

Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

Wydział Lekarski

**Adam Bednarski**

*Udział czynnika wzrostu śródbłónka naczyniowego  
typu C (VEGF-C) w regulacji zależności między  
spożyciem sodu a ciśnieniem tętniczym.*

*Praca doktorska*

Promotor: Dr hab. n. med. Katarzyna Stolarz-Skrzypek, prof. UJ

Pracę wykonano w **I Klinice Kardiologii i Elektrokardiologii Interwencyjnej oraz Nadciśnienia Tętniczego Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum** (kierownik: Prof. dr hab. n. med. Danuta Czarnecka)

Kraków, 2017 rok

Niniejsza rozprawa doktorska została wykonana w ramach projektu „Znaczenie pozanerkowych mechanizmów homeostazy sodowej w regulacji ciśnienia tętniczego” programu POMOST Fundacji na rzecz Nauki Polskiej, współfinansowanego przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego.

Pragnę serdecznie podziękować mojej Promotor,  
Pani Profesor Katarzynie Stolarz-Skrzypek za pomoc,  
której udzieliła mi w trakcie realizacji niniejszej pracy doktorskiej.

## SPIS TREŚCI

Spis tabel i rycin	6
Wykaz skrótów	8
Wstęp	10
Wprowadzenie	10
Nadciśnienie tętnicze	10
Historia badań nad nadciśnieniem	11
Przyczyny nadciśnienia tętniczego	12
Epidemiologia nadciśnienia	13
Sód a nadciśnienie	13
Homeostaza wodno-elektrolitowa	13
Homeostaza sodu	16
Epidemiologia podaży sodu	17
Sód a nadciśnienie tętnicze	18
Historia	18
Dowody dotyczące związku spożycia sodu z ciśnieniem tętniczym	20
Dowody dotyczące związku spożycia sodu z rozwojem nadciśnienia tętniczego	22
Wpływ spożycia sodu na zdarzenia sercowo-naczyniowe	23
Nadciśnienie sodowrażliwe	25
Epidemiologia sodowrażliwości	27
Czynniki rodzinne i genetyczne sodowrażliwości	29
Patofizjologia nadciśnienia sodowrażliwego	29
Ciśnienie a śródbłonkowy czynnik wzrostu naczyń	30
Terapia przeciwingienna	30
Nadciśnienie tętnicze u osób w trakcie terapii przeciwingiennej	32
Wpływ VEGF-C na homeostazę sodową	33
<i>Hipoteza badawcza</i>	35
<i>Cel badania</i>	36
Metodologia	36
Metodyka badań klinicznych	36
Protokół badania	36
Badanie podmiotowe	37
Pomiary antropometryczne	37
Pomiar składu ciała	38
Pomiary ciśnienia tętniczego krwi metodą tradycyjną	38
Całodobowa automatyczne monitorowanie ciśnienia tętniczego	38

Badania laboratoryjne _____	39
Metodologia oznaczeń litu _____	40
Metody statystyczne _____	41
Wyniki _____	42
Charakterystyka badanej populacji _____	42
Zmienne powiązane _____	48
Zależność między stężeniem VEGF-C a wartościami ciśnienia tętniczego _____	48
Determinanty osoczkowego stężenia VEGF-C _____	54
Wpływ na ciśnienie tętnicze interakcji pomiędzy osoczkowym stężeniem VEGF-C a wydalaniem sodu ____	57
Wnioski _____	60
Dyskusja _____	60
Spożycie sodu w badanej populacji _____	60
Wpływ VEGF na ciśnienie tętnicze _____	61
VEGF-C a sodowrażliwość _____	62
Wpływ leków przeciwnadciśnieniowych na gospodarkę sodową _____	62
Czynniki zapalne w nadciśnieniu tętniczym _____	63
Wolemia a nadciśnienie tętnicze _____	64
Nadciśnienie tętnicze a aldosteron _____	65
Gospodarka sodowa a profil dobowy ciśnienia tętniczego _____	66
Streszczenie _____	68
Abstract _____	71
Bibliografia _____	73

## SPIS TABEL I RYCIN

Tabela 1 Mechanizmy kontroli objętości płynu zewnątrzkomórkowego.....	15
Tabela 2 Charakterystyka populacji z podziałem na grupę pokoleniową i płeć .....	45
Tabela 3 Wyniki całodobowego monitorowania ciśnienia tętniczego oraz bioimpedancji w badanej populacji z podziałem na grupę pokoleniową i płeć.....	46
Tabela 4 Wyniki oznaczeń laboratoryjnych w badanej populacji .....	47
Tabela 5 Wyniki regresji wieloczynnikowej. Stężenie śródbłonkowego czynnika wzrostu naczyń typu C w surowicy a wartości ciśnienia tętniczego w całodobowym monitorowaniu w badanej populacji .....	50
Tabela 6 Wyniki regresji wieloczynnikowej. Stężenie śródbłonkowego czynnika wzrostu naczyń typu C w surowicy a wartości ciśnienia tętniczego w całodobowym monitorowaniu w populacji nieleczonej hipotensyjnie.....	51
Tabela 7 Wyniki regresji wieloczynnikowej. Stężenie śródbłonkowego czynnika wzrostu naczyń typu C w surowicy a wartości ciśnienia tętniczego w całodobowym monitorowaniu w populacji leczonej hipotensyjnie .....	51
Tabela 8 Wyniki regresji wieloczynnikowej. Stężenie śródbłonkowego czynnika wzrostu naczyń typu C w surowicy a wartości ciśnienia tętniczego w całodobowym monitorowaniu w populacji nieleczonej hipotensyjnie (wykluczając CRP > 5 mg/l).....	52
Tabela 9 Wyniki regresji wieloczynnikowej. Stężenie śródbłonkowego czynnika wzrostu naczyń typu C w surowicy a wartości ciśnienia tętniczego w całodobowym monitorowaniu w populacji leczonej hipotensyjnie (wykluczając CRP > 5 mg/l) .....	52
Tabela 10 Wyniki regresji wieloczynnikowej. Stężenie śródbłonkowego czynnika wzrostu naczyń typu C w surowicy a wartości ciśnienia tętniczego w całodobowym monitorowaniu w populacji nieleczonej hipotensyjnie i z cząstkowym wydalaniem litu przekraczającym medianę w badanej populacji .....	53
Tabela 11 Wyniki regresji wieloczynnikowej. Stężenie śródbłonkowego czynnika wzrostu naczyń typu C w surowicy a wartości ciśnienia tętniczego w całodobowym monitorowaniu w populacji nieleczonej hipotensyjnie i z cząstkowym wydalaniem litu mniejszym niż mediana w badanej populacji .....	53
Tabela 12 Wyniki analizy korelacji pomiędzy osoczym stężeniem VEGF-C a poszczególnymi zmiennymi.	55
Tabela 13 Wyniki analizy regresji krokowej pomiędzy osoczym stężeniem VEGF-C a poszczególnymi zmiennymi.....	55
Tabela 14 Wyniki regresji wieloczynnikowej. Wpływ interakcji pomiędzy stężeniem śródbłonkowego czynnika wzrostu naczyń typu C a wydalaniem sodu na wartości ciśnienia tętniczego w całodobowym monitorowaniu w badanej populacji.....	58
Tabela 15 Wyniki regresji wieloczynnikowej. Wpływ interakcji pomiędzy stężeniem śródbłonkowego czynnika wzrostu naczyń typu C a wydalaniem sodu na wartości ciśnienia tętniczego w całodobowym monitorowaniu w populacji nieleczonej hipotensyjnie .....	59

Tabela 16 Wyniki regresji wieloczynnikowej. Wpływ interakcji pomiędzy stężeniem śródbłonkowego czynnika wzrostu naczyń typu C a wydalaniem sodu na wartości ciśnienia tętniczego w całodobowym monitorowaniu w populacji leczonej hipotensyjnie .....	59
Rycina 1 Schemat przebiegu badania .....	37
Rycina 2 Stężenie VEGF-C w surowicy u osób chorujących na nadciśnienie tętnicze i u pozostałych uczestników badania. ....	56

## WYKAZ SKRÓTÓW

ABPM – (ang. ambulatory blood pressure monitoring) ambulatoryjne monitorowanie ciśnienia tętniczego

ADH – (ang. antidiuretic hormon) hormon antydiuretyczny, wazopresyna

AT – angiotensyna

BF – (ang. body fat) tłuszcz organizmu

BMI – (ang. body mass index) wskaźnik masy ciała

BP – (ang. blood pressure) ciśnienie tętnicze

cAMP – (ang. cyclic adenosine monophosphate) cykliczny adenozylo-3',5'-monofosforan

cGMP - (ang. cyclic guanosine monophosphate) cykliczny guanozylo-3',5'-monofosforan

CI – (ang. confidence interval) przedział ufności

Cl – chlor

CRP – (ang. C-reactive protein) białko C-reaktywne

DBP – (ang. diastolic blood pressure) rozkurczowe ciśnienie tętnicze

ECF – (ang. extracellular fluid) płyn zewnątrzkomórkowy

eGFR – (ang. estimated glomerular filtration rate) oszacowane przesączanie kłębuszkowe

ELISA – (ang. enzyme-linked immunosorbent assay) test immunoenzymatyczny

eNOS – (ang. endothelial nitric oxide syntaze) – śródbłonkowa syntaza tlenu azotu

EPOGH – (ang. European Project on Genes in Hypertension) Europejski Projekt Badania Genów w Nadciśnieniu Tętniczym

ESH – (ang. European Society of Hypertension) Europejskie Towarzystwo Nadciśnienia Tętniczego

FDRNa - (ang. fractional distal reabsorption of sodium) cząstkowa reabsorpcja sodu w cewce dalszej

