zčásti buňkami endotelu cév. [6]

Cílovým orgánem těchto peptidů je distální tubulus ledvin, kde inhibují zpětný transport sodíku. „Působí však i vazodilataci a snižují vznik a účinek angiotensinu II. V klinické praxi se nejběžněji stanovuje BNP či N-terminální peptid, vznikající při přeměně prekurzoru pro BNP na aktivní hormon“. [6, 95 s.] Jejich sérová koncentrace se zvyšuje při srdeční slabosti a u nemocných s infarktem myokardu má toto stanovení prognostický význam. K dalším příčinám sekrece natriuretických peptidů patří hypertenze s hypertrofií a přetížením levé srdeční komory, hyperaldosteronismus, selhání ledvin s neschopností vyloučit přebytek vody a jiné. Jako u ostatních nízkomolekulárních látek, tak i v případě BNP dochází k retenci v séru při poklesu glomerulární filtrace. [6]

2. Jednotlivé hormony účastníci se RAAS

2.1. Renin

Renin, který se skládá z 406 aminokyselin, není hormon v pravém slova smyslu. Jde o enzym, který je produkován juxtaglomerulárními buňkami ledvin (obrázek 1). Stimulem k jeho sekreci je pokles krevního tlaku, který je detekován baroreceptory a pokles koncentrace Na^+ iontů v krvi a Henleově kličce. Renin spouští přeměnu angiotenzinogenu na angiotensin-I, který je pak enzymaticky přeměněn na angiotensin-II, je tedy iniciátorem renin-angiotenzinového systému, který se podílí na řízení vylučování vody a iontů ledvin. Renin je vylučován ledvinovými buňkami, které se aktivují prostřednictvím signalizace od macula densa (shluk buněk v oblasti distálního stočeného kanálku v ledvinách), který reaguje na rychlost proudění přes distální tubulus, poklesem renálního perfúzního tlaku (přes baroreceptory v cévní stěně). Pokles rychlosti obtékání macula densa znamená pokles renální filtrace tlaku. Primární funkcí je tedy nakonec způsobit zvýšení krevního tlaku, což vede k obnovení perfúzního tlaku v ledvinách. [16],[25]



Obrázek 2: *Renin*

2.2. Aldosteron

Aldosteron je steroidní hormon, který vzniká v kůře nadledvin. Podle chemické povahy ho řadíme mezi mineralokortikoidy. Všechny steroidní látky sdílí podobnou cyklopentanoperhydrofenantrenovou strukturu a také vznikají téměř stejnou cestou, a to proto, že pro všechny slouží jako prekurzor stejná látka, cholesterol, s řadou enzymatických kroků (schéma 4). [14], [22]

Aldosteron je v plazmě transportován volně nebo ve vazbě na plazmatické bílkoviny. Jeho účinek v cílové tkáni je zprostředkován jadernými receptory a působí hlavně v ledvinách, v potních a slinných žlázách a také ve střevech. Způsobuje zpětnou resorpci Na^+ iontů a vody v ledvinných tubulech z primární moči a naopak vylučování K^+ a H^+ iontů, což vede ke zvýšení objemu extracelulární tekutiny a následnému zvýšení krevního tlaku. [14], [22]

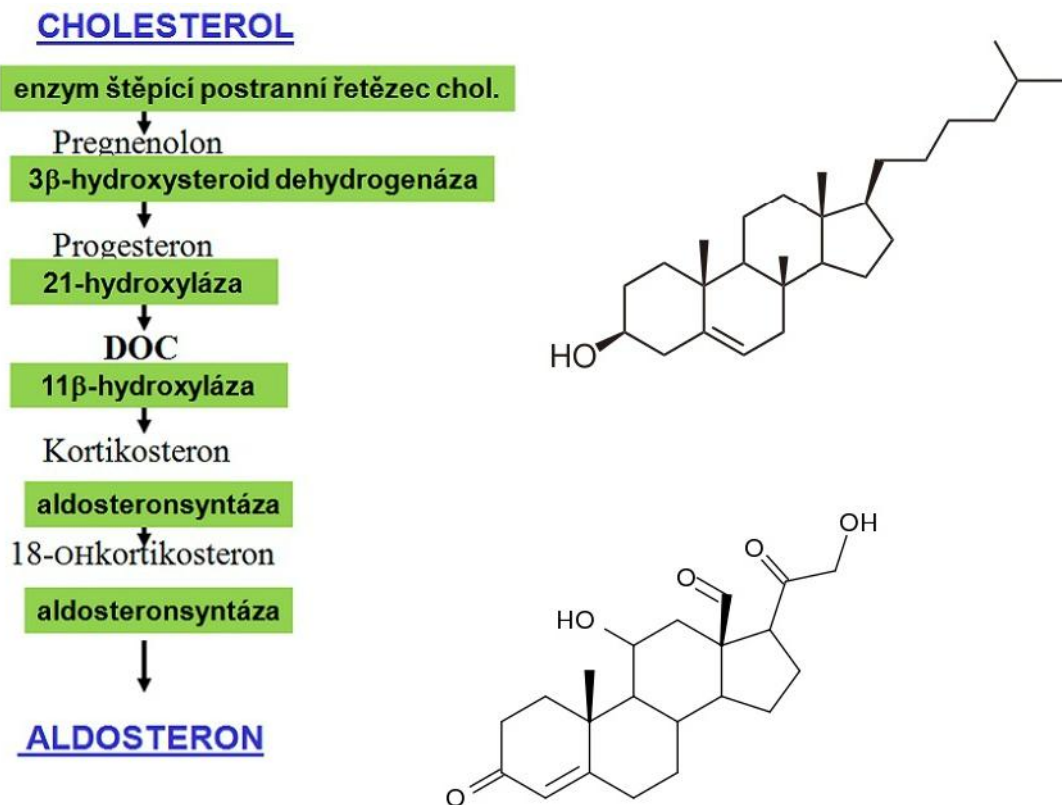


Schéma 4: Syntéza steroidních hormonů

[1], [3]

2.3. Angiotenzin

Angiotensin je peptidový hormon, který způsobuje vazokonstrikci a následné zvýšení krevního tlaku. Je součástí systému renin-angiotensin-aldosteron, který je v současné době hlavním cílem pro léky snižující krevní tlak. Důležitou rolí je také stimulace uvolňování aldosteronu. [15]

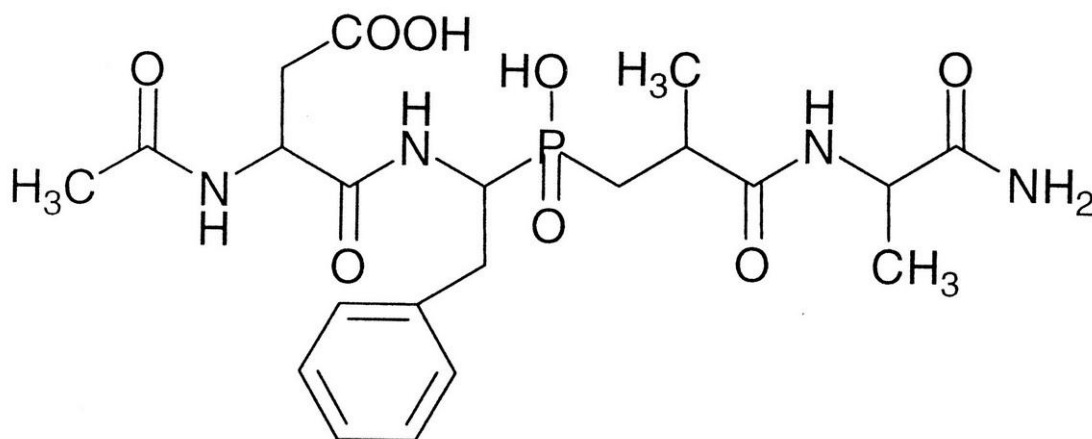


Schéma 5: Angiotenzin

[2]