FELi – (ang. fractional excretion of lithium) cząstkowe wydalanie litu

FENa – (ang. ang. fractional excretion of sodium) cząstkowe wydalanie sodu

HDL – (ang. high density lipoprotein) lipoproteiny wysokiej gęstości

HGB – (ang. hemoglobin) hemoglobina



HR – (ang. hazard ratio) ryzyko względne

HTC – (ang. hematocrit) hematokryt

ICF – (ang. intracellular fluid) płyn wewnątrzkomórkowy

Il-6 – (ang. interleukin 6) interleukina 6

K – (łac. kalium) potas

LBW – (ang. lean body weight) beztłuszczowa masa ciała

LDL – (ang. low density lipoprotein) lipoproteiny niskiej gęstości

mm Hg – milimetry słupa rtęci

MPO – (ang. myeloperoxidase) mieloperoksydaza

MPS – (nag. mononuclear phagocyte system) system fagocytów jednojądrzastych

MR – (ang. mineralocorticoid receptor) receptor mineralokortykosteroidowy

mRNA – (ang. messenger ribonucleic acid) informacyjny kwas rybonukleinowy

Na – (łac. natrium) sód

OR – (ang. odd ratio) iloraz szans

PP – (ang. pulse pressure) ciśnienie tętna

RAA – renina-angiotensyna-aldosteron

RBC – (ang. red blood cells) erytrocyty

SBP – (ang. systolic blood pressure) skurczowe ciśnienie tętnicze

TBW – ( ang. total body water) całkowita zawartość wody w organizmie

TGF – (ang. transforming growth factor) transformujący czynnik wzrostu

TNF – (ang. tumor necrosis factor) czynnik martwicy nowotworów

VEGF – (ang. vascular endothelial growth factor) śródbłonkowy czynnik wzrostu naczyń

VEGFR – (ang. vascular endothelial growth factor - receptor) receptor dla śródbłonkowego czynnika wzrostu naczyń

WBC – (ang. white blood cells) leukocyty

WHO – (ang. World Health Organisation) Światowa Organizacja Zdrowia

WHR – (waist to hip circumference ratio) wskaźnik stosunku obwodów talii do bioder

## WSTĘP

### WPROWADZENIE

Nadciśnienie tętnicze jest jedną z najczęściej występujących w populacji chorób i stanowi główny czynnik ryzyka rozwoju innych schorzeń sercowo-naczyniowych i niewydolności nerek. W związku z jego wpływem na zdrowie całej populacji bardzo istotną kwestią pozostaje skuteczne zapobieganie, rozpoznawanie i leczenie nadciśnienia tętniczego. Badania naukowe starają się nadal zidentyfikować kolejne przyczyny rozwoju tej powszechnej choroby. Współcześnie przyjmuje się, że etiologia nadciśnienia jest wieloczynnikowa - lista potencjalnych przyczyn w postaci mutacji genów, zaburzeń metabolicznych, hormonalnych jest bardzo długa i wciąż niewyczerpana. Związek między spożyciem sodu, makroelementu niezbędnego do prawidłowego funkcjonowania organizmu, a rozwojem nadciśnienia jest przedmiotem ciągłej debaty już od kilku dekad. Chociaż większość towarzystw naukowych zaleca u osób z nadciśnieniem ograniczenie spożywanego sodu, wciąż pojawiają się sprzeczne dowody co do rzeczywistego wpływu tego kationu na rozwój nadciśnienia i w konsekwencji na śmiertelność sercowo-naczyniową. Kontynuowane są również badania nad fenomenem heterogenicznej odpowiedzi ciśnienia tętniczego na zmianę podaży sodu u różnych osób, czyli tzw. sodowrażliwość. Jedną z wielu teorii starających się tłumaczyć to zjawisko jest wpływ fagocytów jednojądrzastych i wydzielanego przez nie śródbłonkowego czynnika wzrostu naczyń (VEGF) na homeostazę sodową i sodowrażliwość ciśnienia.

U podłoża tych rozważań stoją badania na modelu zwierzęcym, pokazujące kluczowe znaczenie szlaku metabolicznego VEGF dla stabilizacji ciśnienia tętniczego oraz obserwacje częstszego rozwoju nadciśnienia u chorych, u których z powodu nowotworu złośliwego rozpoczęto terapię inhibitorami angiogenezy. Poznanie nowych mechanizmów rozwoju nadciśnienia mogłoby pomóc w opracowaniu nowych, skuteczniejszych leków i w rezultacie ochronić populację przed groźnymi skutkami nadciśnienia tętniczego.

### NADCIŚNIENIE TĘTNICZE

Nadciśnienie tętnicze w polskiej populacji występuje u ponad połowy osób powyżej 50 roku życia. Stanowi ono główny czynnik ryzyka występowania chorób sercowo-naczyniowych, które są pierwszą przyczyną zgonów w krajach rozwiniętych. Zarówno

rozpowszechnienie, jak i istotny wpływ na śmiertelność, czynią z tej choroby główne wyzwanie współczesnej medycyny (1).

#### HISTORIA BADAŃ NAD NADCIŚNIENIEM

Historia badań nad nadciśnieniem zaczęła się wraz z rozwojem odpowiednich technik do pomiaru ciśnienia krwi. Wielebny Stephen Hales jest powszechnie uznawany za pierwszą osobę, która zmierzyła ciśnienie bezpośrednio w tętnicy u konia już w 1733 roku. Prawie sto lat później wynalezione zostały sfigmomanometry - urządzenia do nieinwazyjnego pomiaru ciśnienia tętniczego u ludzi. Kolejnym przełomem było opisanie przez Korotkowa w 1905 roku dźwięków towarzyszących pojawieniu się fali tętna, co niezwykle ułatwiło pomiar ciśnienia. Ostatecznie pod koniec XX wieku wprowadzono urządzenia do elektronicznego pomiaru ciśnienia (2).

Pierwsze raporty sporządzane w latach 20. XX wieku głównie przez amerykańskie firmy ubezpieczeniowe opisywały wzrost skurczowego i rozkurczowego ciśnienia tętniczego wraz z wiekiem i wzrostem masy ciała, niższe ciśnienie tętnicze u kobiet oraz wskazywały na wyższą śmiertelność u osób z ciśnieniem powyżej średniej populacyjnej (3). W latach 30-tych, 50-tych i 70-tych amerykańskie Towarzystwo Aktuariuszy publikowało raporty przedstawiające coraz dokładniejsze dane na temat epidemiologii i wpływu nadciśnienia na zdrowie (4–6). Początkowo informacje zawarte w raportach były poddawane krytyce ze względu na reprezentację ograniczoną tylko do osób z polisą ubezpieczeniową, jednak późniejsze badania w populacji ogólnej potwierdziły i rozszerzyły podstawowe wnioski z raportów ubezpieczeniowych. Badania takie dla uzyskania twardych punktów końcowych wymagały jednak dość długiego okresu obserwacji. I tak, w roku 1993 opublikowano wyniki badania Multiple Risk Factor Intervention Trial, obejmujące kohortę ponad 350 000 mężczyzn, w którym potwierdzono liniowy związek zwiększonego ciśnienia skurczowego i rozkurczowego ze śmiertelnością w chorobie niedokrwiennej serca i schyłkowej niewydolności nerek, rozpoczynający się już od wartości 120 mm Hg ciśnienia skurczowego (7). Wcześniejsze obserwacje zostały w pełni potwierdzone przez dane z badania Framingham Heart Study - badania obserwacyjnego prowadzonego od 1948 r., obejmującego  $\frac{2}{3}$  populacji miasteczka Framingham w stanie Massachusetts, z rozszerzeniem grupy w 1971 r. o dzieci i w 2002 r. o wnuki osób z oryginalnej populacji. Stwierdzono w nim m.in., że już u osób z wysokim prawidłowym ciśnieniem tętniczym

ryzyko wystąpienia choroby sercowo-naczyniowej wzrasta 2,5-krotnie u kobiet i 1,6-krotnie u mężczyzn (8).

Chociaż przyjęte są ściśle punkty odcięcia dla rozpoznawania nadciśnienia, ciśnienie tętnicze należy rozpatrywać jako cechę ilościową nie jakościową, co oznacza, że istnieje liniowa zależność pomiędzy ciśnieniem a ryzykiem sercowo-naczyniowym. W opublikowanej w 2002 roku metaanalizie 61 badań prospektywnych obejmujących ponad 1 mln osób dorosłych, wykazano, że wzrost śmiertelności z przyczyn sercowo-naczyniowych zaczyna się już od wartości ciśnienia tętniczego 115/75 mm Hg (9).

#### PRZYZNY NADCIŚNIENIA TĘTNICZEGO

Uznanie rozpowszechnienia nadciśnienia tętniczego w populacji i coraz więcej dowodów na jego znaczenie kliniczne wywołały nieprzerwane poszukiwania przyczyn nadciśnienia tętniczego. Początkowe hipotezy wiązały nadciśnienie wyłącznie z patologią nerki, ale późniejsze obserwacje wykazały, że nadciśnienie tętnicze może wystąpić bez jawnej choroby nerek i poprzedza rozwój miażdżycy (10). Z tego okresu pochodzi termin "nadciśnienie pierwotne" (fr. hypertension essentielle) zaproponowane przez Mahomeda i Otto Franka. Sugerowali oni, że wzrost ciśnienia krwi jest reakcją na niedokrwienie tkanek spowodowane zwężonymi tętniczkami. Pojawiła się hipoteza, że podwyższone ciśnienie jest koniecznością, wynikającą ze starzenia się organizmu, co zniechęciło do prób jego obniżania (11). Przez cały XX wiek zaproponowano wiele hipotez w celu wyjaśnienia patofizjologii nadciśnienia. Już od pojawienia się 1949 roku, zaproponowanej przez Page'a, "teorii mozaiki" (12) największą popularnością i spójnością naukową cieszy się hipoteza wieloczynnikowej etiologii nadciśnienia (13,14).

W ustaleniu mechanizmów powstania nadciśnienia bardzo pomocne były odkrycia przyczyn wtórnego nadciśnienia. Guz chromochłonny był pierwszą znaną przyczyną nadciśnienia opisaną przez Frankela już w 1886 roku (15). W 1932 roku wykazano, że jednostronne zwężenie tętnicy nerkowej (u psa, przy użyciu zacisku) powoduje nadciśnienie, które ustępuje przy usunięciu zacisku lub jednostronnej nefrektomii (16). Zidentyfikowany następnie czynnik wytwarzany przez niedokrwione nerki nazwano reniną. W 1932 roku Cushing opisał grupę 12 przypadków z charakterystycznymi objawami, w tym z nadciśnieniem, u których podłoża leżała nadmierna produkcja kortyzolu (17). W latach 50. Lityński, a po nim Conn zidentyfikowali jako przyczynę nadciśnienia guz nadnercza produkujący aldosteron (18).

## EPIDEMIOLOGIA NADCIŚNIENIA

Szacuje się, że do 2025 roku liczba osób z nadciśnieniem tętniczym na świecie wzrośnie do ok. 1,5 mld WHO (World Health Organisation – Światowa Organizacja Zdrowia). W Polsce liczba osób z nadciśnieniem także rośnie, odsetek chorych w dorosłej populacji zwiększył się z 30 % w 2002 r. do 32 % (9,5 mln) w 2011 r. (19). Prognozuje się, że do 2035 r. liczba hipertoniców wzrośnie jeszcze o 50 % (19). Na podstawie danych epidemiologicznych nadciśnienie można uznać za najważniejszy czynnik ryzyka tzw. śmiertelności przypisanej (20). Szczególnie ścisła korelacja występuje między stopniem nadciśnienia tętniczego a ryzykiem udaru mózgu - Europejskie Towarzystwa proponują nawet użycie śmiertelności z powodu udaru mózgu jako pośredniego wskaźnika obciążenia nadciśnieniem danego społeczeństwa (21).

## SÓD A NADCIŚNIENIE

### HOMEOSTAZA WODNO-ELEKTROLITOWA

Całkowita zawartość wody w organizmie (TBW – total body water) wyrażana jest w jednostkach procentowych beztłuszczowej masy ciała (LBW – lean body weight). Wartość ta zmniejsza się wraz z wiekiem i wynosi w przybliżeniu od 80 % u wcześniaków do 60 % po okresie dojrzewania (22).

W organizmie można wyróżnić dwie przestrzenie płynowe (kompartmenty) oddzielone od siebie błonami komórkowymi:

Wewnątrzkomórkową (ICF – intracellular fluid): stale stanowiącą ok. 60-67 % TBW, jej głównym elektrolitem jest kation potasowy. Zmiany objętości płynu wewnątrzkomórkowego zależą prawie wyłącznie od zmian toniczności (osmolarności) płynu zewnątrzkomórkowego.

Zewnątrzkomórkową (ECF – extracellular fluid): największą w okresie niemowlęctwa i dzieciństwa, u zdrowych dorosłych stanowiącą od 33-40 % objętości TBW, regulowaną przez podaż płynów oraz wydalanie moczu. Z fizjologicznego punktu widzenia ECF dzieli się dodatkowo na trzy kompartmenty:

- płyn śródmiąższowy: ok. 75 % ECF, występujący między komórkami tkanek ustroju

- płyn wewnątrznaczyniowy: ok. 25 % ECF, osocze krwi i limfy, reguluje wolemieństwo ustroju, głównie przez tzw. efektywną objętość krwi tętniczej
- płyn transkomórkowy, tzw. trzecia przestrzeń: ok. 2,5 % ECF, płyn zawarty między nabłonkami ustroju i w innych przestrzeniach np. płyny przewodu pokarmowego, dróg oddechowych, moczowych, surowiczych jam ciała, płyn mózgowo-rdzeniowy, płyn w jamie stawowej, gałkach ocznych.

Uwzględniając fakt, iż regulacja objętości płynów ustroju uzależniona jest głównie od zmian objętości płynu zewnątrzkomórkowego, którego głównym elektrolitem jest kation sodowy, należy przyjąć, że kontrola wolemii organizmu odbywa się poprzez ściśle powiązaną regulację równowagi wody i sodu.

W pierwszym mechanizmie kontroli zmiany stężenia elektrolitów w osoczu (osmolarność) są rejestrowane przez osmoreceptory podwzgórza, którego ośrodki kontrolują poczucie pragnienia oraz wydzielanie wazopresyny (ADH – antidiuretic hormon). ADH jest głównym czynnikiem wpływającym na wydalanie wody przez nerki – poprzez receptory V2 pobudza komórki cewek zbiorczych nefronu do ekspresji akwaporyn i tym samym zwiększania przepuszczalności ich błon komórkowych dla cząsteczek wody. Powoduje to zwiększoną reabsorpcję wody na zasadzie osmozy do hipertonicznego miąższu nerki. Powyższa regulacja jest tak wydajna, że osmolarność osocza zmienia się co najwyżej o 1-2 %, pomimo dużych różnic w dobowym przyjmowaniu płynów.

W drugim mechanizmie kontrola samej objętości płynu zewnątrzkomórkowego odbywa się poprzez monitorowanie efektywnej objętości krwi tętniczej. Mechanizmy tej regulacji przedstawione są w tabeli (Tabela 1).

TABELA 1 MECHANIZMY KONTROLI OBJĘTOŚCI PŁYNU ZEWNĄTRZKOMÓRKOWEGO

Miejsce monitorowania	Monitorowany parametr	Mechanizm regulacji	Efekt biologiczny
Baroreceptory aparatu przykłębuszkowego nefronu	Ciśnienie perfuzji w tętnicze doprowadzającej nefronu	Przy spadku wzrost wydzielania reniny (pobudzenie układu renina-angiotensyna-aldosteron)	Wazokonstrykcja – angiotensyna (receptory AT), noradrenalina (receptory alfa1) Wzrost rzutu serca – noradrenalina (receptory beta1) Zmniejszenie wydalania sodu przez nerki – aldosteron, angiotensyna, noradrenalina
Baroreceptory zatoki tętnicy szyjnej	Ciśnienie tętnicze systemowe	Przy spadku pobudzenie współczulnego układu nerwowego, wzrost wydzielania reniny	
Baroreceptory ścian serca	Obciążenie objętościowe jam serca	Przy wzroście wydzielanie hormonów natriuretycznych	Wzrost wydalania sodu przez nerki Rozszerzenie naczyń
Baroreceptory w okolicy podwzgórza	Ciśnienie tętnicze systemowe	Przy dużym spadku – wydzielanie wazopresyny	Wazokontrykcja – wazopresyna (receptory V2) Zmniejszenie wydalania wody przez nerki – wazopresyna (receptory V1)

Wzrost spożycia sodu powoduje podniesienie ładunku osmolarnego osocza. W konsekwencji następuje ograniczenie wydalania wody poprzez zwiększone wydzielanie ADH i zwiększa się podaż płynów spowodowana rosnącym pragnieniem. Doprowadza to do przywrócenia stanu równowagi i fizjologicznych wartości osmolarności, ale ostatecznie zwiększa się również objętość płynu zewnątrzkomórkowego. Zwiększona objętość osocza poprzez baroreceptory aparatu przykłębuszkowego, zatoki szyjnej i ścian mięśnia sercowego doprowadza do spadku impulsacji współczulnej, zahamowania układu RAA i wzrostu wydzielania hormonów natriuretycznych. W prawidłowych warunkach synergiczne działanie powyższych procesów skutkuje usunięciem nadmiaru sodu i wody, przywracając wyjściową wolemię.

#### HOMEOSTAZA SODU

Sód ilościowo stanowi 0,2 % składu ludzkiego ciała (około 1600 mg) i jest trzecim z kolei, za wapniem i potasem, najbardziej rozprzestrzenionym pierwiastkiem metalicznym ustroju. Codziennie, w społeczeństwach krajów rozwiniętych wraz z pożywieniem dostarczanych jest około 150 mmol sodu – głównie w postaci chlorku sodu. W jelicie cienkim następuje wchłanianie prawie całego spożytego sodu – odbywa się ono w dwóch mechanizmach:

- transport ułatwiony samego kationu spowodowany różnicą stężeń między światłem jelita a wnętrzem enterocytów
- transport ułatwiony na zasadzie symportu z glukozą lub aminokwasami również wykorzystujący gradient stężeń

Kation sodowy jest głównym elektrolitem przestrzeni zewnątrzkomórkowej organizmu. Pozostała część sodu związana jest z tkanką kostną (45 %) oraz płynem wewnątrzkomórkowym (5 %). Średnie stężenie w osoczu i płynie międzykomórkowym waha się pomiędzy 135-145 mmol/l. Zapewnia ono odpowiednią osmolarność przestrzeni zewnątrzkomórkowej, gwarantując prawidłowe ciśnienie osmotyczne, stanowiąc niejako rusztowanie przestrzeni zewnątrzkomórkowej. Stężenie sodu w osoczu i płynie zewnątrzkomórkowym jest utrzymywane na stałym poziomie poprzez ścisłe regulowanie wydalania tego kationu przez nerki. Po przesączeniu osocza przez kłębuszek nerkowy w kanalik proksymalnym z moczu pierwotnego reabsorbowanych jest ok. 65 % kationu sodowego. Następnie w kolejnych częściach nefronu tj. w pętli Henlego, kanalik dystalnym i cewkach zbiorczych reabsorbowanych jest odpowiednio 25 %, 5 % i 5 %.