Prekurzorem je angiotensinogen, což je plazmatický alfa-2-globulin, který je syntetizován játry a slouží jako substrát pro renin. Lidský angiotenzinogen je tvořen 452 aminokyselinami, avšak u ostatních organismů se může jeho velikost lišit. Prvních 12 aminokyselin je velmi důležitých pro jeho aktivitu. Jsou jimi: Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu-Val-Ile. [15],[18]

Angiotensin-I, oligopeptid, který vzniká odštěpením z N-terminálního konce angiotensinogenu účinkem reninu. Nemá příliš velkou biologickou aktivitu a je chápán spíše jako prekurzor pro angiotensin-II. [18]

Angiotenzin-II je pak vlastní peptidický hormon systému RAAS, který vzniká z angiotensinu-I a účinkem angiotensin konvertujícího enzymu (ACE), a to především v plicích nebo endoteliálních a epiteliálních buňkách ledvin. Samotný vliv angiotensinu-II na buňky je zprostředkován přes AT-receptory, kterých je několik podtypů, přičemž AT1 je nejvýznamnější. Účinky angiotensinu-II jsou tyto:

- Vede k všeobecné vazokonstrikci arteriol
- Zvyšuje reabsorpci sodíku v proximálním tubulu
- Zvyšuje tvorbu aldosteronu a tím zvyšuje resorpci sodíku v distálním tubulu
- Zvyšuje odpor ve vas afferens, čímž stimuluje glomerulární filtraci
- Stimuluje aktivitu sympatiku
- Zvyšuje sekreci ADH

Angiotenzin-III se podílí na činnosti angiotensinu-II a na činnosti aldosteronu. Angiotensin-IV, hexapeptid, má podobně jako angiotensin-III menší biologickou aktivitu. Oba tyto angiotensiny nemají v současné době v laboratorní praxi klinické uplatnění. [15], [18].

3. Orgány související s funkcí RAAS systému

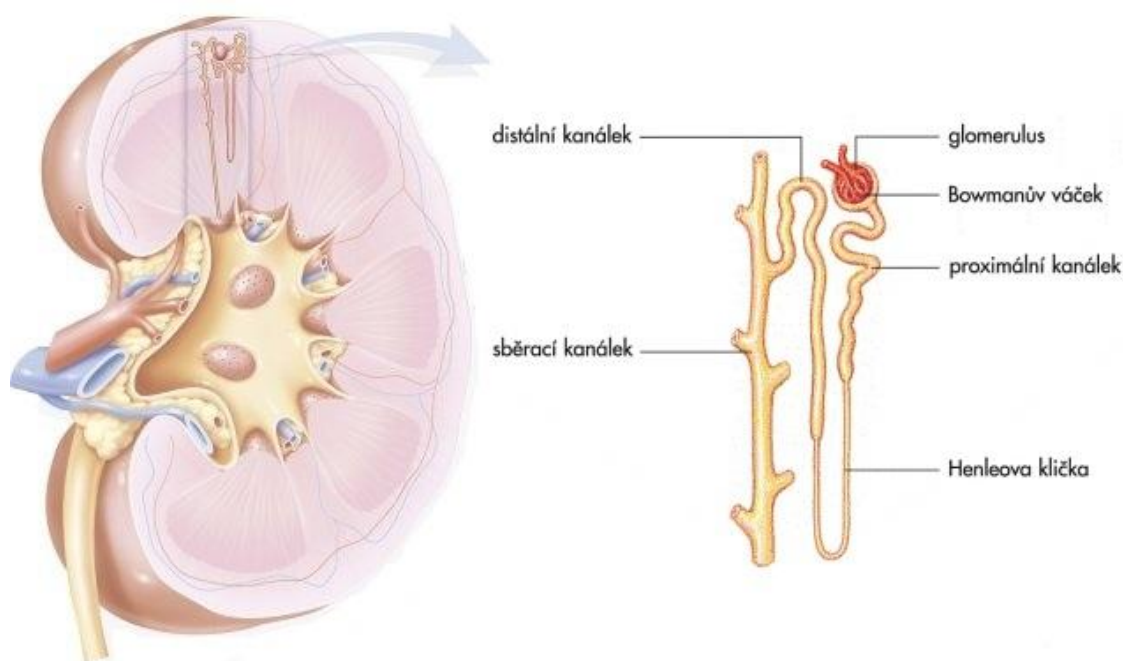
3.1. Anatomický a fyziologický popis ledvin

Ledviny, párový orgán fazolovitého tvaru, jsou uloženy v horní části břišní dutiny po obou stranách bederní páteře. Jsou obaleny tukovým polštářem, který je chrání před mechanickými otřesy. Ledviny se skládají z přibližně 1 miliónu funkčních jednotek, tzv. nefronů. Každý nefron pak začíná glomerulem, ve kterém dochází k ultrafiltraci plazmy. Poté pokračují tubuly, které lze podle struktury a funkce rozdělit do několika úseků (proximální tubulus, Henleova klička, distální tubulus). [5], [7], [26]

K základním funkcím ledvin patří:

- udržování stability vnitřního prostředí, tedy osmotického tlaku, koncentrace minerálů a vodíkových iontů (pH)
- vylučování odpadních, nepotřebných látek (urea, kreatinin, kyselina močová, mnohé léky a jejich metabolity)
- tvorba biologicky aktivních látek (renin, erythropoetin)
- metabolické funkce (glukoneogeneze)

Většinu těchto funkcí zajišťují ledviny tvorbou moči. Nízkomolekulární látky se dostávají do moči glomerulární filtrací. Větší molekuly jsou zadrženy a nacházíme je v moči jen při poruchách glomerulu. Složení primární moči je tedy velmi podobné plazmě bez většiny bílkovin. „*Při průchodu proximálním a distálním tubulem a Henleho kličkou dochází k zahuštění moči, které je dané osmotickým gradientem mezi obsahem tubulů a intersticiální tekutinou v dřeni ledvin, zvětšujícím se směrem k papile ledvin.*“ [6, 95 s.] Spousta látek, které jsou potřebné pro organismus (glukóza, AMK) se vstřebávají již v proximálním tubulu. V tubulárním systému dochází také k resorpci a sekreci minerálů a dalších látek, které zajišťují stabilitu vnitřního prostředí. Řada tubulárních dějů je pod kontrolou hormonů, jako např. antidiuretický hormon, aldosteron aj. [6], [7]



Obrázek 3: *Anatomie ledviny*

[4], [8]

3.2. Poruchy funkce ledvin

Nefron může být jak po stránce anatomické, tak po stránce funkční rozdělen na glomerulární část a tubulární část. Některá onemocnění vedou primárně k postižení glomerulů, tedy ke snížení glomerulární filtrace. Jiná onemocnění poškozují nejprve tubuly a jejich funkce. Většina však dříve či později postihne obě části nefronu. [7]

Onemocnění ledvin můžeme rozdělit do několika skupin:

- Cévní onemocnění ledvin (např. ateroskleróza renálních tepen) – mohou se projevovat renovaskulární hypertenzí, ischemií ledvin, obvyklá je mírně snížená glomerulární filtrace [7]
- Nemoci glomerulů (např. záněty glomerulů) – mezi hlavní projev patří patologický nález v moči, popř. může dojít k akutnímu či chronickému selhání ledvin [7]

- Nemoci tubulů – projevuje se obvykle relativně specifickou poruchou složení vnitřního prostředí [7]
- Akutní selhání ledvin – vyvíjí se náhle, během hodin až dnů, (např. vlivem neurotoxických jedů nebo při šoku), může dojít k anatomickým změnám [7]
- Chronické selhání ledvin – renální insuficience (nedostatečnost ledvin) plynule přechází k akutnímu selhání [7]
- Nádory ledvin a močových cest [7]

Hypertenze je častou komplikací akutních i chronických onemocnění ledvin, zejména pak onemocnění postihující renální cirkulaci a glomeruly. Avšak výskyt hypertenze se u jednotlivých onemocnění ledvin liší. U pacientů s primární hypertenzí může být hypertenze příčinou selhání ledvin a i lehčí formy primární hypertenze zvyšují riziko chronického selhání ledvin. Z pacientů trpících sekundární formou hypertenze je často příčinou chronické renální onemocnění či stenóza renální tepny. [4]

4. Sekundární hypertenze

Sekundární hypertenze je definovaná jako taková forma vysokého krevního tlaku, kde lze odhalit a často i odstranit konkrétní příčinu, která nemoc vyvolává. Výskyt sekundární hypertenze je přibližně 5 - 15 % u dospělých hyperteniků, naopak vyšší výskyt je v dětském a juvenilním věku. [12],[26]

Sekundární formy hypertenze bývají často doprovázeny těžkou arteriální hypertenzí s řadou metabolických a orgánových komplikací. Mezi nejčastější formy sekundární hypertenze patří renální hypertenze a endokrinní hypertenze u primárního hyperaldosteronismu (viz tabulka 1) [11]

Typ hypertenze	Podtyp	Diagnostika
Renální	Parenchymová	Patologický nálezn v moči + sedimentu Zvýšený kreatinin, snížená glomerulární filtrace Sonografie ledvin
	Renovaskulární	Šelest v břiše Duplexní sonografie ledvinných tepen CT angiografie ledvinných tepen
Endokrinní	Hyperaldosteronismus	Hypokalémie PA/PRA > 30 CT, NMR nadledvin
	Feochromocytom	Záchvatovitá hypertenze K.vanilmandlová > 50umol/l moči Normetanefrin > 360 µg/24 hodin v moči Metanefrin > 300 µg/24 hodin v moči CT, NMR břicha 131I-metajodbenzoylguanidin
	Cushingův syndrom	Typická obezita, strie Kortizol v moči > 600 nmol/24 hodin CT, NMR hypofýzy a nadledvin
	Další endokrinní	Thyreotoxikóza, akromegalie, primární hyperparathyreóza, vrozené poruchy

Tabulka 1: Rozdělení nejčastějších příčin sekundární hypertenze a jejich diagnostika

[10]

4.1. Endokrinní formy hypertenze

Endokrinní formy hypertenze jsou většinou spojeny s chorobami nadledvin. Výskyt v populaci (kromě primárního hyperaldosteronismu) je poměrně nízký. Většinou se u těchto onemocnění nejedná o těžké formy hypertenze. [7], [12]

Z onemocnění nadledvin jsou hypertenzí doprovázeny primární hyperaldosteronismus (kapitola 4.1.1.), feochromocytom (viz tabulka výše) a hypertenze podmíněná systémem renin–angiotenzin–aldosteron. Při vyšetřování hypertenze podmíněné systémem RAAS, je východiskem stanovení plazmatické reninové aktivity a plazmatického aldosteronu (viz experimentální část). [7],[12]

4.1.1. Primární hyperaldosteronismus

Primární hyperaldosteronismus je nejčastější příčinou endokrinní, ale i sekundární hypertenze obecně. Jde o onemocnění, které je vyvolané autonomní nadprodukcí mineralokortikoidů (aldosteronu) kůrou nadledvin s vysokými koncentracemi aldosteronu, potlačeným reninem a arteriální hypertenzí. Důsledkem je zadržování sodíku v distálním tubulu ledvin, zvýšené vylučování draslíku a vodíku (hypokalémie, hypernatrémie), potlačování vylučování reninu, proto je jeho hladina velmi nízká. Retence sodíku a tekutin pak vede k vzestupu plazmatického volumu, což je jeden z hlavních mechanismů vzniku hypertenze. Lehčí formy hyperaldosteronismu nemusí hypokalémii a metabolické změny vykazovat, je tedy snadné ji zaměnit za primární hypertenzi. [11], [12]

Nejběžnější klinické příznaky primárního hyperaldosteronismu:

- Arteriální hypertenze, mnohdy rezistentní na léčbu
- Orgánové poškození
- Únavový syndrom
- Arytmie, kardiovaskulární příhody
- Svalová únava, obrny
- Hypokelémie, hyponatrémie

PH vede často k orgánovým komplikacím, např. hypertrofie levé srdeční komory, cévní poškození, které může být vysvětleno působením aldosteronu. Aldosteron má rychlý negenomický účinek, který je zprostředkován interakcí s mineralokortikoidním

receptorem, který vede právě k poškození cév. Častější je však výskyt arytmií (fibrilace síní), cévní mozkové příhody a infarkty myokardu. [11], [12]

Experimentální část

5. Laboratorní metody stanovení parametrů kaskády RAAS

5.1. Výpočet poměru aldosteron/renin (ARR, aldo-renin-ratio)

Důležitou otázkou, kterou bychom si měli položit hned na začátek je, proč pátrat po endokrinní hypertenzi? Jak již bylo řečeno v kapitole 4, 4.1., hlavním důvodem je včasná detekce, která umožní zabránit rozvoji kardiovaskulárních komplikací a řadě dalších onemocnění.

Velmi senzitivní, ale zároveň relativně jednoduchou metodou, která je doporučována ke screeningu, je poměr aldosteron/renin (ARR, aldosteron-renin-ratio). Výpočet ARR je poměrně snadný. Jde o podíl plazmatického aldosteronu (ALDO) v ng/dl a plazmatické reninové aktivity (PRA) v ng/ml/h.

Doposud nebylo dosaženo plné jednoty, ale podle guidelines České kardiologické společnosti, je za abnormální považována hodnota ARR 30 (ng/dl).(ng/ml/h). [24]

6. Stanovení plazmatické reninové aktivity

Měření je prováděno pomocí komerční soupravy REN-CTK fy DiaSorin, S.p.A., kat. číslo APM0135, dodávané firmou KC-Solid, ČR. Postup je validován pro klinické použití a splňuje požadavky normy ISO:15189 na in vitro diagnostiku, označené CE značkou.

6.1. Princip stanovení

Měření plazmatické aktivity reninu sestává z radioimunoanalýzy (RIA) Ang-I. Hlavními kroky této analýzy jsou:

- generování Ang-I ve vzorcích plazmy během inkubace při 37°C při podmínkách, které zabraňují degradaci Ang-I a jsou považovány za nejvhodnější pro aktivitu reninu [20]
- stanovení koncentrace Ang-I metodikou RIA ve dvou poměrných částech stejného vzorku, kdy jeden je inkubován při 37°C pro generování a druhý vzorek inkubován není (blank) [20]

Princip imunoanalýzy je založen na kompetici mezi Ang-I značeným izotopem jodu ^{125}I a Ang-I obsaženým v kalibrátorech nebo ve vzorcích o omezený počet vazebných míst specifické protilátky navázané na stěně dodávané zkumavky. Po inkubaci je množství ^{125}I značeného Ang-I navázaného do imunokomplexu s protilátkou, navázané na stěnách zkumavky, nepřímo úměrné koncentraci neoznačeného Ang-I přítomného v kalibrátorech nebo ve vzorcích. [20]