W proces ten zaangażowanych jest wiele kanałów jonowych, takich jak: antyport Na-H, symport Na-glukoza, symport Na-K-2Cl, symport Na-K, nabłonkowy kanał sodowy. Regulacja wydalania ma miejsce w cewce dalszej i cewkach zbiorczych.

#### EPIDEMIOLOGIA PODAŻY SODU

Większość aktualnych wytycznych żywieniowych i publikacji naukowych wyraża ilość przyjmowanego/wydalanego sodu w miligramach. Ciągłe jeszcze można spotkać się z wieloma pracami operującymi ilością soli (chlorku sodu) lub, jeszcze bardziej komplikując, stosującymi wielkości wyrażone w milimolach (mmol). Zależności między tymi jednostkami są następujące:

$$1 \text{ mg sodu} = \text{zawartości sodu w } 2,5 \text{ mg chlorku sodu (soli kuchennej)}$$

$$1 \text{ mmol sodu} = 23 \text{ mg sodu}$$

Analizę spożycia sodu w populacji można przeprowadzić na dwa sposoby:

- używając kwestionariusza żywieniowego
- oznaczając dobowe wydalanie sodu z moczem.

Analizy opierające się na kwestionariuszu żywieniowym, polegają na odnotowaniu produktów spożywanych w ciągu ostatnich 24 godzin lub metodzie historii żywienia, polegającej na przypominaniu sobie produktów spożytych w ciągu ostatniego czasu. Uważane są za dość pracochłonne, subiektywne i mało wiarygodne. Przyjmuje się, że odzwierciedlają one w ok. 50 % dobowe spożycie sodu (23).

Oznaczenie wydalania sodu w dobowej zbiorce moczu jest najbardziej wiarygodną metodą oceny jego spożycia. Szacuje się, że metoda ta pozwala z ponad 90 % dokładnością ocenić indywidualne, dobowe spożycie sodu (23).

Szacunki spożycia sodu w populacji przeprowadzono w dwóch modelowych badaniach INTERSALT i INTERMAP. Badanie INTERSALT obejmowało 10 079 mężczyzn i kobiet w wieku 20-59 lat z 52 populacji z 32 krajów, dane gromadzono w latach 1985-1987, opierało się wyłącznie na oznaczeniach stężenia sodu w 24-godzinnej zbiorce moczu. Spośród 52 populacji najniższe średnie wartości wydalania sodu stwierdzono wśród Indian Yanomamo z Brazylii: 0,8 mmol (18,4 mg) / dobę u mężczyzn i 1,0 mmol (23 mg) / dobę u kobiet, natomiast najwyższą średnią wydalania sodu z moczem zarejestrowane w Tianjin w Chinach: 259 mmol (5957 mg) / dobę u mężczyzn i 233 mmol (5359 mg) / dobę

u kobiet. Średnie wartości  $> 200$  mmol (4600 mg) / dobę stwierdzono również w Kanadzie, Kolumbii, Polsce, Portugalii, Korei Południowej, Indiach, we Włoszech i na Węgrzech. Mężczyźni mieli wyższe wartości wydalania sodu z moczem niż kobiety: wartość modalna wynosiła 150-199 mmol (3450-4577 mg) / dobę u mężczyzn i 100-149 mmol (2300-3427 mg) / dobę u kobiet (24).

Badanie INTERMAP uwzględniało dodatkowo kwestionariusze żywieniowe, uczestników rekrutowano w latach 1996-1999. Jak w INTERSALT, najwyższe średnie wartości wydalania sodu z moczem odnotowano w Chinach: 299 mmol (6877 mg) / dobę u mężczyzn i 253 mmol (5819 mg) / dobę u kobiet. Zdecydowana większość populacji charakteryzowała się wydalaniem sodu z moczem  $> 100$  mmol (2300 mg) / dobę, a tylko nieliczni wartością  $< 70$  mmol (1610 mg) / dobę (25).

Polskie społeczeństwo jest uznawane za populację o wysokim spożyciu sodu. W badaniu ankietowym z 2009 r. obejmującym ponad 37 000 respondentów oszacowano średnie spożycie soli na 11,5 g/dobę u obu płci, co przekłada się na 4600 mg sodu/dobę. Bardziej wiarygodne dane pochodzą z polskiej kohorty badania European Project on Genes in Hypertension (EPOGH), gdzie obliczone na podstawie 24-godzinnej zbiórki moczu, wydalanie sodu w populacji krakowskiej wynosiło ok. 6000 mg/dobę. Na tle innych krajów europejskich uczestniczących w programie polska populacja charakteryzowała się najwyższym spożyciem sodu (26).

Polskie Towarzystwo Nadciśnienia Tętniczego rekomenduje spożywanie do 6 g soli dziennie, co odpowiada ok. 2400 mg sodu (100 mmol), natomiast u chorych na nadciśnienie tętnicze z powikłaniami narządowymi zaleca zmniejszenie spożycia soli do 3 g (1200 mg - 50 mmol sodu) (27).

## SÓD A NADCIŚNIENIE TĘTNICZE

### HISTORIA

Pierwszą osobą, która podejrzewała, że jedzenie soli może przyczynić się do wysokiego ciśnienia tętniczego był Cesarz Chin Huang Ti Nei Ching Su Weini, który już około 5000 lat temu napisał: "Jeśli stosowane jest zbyt dużo soli w żywności, puls twardnieje" (28). W 1905 roku, dwóch francuskich studentów medycyny, Ambard i Beaujard zaczęło promować koncepcję, że przyczyną nadciśnienia jest sól dostarczana z pożywienia (29). Przyczynę wzrostu ciśnienia upatrywali jednak w podaży anionu chlorkowego. Co ciekawe, niektóre badania sugerują, że mogli mieć częściowo rację, gdyż wykazano, iż

sole sodowe skomponowane z anionów innych niż chlorkowe mają stosunkowo niewielki wpływ na ciśnienie tętnicze (30).

Kolejne próby ograniczenia spożycia soli jako sposobu obniżenia ciśnienia były słabo udokumentowane aż do połowy 1940 roku. W 1948 roku, Kempner ponownie zainteresował się ograniczeniem spożycia soli, wprowadzając dietę złożoną z ryżu i owoców (zawierała ok. 150 mg sodu na dobę). U 322 pacjentów z nadciśnieniem stosujących tą dietę obserwowano: spadek średniego ciśnienia tętniczego  $> 20$  mm Hg; zmniejszenie wielkości serca; odwrócenie załamka T w EKG i zanik ciężkiej retinopatii (31). Jednak, jak opisywał Pickering dieta ryżowo-owocowa była trudna w przestrzeganiu i po jej odstawieniu większość jej korzystnych efektów zanikała (32).

W 1960 roku Lewis Dahl przedstawił dowody, że dieta bogata w sód przyczynia się do wzrostu ciśnienia tętniczego. Wykazał on pozytywną liniową zależność pomiędzy występowaniem nadciśnienia i spożywaniem sodu w pięciu populacjach: od 68 mmol / dzień u Eskimosów do 462 mmol / dzień, w prefekturze Akita na północnym wschodzie Japonii. W przeprowadzonych w tej populacji badaniach obserwowano silny trend wzrostu umieralności z powodu udaru mózgu towarzyszący zwiększonemu spożyciu sodu (33). Co więcej był on pionierem badań na temat sodowrażliwości ciśnienia tętniczego, ze współpracownikami wyhodował odmiany szczurów, charakteryzujące się sodowrażliwością lub sodoopornością (34). Do dziś stanowią one podstawowy zwierzęcy model nadciśnienia sodowrażliwego i nazywane są szczurami Dahl od nazwiska naukowca. Liczne badania dotyczące tych odmian wykazały, że cecha sodowrażliwości jest dziedziczona wielogenowo, jest związana ze zmianą funkcjonowania nerek, kory nadnerczy, układu nerwowego oraz czynników humoralnych. Jego hipoteza stała się impulsem dla innych badaczy, a związek między spożyciem sodu a rozwojem nadciśnienia tętniczego i w konsekwencji występowaniem chorób sercowo-naczyniowych jest przedmiotem ciągłej debaty. Pomimo bogatych danych epidemiologicznych, eksperymentalnych i interwencyjnych, które wykazują związek pomiędzy podażą sodu a ciśnieniem krwi wciąż pozostaje wiele niewyjaśnionych kwestii. W niektórych przypadkach, ten sceptycyzm opiera się na obserwacji, że nie wszyscy mają wyraźne zmiany ciśnienia po spożyciu zwiększonej lub zmniejszonej ilości chlorku sodu. Inni badacze wskazują na niewielki wpływ na ciśnienie tętnicze po modyfikacji spożycia sodu w grupach osób z prawidłowym ciśnieniem lub nadciśnieniem. Jeszcze inni akceptują

hipotensyjny efekt zmniejszenia podaży sodu, ale uważają, że jest on trudny do utrzymania ze względu na preferencje żywieniowe społeczeństwa krajów rozwiniętych.

#### DOWODY DOTYCZĄCE ZWIĄZKU SPOŻYCIA SODU Z CIŚNIENIEM TĘTNICZYM

Dowody dotyczące związku spożycia sodu z ciśnieniem tętniczym u ludzi pochodzą z badań populacyjnych i interwencyjnych randomizowanych badań klinicznych.

#### BADANIA PRZEKROJOWE

W 52 ośrodkach badania INTERSALT mediana 24-godzinne wydalania sodu w moczu mieściła się w zakresie od 0,2 do 242,1 mmol. Analizując związek między ciśnieniem tętniczym a spożyciem sodu w obrębie osobno każdego z 52 ośrodków badania INTERSALT, z uwzględnieniem płci i wieku, stwierdzono pozytywną korelację w 39 z 52 ośrodków, istotną statystycznie w 15 ( $p < 0,05$ ); negatywny związek odnotowano w 13 ośrodkach. Po dodatkowym uwzględnieniu BMI, spożycia alkoholu i wydalania potasu, pozytywną zależność stwierdzono w 33 ośrodkach (w 8 istotną), a negatywną w 19 ośrodkach (w 2 istotną) (35).

#### BADANIA PROSPEKTYWNE

W długoterminowym badaniu populacyjnym, grupa 1499 uczestników była obserwowana średnio przez 6,1 lat. Roczny wzrost ciśnienia tętniczego wynosił średnio 0,37 / 0,47 mm Hg ( $p < 0,001$ ), przy czym średnie 24-godzinne wydalanie sodu z moczem nie zmieniło się w tym czasie. W analizie wieloczynnikowej wykazano, że wzrost 24-godzinne wydalania sodu o 100 mmol wiązał się z istotnym wzrostem skurczowego ciśnienia tętniczego o 1,71 mm Hg ( $p < 0,001$ ), bez jednoczesnej zmiany ciśnienia rozkurczowego (26).

#### BADANIA INTERWENCYJNE

W badaniach interwencyjnych restrykcji sodu w diecie towarzyszy często modyfikacja innych składowych stylu życia. Typowym przykładem jest badanie TONE (Trial of Nonpharmacologic Interventions in the Elderly) (36). Badacze podjęli próbę określenia, czy utrata wagi i zmniejszone przyjmowanie sodu jest skuteczne w leczeniu osób starszych (w wieku od 60 do 80 lat) z nadciśnieniem. Autorzy podzielili losowo 585 otyłych uczestników na cztery grupy: restrykcji sodu, utraty wagi, obu interwencji i zwykłej opieki. Grupę kontrolną stanowiło 390 nieotyłych uczestników przydzielonych do grupy restrykcji sodu lub zwykłej opieki. Na główne punkty końcowe składały się: utrzymujące

się wysokie ciśnienie po przerwaniu terapii hipotensyjnej, wznowienie leczenia farmakologicznego, niezdolność do wycofania leczenia oraz powikłania sercowo-naczyniowe (dławica piersiowa, zawał serca, udar mózgu, niewydolność serca i konieczność rewaskularyzacji wieńcowej). Po medianie czasu obserwacji wynoszącej 29 miesięcy (zakres 15-36 miesięcy), ten złożony punkt końcowy wystąpił rzadziej (17) wśród osób przypisanych do grupy zmniejszonego spożycia sodu (HR 0,69; 95 % CI 0,59-0,81;  $p < 0,001$ ). Średnia zmiana ciśnienia tętniczego u uczestników stosujących samą restrykcję wynosiła -3,4 / -1,9 mm Hg, a dla uczestników stosujących obie interwencje -5,3 / -3,4 mm Hg, ( $p < 0,001$  w porównaniu do grupy zwykłej opieki). Badanie posiadało jednak kilka ograniczeń: ograniczenie randomizacji do współpracujących, dobrze wyedukowanych pacjentów (tylko 11,1 % spośród wstępnie wyselekcjonowanych pacjentów było ostatecznie randomizowanych), niepewnym zaślepieniem, nieuwzględnieniem wpływu zmniejszenia masy ciała i zwiększenia aktywności fizycznej na podaż soli, połączenie miękkich i twardych punktów końcowych (nie było żadnych różnic między grupą kontrolną a pacjentami na diecie niskosodowej w aspekcie występowania incydentów sercowo-naczyniowych (12,9 % vs 16,7 %,  $p=0,24$ ).

#### METAANALIZY

Szereg przeglądów systematycznych zajmowało się wpływem zmniejszenia spożycia sodu na ciśnienie tętnicze. Grobbee i Hofman zestawili 13 randomizowanych badań, łącznie 584 uczestników. Zmniejszenie spożycia sodu o 78 mmol / 24 h było związane ze spadkiem ciśnienia tętniczego średnio o 3,6 / 2,0 mm Hg (37).

Kolejny przegląd 56 badań wykazał, że na diecie niskosodowej pacjenci z nadciśnieniem tętniczym uzyskali zmniejszenie wydalania sodu z moczem o 95 mmol a uczestnicy z prawidłowym ciśnieniem o 125 mm Hg. Spadek ciśnienia tętniczego związany z redukcją wydalania sodu o 100 mmol / dobę wynosił 3,7 / 0,9 mm Hg ( $p=0,09$ ) u pacjentów z nadciśnieniem ( $p < 0,001$ ) oraz 1,0 / 0,1 mm Hg ( $p=0,64$ ) u uczestników z prawidłowym ciśnieniem tętniczym (19).

Cutler i współpracownicy przeanalizowali 32 randomizowanych badań z 2635 uczestnikami. Mediana różnic w dobowym wydalaniu sodu między grupą z ograniczeniem jego podaży a grupą kontrolną wynosiła odpowiednio 77 i 76 mmol u chorych z nadciśnieniem tętniczym i normotoników. Odpowiedź hipotensyjna wynosiła średnio 4,8 / 2,5 mm Hg u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym i 1,9 / 1,1 mm Hg u ochotników z prawidłowym ciśnieniem (38).

W metaanalizie 31 badań o minimalnym okresie trwania powyżej 4 tygodni, zmniejszenie 24-godzinne wydalania sodu z moczem o 75 mmol wiązało się z obniżeniem ciśnienia o 5,06 / 2,70 mm Hg u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym i 2,03 / 0,99 mm Hg u pacjentów z prawidłowym ciśnieniem tętniczym (39).

Jedna z niedawno opublikowanych metaanaliz zawiera 167 badań. U pacjentów rasy białej z nadciśnieniem tętniczym oraz uczestników z prawidłowym ciśnieniem na diecie niskosodowej, skurczowe ciśnienie tętnicze zmniejszyło się o 5,48 mm Hg (CI 4,4 - 6,53 mm Hg;  $p < 0,0001$ ), a rozkurczowe o 2,75 mm Hg (CI 2,17-3,34 mm Hg;  $p < 0,00001$ ) oraz odpowiednio 1,27 mm Hg skurczowego (CI 0,66-1,88 mm Hg;  $p = 0,0001$ ) i 0,05 mm Hg rozkurczowego (CI -0,42 - 0,51;  $p = 0,85$ ). Średni czas trwania interwencji wynosił 4 tygodnie. Zmniejszenie spożycia sodu spowodowało dodatkowo znaczące zwiększenie ( $p < 0,001$ ) stężenia reniny, aldosteronu, noradrenaliny, adrenaliny, cholesterolu i trójglicerydów (40).

#### DOWODY DOTYCZĄCE ZWIĄZKU SPOŻYCIA SODU Z ROZWOJEM NADCIŚNIENIA TĘTNICZEGO

Szacunki podawane w metaanalizach badań interwencyjnych u osób z prawidłowym ciśnieniem tętniczym są zaskakująco podobne do efektu obserwowanego w dużym europejskim, populacyjnym badaniu prospektywnym: wzrost skurczowego ciśnienia tętniczego o 1,7 mm Hg na każde 100 mmol zwiększonego wydalania sodu moczem. Wzrost ten jednak nie przekładał się na podwyższone ryzyko rozwoju nadciśnienia - spośród 2096 uczestników, obserwowanych przez 6,5 lat, ryzyko rozwoju nadciśnienia nie zwiększało się z rosnącym tercylem wydalania sodu ( $p = 0,93$ ) (26).

Inne grupy badaczy odnotowały podobne obserwacje. He i współpracownicy oceniali częstość rozwoju nadciśnienia tętniczego w obserwacji odległej u 128 osób, których losowo przydzielono do interwencji polegającej na ograniczeniu spożycia soli kuchennej przez 18 miesięcy lub do grupy kontrolnej. W czasie interwencji różnica między grupami w poziomie wydalanego sodu wynosiła średnio 33 mmol/dobę. Następnie uczestnicy byli obserwowani średnio 7 lat, bez żadnej interwencji, iloraz szans rozwoju nadciśnienia dla aktywnej interwencji w porównaniu do kontroli wynosił 0,65, ale nie osiągnął poziomu istotności statystycznej (CI 0,25 - 1,69;  $p = 0,37$ ) (39).

W innym badaniu 1520 mieszkańców Tajwanu w wieku średnim i podeszłym było obserwowanych przez średnio 7,9 lat. Zależność między 24-godzinnym wydalaniem sodu z moczem a występowaniem nadciśnienia tętniczego (669 przypadków) miała kształt litery J. Uczestnicy, którzy byli w najwyższym kwartyle wydalania sodu ze średnim ciśnieniem

skurczowym wyższym niż mediana mieli 2,43-krotnie większe ryzyko rozwoju nadciśnienia tętniczego w porównaniu z grupą z najniższego kwartyla wydalania sodu ze średnim ciśnieniem skurczowym niższym niż mediana. Głównym ograniczeniem badania było wyliczanie 24-godzinne wydalania sodu przy użyciu czasu trwania snu i czasu oddawania porannego moczu (41).

#### WPŁYW SPOŻYCIA SODU NA ZDARZENIA SERCOWO-NACZYNIOWE

W badaniu Scottish Heart Health Study, 24-godzinne wydalanie sodu z moczem było powiązane tylko z rozwojem choroby wieńcowej u kobiet. Współczynnik ryzyka dla najniższego kwintyla w porównaniu z innymi kwintylami wydalania sodu wynosił 1,16 (CI 1,00-1,33). Ograniczeniem badania był fakt, że wyniki skorygowano tylko dla płci (42).