6.2. Biologický materiál

Krev je nutné odebírat do zkumavek zchlazených na teplotu maximálně 4°C s přidávkem EDTA jako antikoagulantem. Prakticky tohoto lze dosáhnout umístěním zkumavek do lázně s tajícím ledem. Vzorky je nutno uchovat v chladu a odstředit, aby se izolovala plazma. U vzorků, které obsahují pevné částice, jsou zakalené nebo lipemické, obsahují stopy erytrocytů, může být provedena filtrace nebo centrifugace. Vysoce hemolyzované nebo lipemické vzorky nelze pro stanovení použít. Pokud se analýza neprovádí okamžitě, vzorky je nutno uchovat v mrazničce při teplotě -20°C a nižší. [20]

6.3. Reagencie dodávané v soupravě

Souprava pro stanovení Ang-I je dodávána pro 100 stanovení, včetně kalibrační křivky a komerčního kontrolního materiálu. Složení soupravy je následující:

1. **ZKUMAVKY potažené protilátkou proti Ang-I, 100 kusů**

Na vnitřní povrch zkumavek je nanesena protilátka biotinylovaného králičího IgG proti Ang-I. Před použitím necháme vytemperovat na pokojovou teplotu (20-25°C). [20]

2. **Ileu-5-angiotensin značený ¹²⁵I, 2 lahvičky**

Lyofilizovaný jodovaný angiotensin. Lahvička obsahuje hormon značený ¹²⁵I, BSA, fosfátový pufr, stabilizátory, konzervační látky a inertní červené barvivo. Lahvičku rozpustíme přidáním 26 ml destilované vody. Skladujeme v mrazničce při teplotě -20°C a nižší. [20]

3. **KALIBRÁTORY s Ileu-5-Ang-I, 6 lahviček**

Lyofilizované reagens. Lahvičky obsahují zvýšené množství Ang-I, bovinní sérový albumin, fosfátový pufr, konzervační látky, Rekonstituujeme přidáním 1 ml destilované vody. Koncentrace standard jsou 0 – 0,3 – 1,0 – 3,0 – 5,0 – 10,0 – 50,0 ng/ml. Skladujeme v mrazničce při teplotě -20°C a nižší. [20]

4. **KONTROLNÍ VZOREK PLAZMY, 1 lahvička**

Lyofilizované reagens. Lahvička obsahuje lidskou plazmu, konzervační látky. Rozmezí koncentrací každého séra je uvedeno na osvědčení o analýze a představuje limity pro hodnoty kontrolních sér. Rekonstituuje se přidáním 2 ml zchlazené destilované vody, přitom teplota nesmí překročit 4°C. Koncentrace analytů ve vzorku je uvedena na štítku lahvičky. [20]

5. **VYVÍJEJÍCÍ PUFER, 1 lahvička**

Lahvička obsahuje 4 ml pufrového roztoku citrátu, stabilizátory, konzervační látky a inertní modré barvivo. [20]

6. ENZYMATICKÝ INHIBITOR (PMSF), 1 lahvička

Lahvička obsahuje 1 ml 5 % roztoku fenylmethylsulfonylfluoridu (PMSF) v etanolu. Pokud dojde při teplotě 2-8 °C ke krystalizaci, zahřejeme roztok PMSF na 37°C. [20]

Pro provedení analytického postupu je potřebný následující spotřební materiál a laboratorní vybavení:

- Destilovaná voda
- Laboratorní sklo
- Stojan na zkumavky
- Polystyrénové zkumavky na jedno použití
- Termostatická vodní lázeň
- Detektor γ -záření nakalibrovaný pro měření ^{125}I
- Vibrační míchadlo typu vortex
- Mikropipety se špičkami na jedno použití
- Zařízení k odsávání tekutin (vodní vývěva)

6.4. Omezení metodiky

Klinická významnost testu PRA není spolehlivá, jestliže je test proveden na pacientech, kteří nejsou v kontrolovaných podmínkách, zejména v příjmu sodíku a draslíku, a kteří nezaujímají stanovenou polohu, nebo jimž byly podány léky, které ovlivňují vylučování reninu. [20]

Na výsledky testu může mít vliv bakteriální kontaminace nebo opakované zmrazování a rozmrazování vzorků. Důležité je zvládnutí techniky a dodržování návodu, zejména přesné pipetování. Sníženou kvalitu výsledků mohou ovlivnit tyto metodologické faktory:

- Použití stejné špičky při odběrech nebo po dávkování vzorků
- Ponechání dlouho otevřených zkumavek
- Vystavení reagensů nebo vzorků působení intenzivního tepla nebo bakteriím
- Neadekvátní aspirace inkubačního roztoku
- Příležitostná oscilace detektoru gama nebo nesprávná manipulace
- Použití reagensů z různých šarží

Omezení citlivosti testu může způsobovat interference s proteiny ve vzorku (blank). Celkový blank zahrnuje příspěvky proteinů podobných Ang, cirkulujícího Ang-I a Ang-I produkovaného působením reninu při nízké teplotě od doby odběru krve do provedení testu. Kontrolované studie potenciálně interferujících látek ukázaly, že provedení testu neovlivňuje lipémie a bilirubinémie. [20]

6.5. Postup stanovení

6.5.1. Vyvíjení angiotensinu I

Ang-I se vyvíjí při pH 6 a optimálních podmínkách, aby bylo dosaženo citlivosti u vzorků s nízkou aktivitou reninu a možnost použití kratší doby vyvíjení. Tyto podmínky umožňují pracovat s nejnižším možným ředěním vzorku, a tak snižovat vliv ředění na kinetiku vyvíjení Ang-I. [20]

Do vyvíjecích zkumavek bez nanesené protilátky, uložených v ledové lázni, přidáváme tyto reagenty:

- 500 μ l vzorku
- 10 μ l PMSF
- 50 μ l vyvíjecího pufru

Obsah zkumavek promícháme na třepače a 200 μ l každého vzorku přeneseme do druhé série zkumavek bez nanesené protilátky. Druhou sérii zkumavek inkubujeme po dobu 90 minut v termostatu nastaveném na teplotu 37°C. První sérii zkumavek (blank vzorky) uchováme v ledové lázni (maximálně 4°C). Po inkubaci musíme vyvíjecí se zkumavky uložit do ledové lázně. [20]

6.5.2. Postup provedení RIA analýzy

Stanovení provádíme při pokojové teplotě (20-25°C) se vzorky v duplikátu. Reagenty pipetujeme na dno protilátkou potažených zkumavek, podle následující tabulky (tab.2):