W 19-letniej obserwacji 3126 Finów, współczynniki ryzyka związane ze wzrostem wydalania sodu o 100 mmol wynosiły 1,26 (CI 1,06-1,50) dla śmiertelności całkowitej, 1,45 (CI 1,14-1,84) dla wystąpienia choroby sercowo-naczyniowej i 1,51 (CI 1,14-2,0) dla wystąpienia choroby niedokrwiennej serca w analizie wieloczynnikowej. Podczas analizy w podgrupach płci, współczynnik ryzyka był istotny tylko u mężczyzn, a wśród mężczyzn tylko wśród osób z nadwagą. Niemniej jednak, autorzy wnioskowali, że ich wyniki dają bezpośredni dowód szkodliwych skutków wysokiego spożycia soli w populacji osób dorosłych (43).

Alderaman i współpracownicy obserwowali przez 3,5 roku 2937 pacjentów z łagodnym i umiarkowanym nadciśnieniem. Wykazali, że wystąpienie zawału mięśnia sercowego było negatywnie skorelowane z 24-godzinnym wydalaniem sodu oznaczonym na początku badania w populacji ogólnej i w podgrupie mężczyzn. U mężczyzn współczynnik ryzyka wystąpienia zawału pomiędzy najniższym a najwyższym kwartylem wydalania sodu wynosił 4,3 (CI 1,7-10,6) (44).

Cook i współpracownicy przeanalizowali wpływ długoterminowego ograniczenia spożycia sodu na układ sercowo-naczyniowy, łącząc 10 do 15 lat obserwacji 744 i 2382 uczestników randomizowanych do fazy 1 i 2 badania Trials of Hypertension Prevention (TOHP). Redukcja wydalania sodu w okresie interwencyjnym dwóch faz badania (od 18 do 48 miesięcy) wynosiła odpowiednio 44 mmol / dobę i 33 mmol / dobę. Obserwacja odległa objęła wszystkich badanych w aspekcie analizy śmiertelności, ale tylko 77 % dla zachorowalności sercowo-naczyniowej. W okresie obserwacji nie były dostępne informacje na temat ciśnienia tętniczego, masy ciała i spożycia sodu. Współczynnik ryzyka

grupie interwencji w porównaniu z grupą kontrolną wynosił 0,80 (CI 0,51-1,26;  $p=0,34$ ) dla śmiertelności całkowitej i 0,75 (CI 0,57-0,99,  $p=0,04$ ) dla zdarzeń sercowo-naczyniowych z uwzględnieniem fazy badania, rasy, płci i wieku z uwzględnieniem fazy badania, rasy, płci i wieku (28). Ta sama grupa badaczy na podstawie obserwacji 2275 uczestników badania TOHP, u których powtarzano 24-godzinne zbiórki moczu, opublikowała raport, w którym nie stwierdzono związku pomiędzy zdarzeniami sercowo-naczyniowymi a spożyciem soli (45).

Już wcześniej przywołane badanie 3681 Europejczyków, rasy białej, bez choroby układu sercowo-naczyniowego na początku badania, obserwowanych przez średnio 7,9 lat, wykazało spadek zgonów z przyczyn sercowo-naczyniowych wraz z rosnącymi tercylami 24-godzinne wydalania sodu (50 zgonów w niskim, 24 w średnim i 10 w grupie wysokiego wydalania;  $p < 0,001$ ). Ten istotny negatywny związek pomiędzy śmiertelnością sercowo-naczyniową a tercylem wydalania sodu utrzymał się także w analizie wieloczynnikowej ( $p$  dla trendu = 0,02). 24-godzinne wydalanie sodu na początku badania nie było związane ani ze śmiertelnością całkowitą, ani z występowaniem zdarzeń sercowo-naczyniowych zakończonych i niezakończonych zgonem (26).

Opublikowano również kilka metaanaliz na temat wpływu sodu na śmiertelność sercowo-naczyniową. Taylor i współpracownicy przeanalizowali 7 randomizowanych badań klinicznych, które zajmowały się wpływem ograniczenia spożycia sodu na choroby układu krążenia: trzy u uczestników z prawidłowym ciśnieniem, dwa u pacjentów z nadciśnieniem, jedno w populacji mieszanej i jedno u chorych z niewydolnością serca. Restrykcja sodu prowadziła do zmniejszenia wydalania sodu z moczem o 27 - 39 mmol na 24 godziny i redukcję ciśnienia skurczowego pomiędzy 1 a 4 mm Hg. Oszacowane ryzyko względne dla śmiertelności całkowitej wynosiło 0,90 (CI 0,58-1,40; 79 zgonów) w grupie z prawidłowym ciśnieniem tętniczym oraz 0,96 (CI 0,83-1,11; 565 zgonów) w grupie pacjentów z nadciśnieniem. Śmiertelność sercowo-naczyniowa była punktem końcowym tylko w dwóch badaniach z udziałem pacjentów z nadciśnieniem tętniczym, a restrykcja sodu nie wpływała istotnie na śmiertelność sercowo-naczyniową. Jej ryzyko względne było nieistotne statystycznie (RR 0,69; CI 0,45-1,05; 98 zgony sercowo-naczyniowe). Ryzyko zdarzeń sercowo-naczyniowych dla osób z nadciśnieniem tętniczym i normotoników wynosiło odpowiednio 0,71 (CI 0,42-1,20; 200 zdarzeń) oraz 0,84 (CI 0,57-1,23; 93 zdarzeń). Ograniczenie podaży sodu zwiększało istotnie ryzyko zgonu u pacjentów z niewydolnością serca (RR 2,59; CI 1,04-6,44; 21 zgonów) (46).



Wnioski analizy Taylora pozostają w sprzeczności z przedstawionymi przez Strazzullo. Badacze wykazali, że ryzyko wystąpienia udaru mózgu zwiększa się o 6 % (CI 3 – 10 %;  $p=0,04$ ) na każde zwiększenia spożycia sodu o 100 mmoli. Trend dla chorób sercowo-naczyniowych był nieistotny statystycznie (+ 19 %, CI -31-107 %,  $p=0,53$ ) (47). Można jednak wskazać kilka ograniczeń tego przeglądu piśmiennictwa: w badaniach włączonych do metaanalizy metody oceny spożycia sodu nie zostały ujednolicone, badania oceniające wyłącznie śmiertelność połączono z tymi, które brały pod uwagę zdarzenia niezakończone zgonem.

Niedawno w badaniu PURE (The Prospective Urban Rural Epidemiology), w którym uczestniczyło ponad 100 000 dorosłych z 17 krajów (42,1 % z Chin), analizowano związek pomiędzy zgonem i powikłaniami z przyczyn sercowo-naczyniowych a wydalaniem sodu z moczem. W porównaniu do uczestników z wydalaniem sodu 4,0 do 6,0 g/dobę, wyższe wydalania ( $\geq 7.0$  g /dobę) wiązało się ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia złożonego punktu końcowego (OR 1,15; CI 1,02-1,30) oraz rozpatrywanych osobno zgonów i poważnych zdarzeń sercowo-naczyniowych. Z drugiej strony wydalanie sodu  $< 3,00$  g/dobę również wiązało się ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia złożonego punktu końcowego (OR 1,27, CI 1,12-1,44), (48). Głównym ograniczeniem badania PURE było ekstrapolowanie wydalania sodu na podstawie porannej próbki moczu.

Wciąż nie jest jasny rzeczywisty wpływ sodu na śmiertelność i zachorowalność sercowo-naczyniową. Mechanizm leżący u podstaw coraz częściej obserwowanej negatywnej korelacji pomiędzy spożyciem sodu a niekorzystnymi zdarzeniami sercowo-naczyniowymi może być wyjaśniony tym, że ograniczenie sodu może na tyle zmniejszać wolemię organizmu, że pobudza to układ współczulny (40,49), osłabia wrażliwość na insulinę (50), aktywuje układ renina-angiotensyna (40) oraz pobudza wydzielanie aldosteronu (40). Antagonistyczny charakter tych fizjologicznych odpowiedzi prawdopodobnie przeciwdziała korzystnym efektom obniżenia ciśnienia tętniczego i może powodować wzrost całkowitego ryzyka sercowo-naczyniowego (51).

#### NADCIŚNIENIE SODOWRAŻLIWE

Pomimo przytoczonych powyżej badań epidemiologicznych, obserwacyjnych i interwencyjnych zależność pomiędzy podażą sodu a nadciśnieniem tętniczym wciąż budzi wiele kontrowersji. Sceptycyzm środowiska naukowego wynika przede wszystkim z zauważalnej niejednorodnej odpowiedzi poszczególnych uczestników badań na zwiększone lub zmniejszone spożywanie chlorku sodu. Taka heterogenność pierwszy raz

została zaobserwowana w badaniu z 1987 r. Autorzy u 19 pacjentów z nadciśnieniem tętniczym stosowali kolejno dietę średnio- (109 mmol / dobę), nisko- (9 mmol / dobę) i wysokosodową (249 mmol / dobę). Uwzględniając całą populację zauważono istotny statystycznie spadek (przy diecie niskosodowej), a następnie wzrost (przy diecie wysokosodowej) ciśnienia tętniczego (52). Analizując zmiany ciśnienia u poszczególnych uczestników, grupa została arbitralnie podzielona na osoby sodowrażliwe - przy różnicy ciśnień powyżej 10 % w czasie diety wysokosodowej (w porównaniu z wartościami ciśnienia podczas stosowania diety średniosodowej) - i niesodowrażliwe, u których nie obserwowano tak wysokiego wzrostu ciśnienia. W kolejnych latach podobnymi badaniami objęto zdrową, normotensyjną populację, uzyskując zbliżone wyniki. W jednym z pierwszych eksperymentów w grupie 16 zdrowych, młodych mężczyzn zastosowano dietę niskosodową 10 mmol / dobę przez 7 dni. Następnie zwiększano obciążenie sodem w odstępach 3-dniowych do ostatecznej wartości 1500 mmol / dobę. W ujęciu całej grupy zaobserwowano istotny wzrost średniego ciśnienia tętniczego, jednak redukcja ta u poszczególnych uczestników charakteryzowała się dużą zmiennością (od 1,5 % do 34 %). U nikogo nie stwierdzono spadku ciśnienia tętniczego (53). W kolejnym badaniu z dłuższym okresem obserwacji u 82 uczestników bez nadciśnienia tętniczego zastosowano dietę niskosodową. Ponownie obserwowano istotny spadek ciśnienia tętniczego z dużą zmiennością indywidualną. Jednak u niektórych uczestników wystąpił paradoksalny wzrost ciśnienia tętniczego podczas stosowania diety niskosodowej nawet powyżej 10 mm Hg dla ciśnienia skurczowego. Ostatecznie grupa została podzielona arbitralnie na osobników sodowrażliwych (u których podczas stosowania diety średnie ciśnienie tętnicze spadło o przynajmniej 3 mm Hg) – 42 %, osobników opornych na działanie soli (u których podczas stosowania diety średnie ciśnienie tętnicze wzrosło o przynajmniej 3 mm Hg) - 18 % i pozostałą część obojętną na podaż sodu (54).

Wiele autorów opisywało podobne obserwacje u chorych z nadciśnieniem tętniczym i w zdrowej populacji wykorzystując różne sposoby interwencji a następnie różną kwalifikację odpowiedzi klinicznej u uczestników badania. Kryteria definiujące „wrażliwość”, „niewrażliwość”, „oporność” ciśnienia krwi w odpowiedzi na zmianę podaży soli różniły się znacznie. Większość z tych badań była przeprowadzona w stosunkowo małych grupach, zazwyczaj mniejszych niż 50 osób, co tym samym utrudniało kontrolę zmiennych demograficznych i środowiskowych (55–58).

W celu zbadania sodowrażliwości nie tylko stosowano interwencje dietetyczne, w pojedynczych badaniach wykorzystano szybkie obciążenie organizmu dożylnym ładunkiem sodu, a następnie forsowano wydalanie nadmiaru elektrolitu przy użyciu diuretyku. Populacja badana objęła zarówno zdrowe osoby jak i chorych z nadciśnieniem tętniczym. W badaniu sodowrażliwość zdefiniowana była jako spadek ciśnienia tętniczego powyżej 10 mm Hg po zastosowaniu diuretyku a sodooporność jako spadek ciśnienia mniejszy niż 5 mm Hg. Jako grupa, osoby z nadciśnieniem okazały się bardziej sodowrażliwe niż normotonicy, odpowiednio 51 % w grupie pacjentów z nadciśnieniem i 26 % w grupie osób zdrowych. W powtórzonym po okresie 12 miesięcy eksperymencie wyniki poszczególnych uczestników były istotnie porównywalne ( $p < 0,02$ ) (59).

Podobną trwałość i powtarzalność statusu sodowrażliwości potwierdzili Weinberger i współpracownicy. Dodatkowo wykazali, że sodowrażliwi normotonicy rozwijają nadciśnienie tętnicze częściej niż osoby sodooporne (60). Ponadto, sodowrażliwi pacjenci z nadciśnieniem mieli 3 razy większe ryzyko wystąpienia zdarzeń sercowo-naczyniowych (61). Co najważniejsze wykazano, że sama sodowrażliwość zwiększa śmiertelność niezależnie od ciśnienia tętniczego (62).

#### EPIDEMIOLOGIA SODOWRAŻLIWOŚCI

Pomimo różnic w metodach stosowanych w ocenie sodowrażliwości i różnych sposobów jej definicji przez badaczy określono kilka czynników demograficznych charakteryzujących osoby sodowrażliwe.

U osób rasy czarnej konsekwentnie wykazywano większą częstość występowania sodowrażliwości niż u osób rasy białej. Obserwowano, że wśród pacjentów z nadciśnieniem tętniczym 73 % chorych rasy czarnej było sodowrażliwych w porównaniu z 56 % z osób rasy białej. Podobnych, istotnych różnic nie wykazano w zdrowej populacji – sodowrażliwych było 36 % osób rasy czarnej i 29 % badanych rasy białej (59,63).

W większości badań stwierdzono częstsze występowanie sodowrażliwości wraz z wiekiem. W badaniu INTERSALT zależność pomiędzy wydalaniem sodu a ciśnieniem tętniczym była najbardziej zauważalna przy uwzględnieniu wieku uczestników badania (64). Niestety tylko kilka badań interwencyjnych obejmowało wystarczająco zróżnicowaną wiekowo grupę uczestników, aby wykazać taką zależność. Relacja ta wydaje się być silniejsza u chorych z nadciśnieniem niż u zdrowych osób (60). Co więcej u pacjentów, którzy wyjściowo zostali podzieleni ze względu na sodowrażliwość, po co najmniej 10

latach obserwacji zauważono znacząco wyższy wzrost ciśnienia tętniczego w grupie osób sodowrażliwych ( $p < 0,001$ ) (60). Powyższe dane mogą potwierdzać wcześniejsze hipotezy, iż zdrowe, sodowrażliwe osoby są bardziej narażone na wystąpienie nadciśnienia tętniczego w przyszłości niż osoby sodoniewrażliwe (63). Niedawny raport z obserwacji 46 pacjentów z nadciśnieniem tętniczym sugeruje, że sodowrażliwość można zaobserwować tylko u osób w wieku powyżej 45 roku życia (65). Przeczą temu dane potwierdzające występowanie sodowrażliwości w grupie otyłych osób w okresie dojrzewania (66).

Pojedynczy autorzy zasugerowali również istotny wpływ płci na sodowrażliwość. Zauważono, że w grupie z nadciśnieniem tylko u kobiet przy zmianie diety zawierającej 15 g soli (6000 mg sodu) / dobę na zawierającą 3 g soli (1200 mg sodu) / dobę wystąpił istotny spadek ciśnienia tętniczego. U mężczyzn redukcja wartości ciśnienia tętniczego była nieistotna (67). Inni badacze nie obserwowali takiego zjawiska (59,68). Możliwym wyjaśnieniem tego zjawiska jest generalnie mniejsza masa kobiet niż mężczyzn. W badaniach interwencyjnych stosowano stałą, niezależną od masy ciała dawkę sodu, tak więc kobiety mogły otrzymać większy ładunek sodu na kilogram masy ciała niż mężczyźni, co przyczyniało się do obserwowania istotniejszych odpowiedzi klinicznych. Z drugiej strony, jeśli przyjąć, iż podaż sodu na jednostkę masy ciała może znacząco wpływać na sodowrażliwość, należałoby oczekiwać, że zjawisko to powinno być rzadsze u osób otyłych. Jest to sprzeczne z wnioskami grupy badaczy, którzy zauważyli pozytywną korelację pomiędzy masą ciała a sodowrażliwością (69). Jednak zarówno w nowszym badaniu tych samych autorów (65), jak i w większości dużych badań epidemiologicznych nie stwierdzono takiej zależności (59). Bardziej jednoznaczne wyniki w postaci zmiany statusu "sodowrażliwości" zauważono natomiast u otyłych osób po znaczącej redukcji masy ciała (66,70).

Innym ciekawym aspektem sodowrażliwości wydaje się wpływ pory dnia, w której następuje obciążenie ładunkiem sodu. W badaniu z udziałem siedmiu japońskich kobiet z prawidłowym ciśnieniem tętniczym oceniano zmiany ciśnienia w ABPM przy zwiększeniu spożycia soli w diecie do 12 g (4800 mg sodu). Stwierdzono, że średnie ciśnienie krwi było wyższe, gdy większość sodu była spożywana w porze obiadowej niż wieczorem (71). Te wstępne wyniki sugerują, że pora dnia spożycia sodu może wpływać na sodowrażliwość ciśnienia tętniczego.

#### CZYNNIKI RODZINNE I GENETYCZNE SODOWRAŻLIWOŚCI

Istnieje przypuszczenie, iż na rodzinne występowanie nadciśnienia tętniczego wpływa dziedziczenie sodowrażliwości. Dotychczas przeprowadzone badania w tym aspekcie wykazują sprzeczne rezultaty. Przyczynę tego stanu upatruje się w trudnościach określenia rzeczywistego statusu ciśnieniowego członków rodziny oraz w niespójnej definicji sodowrażliwości. W badaniu, w populacji japońskiej wykazano częstsze rodzinne występowanie nadciśnienia u osób sodowrażliwych (72). W kolejnym, w którym do określenia sodowrażliwości wykorzystywano 3-tygodniowe podawanie 9- $\alpha$  fludrokortyzonu w dawce 0,6 mg/dobę, badacze wykazali wyższy wzrost ciśnienia u synów mężczyzn z nadciśnieniem tętniczym niż u potomków mężczyzn bez obciążenia nadciśnieniem (73).

W badaniach genetycznych udało się zidentyfikować kilka allelów genów występujących częściej u osób z sodowrażliwością takich jak: gen haptoglobiny (74), gen 11 $\beta$ -hydroksylazy/syntazy aldosteronu oraz gen podjednostki  $\beta$  nabłonkowego kanału sodowego (75). Analizując polimorfizm genu enzymu konwertującego angiotensynę nie wykazano jego powiązania z sodowrażliwością (74).