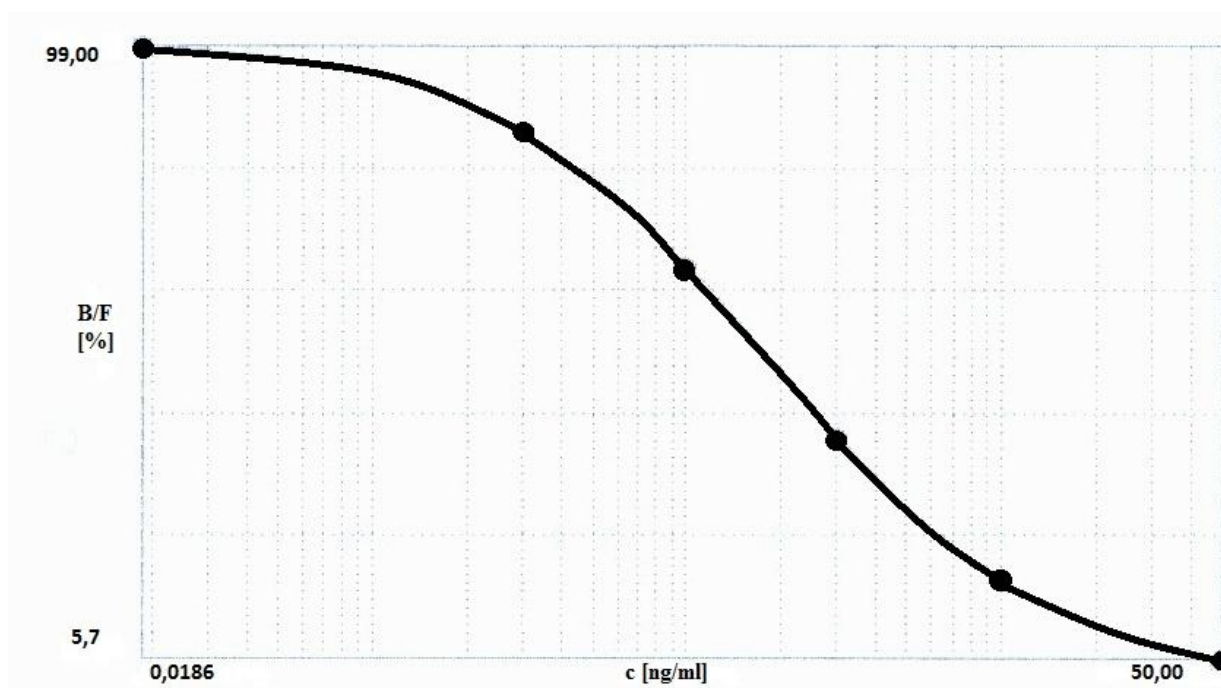
Reagens	Zkumavky	Kalibrátory	Vzorky
		0-5	a blank vzorky
	Kalibrátory	50 μ l	-
	Vzorky	-	50 μ l
	125 I-Ang-I	500 μ l	500 μ l

Tabulka 2: Pipetování jednotlivých reagensů do zkumavek

[20]

Obsah zkumavek promícháme na třepače a inkubujeme po dobu 3 hodin při pokojové teplotě. Po ukončení inkubace pečlivě odsajeme reakční směs, přičemž špička aspirátoru se musí dotýkat dna zkumavky s protilátkou, aby se odsála veškerá kapalina. Po tomto kroku změříme radioaktivitu 125 I ve zkumavkách na analyzátoru COBRA 5005 (Perkin Elmer, Packard Cobra II, Auto Gamma, USA) nakalibrovaném pro měření aktivity záření gama pro izotop jódu 125 I. [20]

6.6. Vyhodnocení výsledků měření PRA



Graf 1: Ukázka reálné kalibrační křivky pro PRA, jako výstup z analyzátoru COBRA 5005

STD #	CPM	DEFINE	% B/F	CALC.DOSE	% DIFF
1	DET. LIM	0.01862	98.97	0.01862	0
2	17984	0.3	86.05	0.29751	-0.83
3	13656	1	63.34	1.00278	0.28
4	8275	3	39.59	3.00745	0.25
5	3732	10	17.86	9.93472	-0.65
6	1197	50	5.73	50.47332	0.88

Curve fit	: LOGISTIC	Transform X	: LOG	Transform Y	: NONE
Corr. Coef	: 1.000			Slope	: -0.9806
Det. limit	: 0.0186			Para. Coeff.	: 1.000
%NSB/Total				%Ref/Total	: 65.634
ED20	: 8.4925	ED50	: 1.9330	ED80	: 0.4632
%Sigma Stad.	: 3.6274				
A	: 2097.8	B	: 0.981	C	: 1.851
				D	: 428.185
RMS	: 23.2358				

Tabulka 3: *Vyhodnocení parametrů kalibrace pro PRA, dle firemního protokolu na analyzátoru COBRA 5005*

7. Stanovení plazmatické koncentrace aldosteronu

Měření je prováděno pomocí komerční soupravy AIDOSTERONE RIA kit, Siemens Medical Solutions Diagnostics, kat. číslo TKAL1, dodávané firmou Lacomed s.r.o., ČR. Postup je validován pro klinické použití a splňuje požadavky normy ISO:15189 na in vitro diagnostiku, označené CE značkou.

7.1. Princip stanovení

Principem stanovení je založen na soutěži (kompetici) aldosteronu ze vzorku biologického materiálu (plazmy) s ^{125}I značeným aldosteronem o omezený počet vazebných míst specifické protilátky. Reakce probíhá ve zkumavkách potažených protilátkou proti aldosteronu, tedy jedná se o stanovení na pevné fázi. Po inkubaci, odsátí obsahu zkumavek a požadovaném promytí se měří radioaktivita vázané frakce ve zkumavce na odpovídajícím zařízení pro měření záření gama. Koncentrace aldosteronu ve vzorcích se odečítají z kalibrační křivky, přičemž mezi aktivitou vyjádřenou v CPM a koncentrací aldosteronu [ng/l] je nepřímá úměrnost. [21]

7.2. Biologický materiál

Odběr krve se provádí do obyčejných zkumavek nebo do zkumavek s přidavkem EDTA jako antikoagulátem. Ultracentrifugace se doporučuje při úpravě lipemických vzorků. Hemolyzované vzorky mohou být známkou nesprávného zacházení se vzorkem ještě před přijetím do laboratoře, proto by se mělo na tyto vzorky brát při měření ohled, popř. vysoce hemolyzované nepoužívat ke stanovení. [21] Vyšetření se tedy provádí ze vzorků plazmy, možné je i vyšetření ze séra nebo moče. Na oddělení klinické biochemie ve Fakultní nemocnici v Olomouci se provádí vyšetření pouze z plazmy, neboť se současně vyšetřuje také PRA.

7.3. Reagencie dodávané v soupravě

Soustava je dodávána pro 100 použití včetně kalibrační křivky a komerčního kontrolního materiálu. Před použitím necháme reagencie vytemperovat na pokojovou teplotu (20-25°C), k rozpouštění reagií použijeme destilovanou vodu. [21]

1. **¹²⁵I-ALDOSTERON: 1 lahvička, lyofilizovaná reagens**

Lyofilizovaný jodovaný aldosteron. Každou lahvičku rozpustíme přidáním 110 ml destilované vody. Necháme 10 minut stát a pak promícháme jemným převrácením lahvičky. Stabilní při teplotě 2 – 8°C po dobu 30 dnů po rozpuštění, nebo do data expirace, uvedeného na lahvičce. [21]

2. **ZKUMAVKY potažené protilátkou proti aldosteronu, 2 x 50 kusů, připravené k použití.**

Polypropylenové zkumavky potažené protilátkami proti aldosteronu, zabalené v sáčcích. Skladujeme v chladničce a chráníme před vlhkostí. Stabilní při teplotě 2 – 8°C po dobu jednoho roku od data výroby. [21]

3. **KALIBRÁTORY: 7 lahviček, lyofilizované reagens.**

Sedm lahviček, označených A až G, s lyofilizovaným upraveným lidským sérem. Nejméně 30 minut před použitím rozpustíme nulový kalibrátor A v 6,0 ml destilované vody, a každý ze zbývajících kalibrátorů, tedy B až G ve 3 ml destilované vody. Použijeme pipetu a promícháme jemným kroužením. Uchováváme zamrazené: stabilní při teplotě – 20°C po dobu 30 dnů po rozpuštění. Kvůli maximální stabilitě připravíme alikvoty a zamrazíme je. [21]

Všechny reagentie použijeme do doby expirace soupravy. Rozpuštěné kalibrátory pro další použití aliquotujeme a skladujeme do data expirace v alikvotech při teplotě minimálně -20 °C. [21]

Pro provedení analytického postupu je potřebný následující spotřební materiál a laboratorní vybavení:

- Destilovaná voda
- Laboratorní sklo
- Mikropipety se špičkami na jedno použití
- Stojan na zkumavky
- Detektor γ -záření nakalibrovaný pro měření ¹²⁵I
- Vibrační míchadlo typu vortex
- Zařízení k odsávání tekutin (vodní vývěva)

7.4. Omezení metodiky

Klinická významnost testu ALDO není spolehlivá, jestliže je test proveden na pacientech, kteří nejsou v kontrolovaných podmínkách, zejména v příjmu sodíku a draslíku, a kteří nezaujmají stanovenou polohu, nebo jimž byly podávány léky. Na výsledky testu může mít vliv bakteriální kontaminace nebo opakované zmrazování a rozmrazování vzorků. Důležité je zvládnutí techniky a dodržování návodu, zejména přesné pipetování. [21]

U vzorků, ve kterých je přítomnost bilirubinu v koncentracích do 200 mg/l nebo u vzorků, ve kterých je přítomnost shluků červených krvinek v koncentracích až do 30 μ l/ml, nemají žádný vliv na výsledky v rámci přesnosti tohoto stanovení. [21]

Kalibrátor 600 ng/l byl postupně ředěn dvěma různými směsnými lipemickými séry, což mělo za následek nárůst lipemie při současném poklesu koncentrace aldosteronu. Naředěné vzorky spolu s oběma směsnými séry bez přídavku kalibrátoru byly stanoveny podle postupu Coat-A-Count, předepsaného pro stanovení aldosteronu. Výsledky ukazují výbornou výtěžnost dokonce i při výrazné lipemii. Vzorky s očekávanou nebo nalezenou koncentrací ALDO vyšší než je koncentrace nejvyššího standardu je nutno ředit nulovým vzorkem (součástí soupravy). [21]

7.5. Postup stanovení

Očísľujeme duplicitně sérii zkumavek dle popisu:

Nepotažené zkumavky - označíme v duplikátech čtyři nepotažené polypropylenové zkumavky o rozměru 12 x 75 mm jako T (celkový počet impulsů) a NSB (nespecifická vazebnost). [21]

Potažené zkumavky - označíme v duplikátech čtrnáct potažených zkumavek C0 (maximální vazebnost) a C1 až C6. Označíme další zkumavky potažené protilátkou, také v duplikátech, pro kontroly a patientské vzorky čísla 1 – n, podle počtu patientských vzorků v připraveném pipetovacím protokolu. [21]

Do označených zkumavek postupně pipetujeme reagentie podle následující tabulky (tab. 4):

Reagens \ Zkumavky	Kalibrátory a kontrola	Vzorky pacientů	Zkumavky pro NSB, T
Kalibrátory nebo kontrola	200 μ l	-	-
Vzorky plazmy	-	200 μ l	-
¹²⁵ I-ALDO	1000 μ l	1000 μ l	1000 μ l

Tabulka 4: Pipetování jednotlivých reagensů do zkumavek

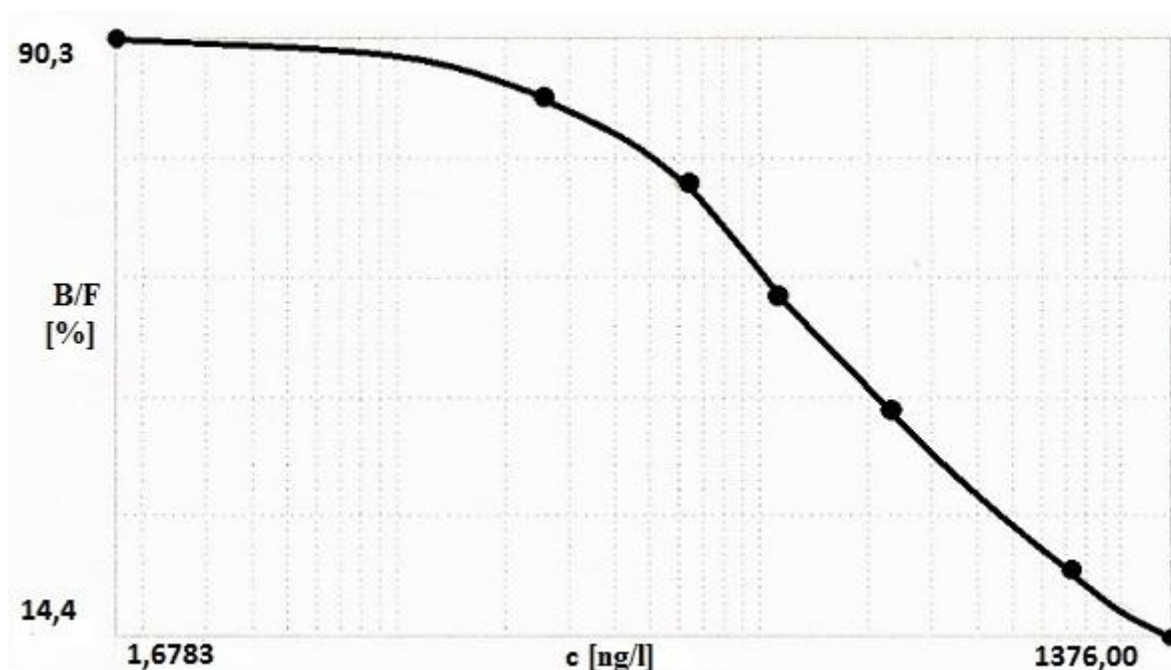
[21]

Obsah zkumavek promícháme na třepače. Poté necháme inkubovat 18 hodin při pokojové teplotě (20-25°C), bez třepání.

Po inkubaci opatrně odsajeme obsah zkumavek (s výjimkou dvou zkumavek na stanovení celkové aktivity T.) Po tomto kroku změříme radioaktivitu ¹²⁵I ve zkumavkách na analyzátoru COBRA 5005 (Perkin Elmer, Packard Cobra II, Auto Gamma, USA) nakalibrovaném pro měření aktivity záření gama pro izotop jódu ¹²⁵I. Radioaktivitu měříme po dobu 1 minuty a vyhodnotíme odpovídajícím RIA programem.

[21]

7.6. Vyhodnocení výsledků měření ALDO



Graf 2: Ukázka reálné kalibrační křivky pro aldosteron, jako výstup z analyzátoru COBRA 5005

STD #	CPM	DEFINE	% B/F	CALC.DOSE	% DIFF
1	DET. LIM	1.67826	90.34	1.6347	-2.31
2	12530	25	82.9	25.0001	0
3	10899	62	72.03	62.0001	0
4	8781	114	97.91	113.997	0
5	6517	229	42.83	228.001	0
6	3476	723	22.57	722.9877	0
7	2249	1376	14.38	1376.001	0

Curve fit	: AUTO SPLINE	Transform Y	: NONE
Corr. Coef	: 1.000	Transform X	: LOG
Det. limit	: 1.6873	Slope	:
%NSB/Total	: 0.3219	Para. Coeff.	: 1.000
ED20	: 872.91	%Ref/Total	: 53.036
%Sigma Stad.	: 2.1715	ED50	: 161.52
RMS	: 0.25612	ED80	: 34.957
# Infl. Pts.	: 1	# Infl. Pts.	: 97.7419

Tabulka 5: *Vyhodnocení parametrů kalibrace pro aldosteron, dle firemního protokolu na analyzátoru COBRA 5005*

8. Výsledky pacientů

Pro vyhodnocení výsledků měření ARR, jsme použili data pacientů z Oddělení klinické biochemie Fakultní nemocnice v Olomouci, kteří byli hospitalizováni v rozmezí dat 1.1.2012 – 31.12.2012. Vybráno bylo 50 pacientů s již primárně diagnostikovaným onemocněním (vysvětlivky diagnóz v tabulce 7), všechny výsledky byly zpracovány do přehledné tabulky (tabulka 6).

Pacient	Zákl. diagnóza	Diagnóza1	ALDO	PRA	ALDO/PRA
1	I10		156	3,81	4,1
2	I10		57	9,37	0,6
3	I10		145	1,75	8,3
4	I150		518	0,97	53,4
5	I150		50	1,46	3,4
6	I152	E119	141	36,11	0,4
7	I159		71	0,18	39,4
8	I428		62	2,55	2,4
9	I460		44	0,52	8,5
10	I10		53	1,06	5,0
11	I209		158	1,65	9,6
12	I259		76	0,36	21,1
13	I259		86	0,10	86,0
14	I10		110	0,86	12,8
15	I10		148	2,44	6,1
16	I219		29	0,55	5,3
17	I219		7	3,40	0,2
18	I219		20	0,40	5,0
19	I219		14	0,53	2,6
20	I219		52	0,54	9,6
21	I219		20	0,10	20,0
22	I219		40	0,67	6,0
23	I219		53	0,84	6,3
24	I460		36	0,49	7,3
25	I10		135	0,15	90,0
26	I10		158	1,41	11,2
27	I10		120	4,15	2,9
28	I10		34	4,45	0,8
29	I259		41	3,87	1,1
30	I259		121	9,42	1,3
31	I259		125	0,28	44,6
32	I278		44	0,34	12,9
33	I340		824	10,17	8,1
34	I350	E785	399	4,43	9,0
35	I674		123	1,54	8,0
36	I709		283	1,99	14,2
37	I10		29	0,13	22,3
38	I10		44	0,59	7,5
39	I501		58	0,79	7,3
40	I10		44	1,05	4,2
41	I10		78	0,46	17,0
42	I10		232	0,46	50,4
43	I10		280	2,85	9,8
44	I10		74	0,46	16,1
45	I493		701	16,90	4,1
46	I499	I259	47	1,34	3,5
47	I500		45	0,49	9,2
48	I500		92	4,36	2,1
49	I500		33	0,32	10,3
50	I500		217	0,31	70,0

Tabulka 6: Zpracování laboratorních dat aldosteron/renin

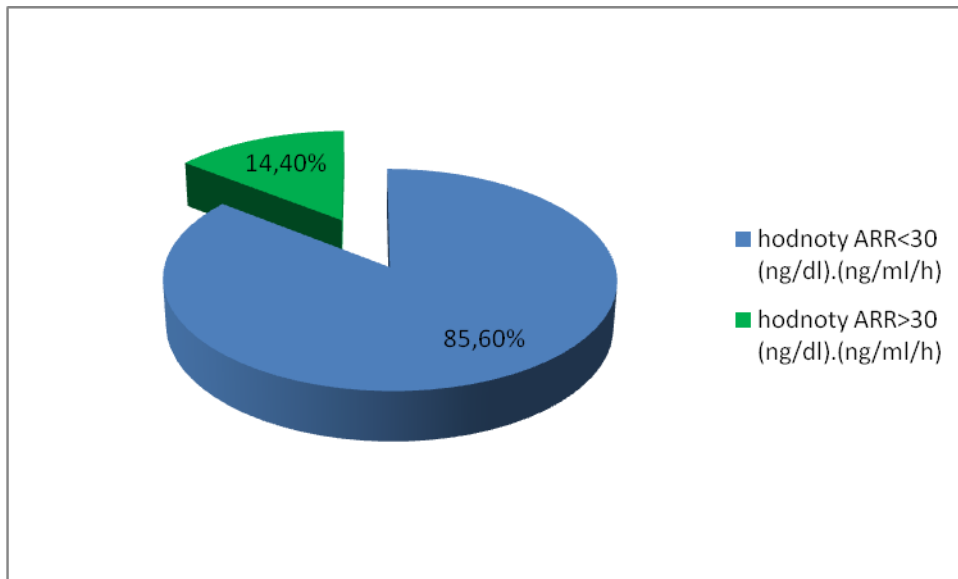
I10	primární hypertenze	I350	stenóza aortální chlopně
I150	renovaskulární hypertenze	I428	jiné kardiomyopatie
I152	sekundární hypertenze	I460	srdeční zástava, s resuscitací
I159	sekundární hypertenze	I493	předčas. depolarizace komor
I209	angina pectoris	I499	srdeční arytmie
I219	akutní infarkt myokardu	I500	městnavé selhání srdce
I259	chronické ICHS	I501	selhání levé komory
I278	kardiopulmolární nemoci	i674	hypertenzní encefalopatie
I340	insuficience mitrální chlopně	I709	gen. a neurč. ateroskleróza
E119	bez komplikací	E785	hyperlipidémie

Tabulka 7: Vysvětlivky pro jednotlivá diagnostikovaná onemocnění

[17]

8.1. Zhodnocení významu laboratorních vyšetření

Vyšetření ARR bylo prováděno na vybraném vzorku 50 pacientů. Převážně se jednalo o pacienty z I. Interní kardiologické a III. Interní endokrinologické kliniky Fakultní nemocnice v Olomouci, kde jim byla již diagnostikována primární onemocnění (viz tabulka 6). Na základě vyšetření ARR jsme získali laboratorní hodnoty. Zpracováním tabulky (tabulka 7) do grafu (graf 3), můžeme pozorovat, že z celkového počtu 50 vyšetřovaných pacientů, nám do oblasti hodnot nad 30 (ng/dl).(ng/ml/h), což je bráno jako abnormální hodnota, spadá 14,4 % pacientů. Tady se nám potvrdil výskyt sekundární hypertenze (viz kapitola 4.), která se v literatuře uvádí přibližně u 5 - 15% dospělých hypertoniků.



Graf 3: *Vyhodnocení výsledků ARR*

Na základě těchto výsledků je lékař schopen určit, jaké onemocnění sekundární hypertenzi způsobuje. Nejčastější příčinou jsou obvykle renovaskulární hypertenze, tumor secernující renin, chronická insuficience ledvin a především primární hyperaldosteronismus.

Stanovení uvedených parametrů lze tedy využít ke sledování účasti systému renin-angiotenzin-aldosteron na patogenezi hypertenze, edémových stavů a dalších poruch elektrolytové, objemové a tlakové homeostázy. [19]

Závěr

Cílem bakalářské práce bylo objasnění problematiky hypertenze, se zaměřením na endokrinně podmíněnou hypertenzi. Práce je rozdělena na část teoretickou a část experimentální.

Pod pojmem hypertenze většinou rozumíme chronické zvyšování systémového tlaku krve. To je způsobeno tím, že méně prokrvená tkáň ledvin vede k aktivaci sympatiku a systému RAAS. Endokrinně podmíněná hypertenze se řadí mezi sekundární formy vysokého krevního tlaku. Na rozdíl od esenciální hypertenze je v tomto případě vysoký krevní tlak způsoben konkrétní příčinou, která je často odstranitelná. Závažným důvodem, proč bychom se měli snažit odhalit tuhle formu hypertenze, je velké riziko kardiovaskulárních komplikací, které jsou dané nejen samotnou hypertenzí, ale i přímým poškozením cévních stěn. Právě možnost úplného vyléčení či zabránění vzniku dalších komplikací, je jeden z hlavních důvodů, proč bychom měli na tuhle formu hypertenze pomýšlet i v běžné praxi.

Základní metodou určenou pro screening endokrinně podmíněné hypertenze je podíl plazmatického aldosteronu a plazmatické reninové aktivity (ARR). Tato metoda by se měla provádět u všech hypertoniků s náhodně zjištěným tumorem ledvin, u hypertoniků s kardiovaskulárními onemocněními v mladém věku, a také u hypertoniků, u nichž je nedostatečná odpověď na léčbu.

Screeningové vyšetření bylo prováděno na vzorku vybraných pacientů převážně ze dvou interních klinik Fakultní nemocnice v Olomouci. Tito pacienti byli hospitalizováni většinou s kardiovaskulárním onemocněním. Laboratorním měřením jsme došli k výsledku, že u 14, 4% vyšetřovaných pacientů, hodnota koncentrací překročila hranici 30 (ng/dl).(ng/ml/h), která je považována za patologickou, tedy takovou, kdy by pacient měl být léčen.

Arteriální hypertenze, je závažný klinický problém. Avšak preventivním opatřením nejen pro rizikovou populaci, ale pro populaci obecně, je změna životního stylu, která by měla být prvním opatřením, před nasazením jakékoli medikamentózní léčby.

Seznam použité literatury

- [1] BROULÍK, P. a kol.: Endokrinní hypertenze. Praha: Galén, 2004. 208 s. ISBN 80-7262-270-6
- [2] CHROMÝ, V. a kol.: Management kvality v analytické a klinické chemii. Brno: Pro ústav chemie PřF MU vydala Spektroskopická společnost Jana Marka Marci, 2009. 215 s. ISBN 978-80-903732-6-6
- [3] JABOR, A. a kol.: Preanalytická faze. Praha: Česká společnost klinické biochemie ČLS JEP : SEKK, 2005. 144 s. ISBN 80-239-5198-X
- [4] MAREK, J. a kol.: Farmakoterapie vnitřních nemocí – 4., zcela přepracované a doplněné vydání. Praha: Grada, 2010, 777s., ISBN 978-80-247-2639-7
- [5] NOVOTNÝ, I. – HRUŠKA, M.: Biologie člověka pro gymnasia - 4.rozšířené a přepracované vydání. Praha: Fortuna, 2007, 239 s. ISBN 978-80-7373-007-9
- [6] RACEK, J.: Klinická biochemie. Praha: Galén, 2006. 329 s. ISBN 80-7262-324-9
- [7] ŠTERN, P. a kol.: Obecná a klinická biochemie pro bakalářské obory studia – 2. upravené vydání. Praha: Karolinum, 2007, 269 s. ISBN 978-80-246-1978-8
- [8] VÍTOVEC, J. – ŠPINAR, J. a kol.: Farmakoterapie kardiovaskulárních onemocnění – 2. přepracované a doplněné vydání. Praha: Grada Publishing, 2004, 248 s. ISBN 80-247-0866-3
- [9] ZIMA, T. – KAZDA, A. a kol.: Laboratorní diagnostika – 2. doplněné a přepracované vydání. Praha: Galén, 2002, 906 s. ISBN 978-80-7262-372-3
- [10] BULTAS, J.: Inhibitory ACE nebo sartany – které vybrat?. Practicus [online]. 9/2007, [cit. 2013-01-15]. Dostupný z [www:](http://web.practicus.eu/Documents/Practicus-9-2007/9-inhibitory-ACE.pdf)
<http://web.practicus.eu/Documents/Practicus-9-2007/9-inhibitory-ACE.pdf>

- [11] ŘÍHÁČEK, I.: Sekundární hypertenze. Practicus [online]. 7/2011, [cit. 2013-01-15]. Dostupný z www:
<http://web.practicus.eu/sites/cz/Documents/Practicus-2011-07/21-Sekundarni-hypertenze.pdf>
- [12] WIDIMSKÝ, J.: Sekundární hypertenze: stručný přehled a nejčastější formy. Medical Tribune [online]. 9/2012, [cit. 2013-01-18]. Dostupný z www:
<http://www.tribune.cz/clanek/27952-sekundarni-hypertenze-strucny-prehled-a-nejcastejsi-formy>
- [13] HONZÍKOVÁ, K.: Esenciální hypertenze u dětí a dospívajících. Disertační práce, 2011, Masarykova Univerzita v Brně
- [14] <http://en.wikipedia.org/wiki/Aldosterone>, [cit. 2013-01-18].
- [15] <http://en.wikipedia.org/wiki/Angiotensin>, [cit. 2013-01-18].
- [16] <http://en.wikipedia.org/wiki/Renin>, [cit. 2013-01-15].
- [17] <http://ordinace.cz/kody-diagnoz/>, [cit. 2013-03-9].
- [18] <http://pfyziolfup.upol.cz/castwiki2/?p=5063>, [cit. 2013-02-22].
- [19] <http://www.imalab.cz/clanek/184-para-plasmaticka-reninova-aktivita.aspx>, [cit. 2013-03-13]
- [20] http://www.kcsolid.cz/zdravotnictvi/in_vitro/navody-2010/en/hypertenze/ca60410.pdf, [cit. 2013-04-11].
- [21] http://www.medizin.unikoeln.de/institute/kchemie/Diagnostik/Parameter/Testkits/Siemens/SM_Aldosteron.pdf, [cit. 2013-04-12].
- [22] <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Aldosteron>, [cit. 2013-01-18].
- [23] http://www.wikiskripta.eu/index.php/Renin-angiotenzin-aldosteronov%C3%BD_syst%C3%A9m, [cit. 2013-01-15].

[24] <http://zdravi.e15.cz/clanek/postgradualni-medicina/primarni-aldosteronismus-nejcastejsi-forma-sekundarni-hypertenze-454807>, [cit. 2013-03-10]

[25] PETRŽELOVÁ, M.: Hypertenze a její souvislost s životním stylem. Bakalářská práce, 2009, Masarykova Univerzita v Brně

[26] SVITÁKOVÁ, K.: Diagnostika a intervenční léčba renovaskulární hypertenze. Bakalářská práce, 2011, Univerzita Palackého v Olomouci

Seznam použitých obrázků

[1] Aldosteron. [online], [cit. 2013-02-27]. Původní obrázek ve formátu JPEG. Dostupné z: <http://sestra.org/Aldosteron>

[2] Angiotensin. [online], [cit. 2013-03-7]. Původní obrázek ve formátu JPEG. Dostupné z: http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?term=Angiotensine+I&lang=4

[3] Cholesterol. [online], [cit. 2013-02-27]. Původní obrázek ve formátu JPEG. Dostupné z: <http://www.trvale-chudnutie.sk/encyklopedie/cholesterol>

[4] Ledviny. [online], [cit. 2013-02-16]. Původní obrázek ve formátu JPEG. Dostupné z: <http://www.profimedia.cz/fotografie/ledviny-kresleni/0071250742/>

[5] Renin-angiotensin-aldosterone system. [online], [cit. 2013-01-18]. Původní obrázek ve formátu PNG. Dostupné z: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Renin-angiotensin-aldosterone_system.png

[6] Super Family Acid Protease. [online], [cit. 2013-01-19]. Původní obrázek ve formátu JPEG. Dostupné z: http://www.callutheran.edu/BioDev/omm/hiv_protease/frames/family.htm

[7] Urinary system. [online], [cit. 2013-01-18]. Původní obrázek ve formátu JPEG. Dostupné z: http://droualb.faculty.mjc.edu/Lecture%20Notes/Unit%206/urinary_system%20Spring%202007%20with%20figures.htm

[8] Vylučovací soustava. [online], [cit. 2013-02-16]. Původní obrázek ve formátu JPEG. Dostupné z: http://www.mojebiologie.cz/m/doku.php?id=vylucovaci_soustava