#### PATOFIZJOLOGIA NADCIŚNIENIA SODOWRAŻLIWEGO

Od dawna przyjmuje się, że retencja sodu może być związana z rozwojem nadciśnienia tętniczego, jednakże mechanizmy w to zaangażowane są wciąż dyskutowane. Guyton i współpracownicy postulowali, iż retencja sodu powoduje wzrost ECV, co poprzez zwiększenie oporu naczyniowego przekrwionych tkanek podnosi opór naczyniowy i w konsekwencji wzrost ciśnienia tętniczego (76).

Jednak wyniki badań mających na celu ocenę zmian ECV są sprzeczne - u chorych z nadciśnieniem wykazano zarówno stabilny poziom jak i zwiększenie całkowitego wymienialnego ładunku sodu (77,78). Widoczne rozbieżności mogą być zgodne z modelem, który zaproponował Stevo Julius. Przewiduje on przejście ze zwiększonego rzutu serca i prawidłowego systemowego oporu naczyniowego do fizjologicznego rzutu serca i zwiększonego oporu naczyniowego w późnej fazie rozwoju nadciśnienia. Jednak dotychczasowe badania nie wykazały związku między rzutem serca a obwodowym oporem naczyniowym (79).

Inne zaproponowane mechanizmy rozwoju nadciśnienia sodowrażliwego obejmują: działanie endogennych inhibitorów pompy sodowo-potasowej (80–82), nadmierną aktywację układu renina-angiotensyna-aldosteron w nerce (83–86), obwodową aktywację receptora mineralokortykosteroidowego (87–91), aktywność hormonalną tkanki tłuszczowej (92–95), wpływ stanu zapalnego i limfocytów T (96–99), nadmierną aktywność układu współczulnego (57,100–105), działanie TGF- $\beta$  (106,107)

Coraz więcej dowodów wskazuje, w jaki sposób różne mutacje i polimorfizmy kanału sodowego i związanych z nim białek w nerce skutkują w dysregulacji metabolizmu sodu. Spośród nich możemy wyróżnić (84,108–110):

- mutacje wpływające na syntezę i stężenie mineralokortykosteroidów (hiperaldosteronizm warunkowany glikokortykosteroidami, zaburzenia syntezy aldosteronu, pozorny nadmiar mineralokortykosteroidów)
- mutacje receptora mineralokortykosteroidów (ciężowe nadciśnienie tętnicze)
- mutacje wpływające na kanały jonowe nerek (zespół Liddle, zespół Gittelmana, zespół Barttera)
- gen alfa-adducyny wariant Gly460Trp - zwiększa aktywność pompy sodowo-potasowej
- gen glukagonu wariant Arg40Ser - może zmniejszać produkcję cAMP i upośledzać natriurezę
- gen kinazy regulowanej przez glukokortykoidy (SGK1) - zwiększa ekspresję kanałów sodowych indukowanych aldosteronem
- geny zaangażowane w metabolizm kwasu arachidonowego
- geny cytochromu Cyp4a10 - bierze udział w regulacji funkcji kanału sodowego.

## CIŚNIENIE A ŚRÓDBŁONKOWY CZYNNIK WZROSTU NACZYŃ

### TERAPIA PRZECIWANGIOGENNA

Od wielu lat klinicyści obserwują rozwój nadciśnienia u osób leczonych antagonistami VEGF (vascular endothelial growth factor - śródbłonkowy czynnik wzrostu naczyń). Wprowadzenie chemioterapii ukierunkowanej na szlak VEGF, zwanej również przeciwanngiogeną, było ważnym postępem w onkologii. Jej prekursorem był Dr Judah Folkman, który już w 1971 roku zaproponował, że wzrost guza i powstanie przerzutów są zależne od procesu angiogenezy (111). Hipoteza ta zakładała, że rosnące nowotwory komunikują się z komórkami śródbłonka naczyniowego poprzez rozpuszczalne czynniki

wzrostu. Prowadzi to do powstania nowych naczyń, odżywiających nowotwór, ułatwiających wzrost guza, naciekanie okolicznych narządów i powstanie przerzutów.

Przerwanie proangiogennych szlaków sygnalizacyjnych jest zasadniczym celem nowych leków przeciwnowotworowych. VEGF odkryto jako substancję pochodzącą z guzów nowotworowych, ze zdolnością do pobudzania komórek śródbłónka do zwiększonej przepuszczalności i angiogenezy (112,113). Dotychczas zidentyfikowano siedmiu członków rodziny VEGF: VEGF-A, -B, -C, -D, -E i dwa czynniki wzrostu łożyskowe (PlGF) 1 i 2. VEGF wywiera swój efekt biologiczny poprzez specyficzne receptory błonowe: VEGFR-1, VEGFR-2 (najwcześniej poznany) i VEGFR-3. Wiązanie liganda z receptorem aktywuje jego wewnętrzną kinazę tyrozynową, prowadząc do pobudzenia licznych, dalszych szlaków sygnalizacyjnych. Na przykład, pobudzony VEGFR-2 aktywuje kinazę PI3, która aktywuje kinazę AKT, która z kolei bezpośrednio fosforyluje syntazę tlenku azotu (eNOS), powodując zwiększone wytwarzanie tlenku azotu (NO – nitric oxide). Tlenek azotu w sąsiednich komórkach mięśni gładkich naczyń aktywuje cyklazę guanylową, co zwiększa produkcję cGMP i w konsekwencji prowadzi do rozszerzenia naczyń krwionośnych. VEGF wywiera plejotropowe działanie na endotelium, uczestniczy m.in. w migracji, proliferacji i tworzeniu fenestracji 4v. VEGF ulega ekspresji w praktycznie każdej tkance podczas rozwoju płodowego. Zarówno jego niedobór, jak i nadmiar, są letalne dla zarodków (114–116). VEGF odgrywa również ważną rolę po urodzeniu, jest niezbędny przy: angiogenezie podczas syklubu menstruacyjnego u kobiet (117), gojeniu ran (118), zroście kości (119), adaptacji mięśni do wysiłku fizycznego (120).

Pojawiają się coraz liczniejsze dowody, że przekazywanie sygnałów poprzez VEGF jest wymagane dla zachowania homeostazy naczyniowej także u dorosłych (121).

Pierwszym chemioterapeutycznym anti-VEGF zatwierdzonym do stosowania w leczeniu raka jelita grubego był bewacyzumab w 2004 r. Było to humanizowane, monoklonalne przeciwciało, wiążące krążący VEGF-A. Następnie pojawiły się inhibitory wielu różnych kinaz (MTKIs - multi-targeted kinases inhibitors) tj. sorafenib, sunitynib oraz pazopanib, zatwierdzone do leczenia przerzutowego raka nerki. MTKIs są niewielkimi cząsteczkami, ukierunkowanymi na VEGFR-2, receptor płytkowego czynnika wzrostu, RAS i c-KIT (122). Spektrum ich zastosowania jest szerokie. Obecnie są one pierwszą linią terapii nowotworów, między innymi wspomnianego już raka nerki, który stanowi obecnie 2,5 %

wszystkich nowych przypadków raka. Wraz z rozpowszechnieniem się tych leków pojawia się coraz większe zainteresowanie zrozumieniem mechanizmów ich skutków ubocznych.

#### NADCIŚNIENIE TĘTNICZE U OSÓB W TRAKCIE TERAPII PRZECIWANGIOGENNEJ

Nadciśnienie tętnicze występuje u nawet 80 % pacjentów przyjmujących inhibitory VEGF (123), a u prawie wszystkich chorych zaobserwowano wzrost ciśnienia tętniczego. Przedkliniczne i kliniczne badania oceniające bewacizumab wykazały zależny od dawki rozwój nadciśnienia u ok. dwóch trzecich pacjentów (124). U osób przyjmujących sorafenib i sunitinib także zaobserwowano wzrost częstości występowania nadciśnienia tętniczego i zespołu przedrzucawkowego (125). Stopień wzrostu ciśnienia tętniczego zależy od podanego preparatu, ale przy inhibitorach silnie blokujących receptor działania może on być szybki. W jednym z ostatnich badań, wśród 54 pacjentów rozpoczynających terapię sorafenibem, w wykonanym ABPM większość chorych miała podwyższone ciśnienie już w ciągu pierwszych 24 godzin leczenia (126). Podobnie, u kobiet rozpoczynających terapię cediranibem (nowy, silny, VEGF-specyficzny inhibitor) obserwowano bardzo szybki wzrost ciśnienia tętniczego. U 67 % pacjentów rozwój nadciśnienia wystąpił w trzech pierwszych dniach leczenia, a u 87 % stwierdzono je pod koniec badania (średni okres obserwacji wynosił 84 dni). Co więcej 43 % spośród nich rozwinęło nadciśnienie tętnicze 3 stopnia ( $> 180/110$  mm Hg) lub przełom nadciśnieniowy (123).

Badacze starali się zidentyfikować czynniki ryzyka sprzyjające rozwojowi nadciśnienia u pacjentów rozpoczynających terapię antyangiogenną. Okazało się, że wiek  $\geq 57$  lat zwiększa prawdopodobieństwo rozwoju nadciśnienia, a osoby w wieku  $\geq 65$  lat wykazywały tendencję do szybkiego wystąpienia nadciśnienia tętniczego w ciągu pierwszych 3 dni leczenia (RR 1,41, 95 % CI 0,98-2,02). W tym samym badaniu BMI, współczynnik filtracji kłębuszkowej, wywiad rodzinny nadciśnienia lub innych chorób układu krążenia i dawka początkowa cediranibu nie wykazywały związku z rozwojem nadciśnienia (123). Maitland przeanalizował ciśnienie tętnicze 10 dni po rozpoczęciu terapii sorafenibem, zaobserwował wzrost średniego skurczowego ciśnienia o 10,8 mm Hg (95 % CI 8,6-13,0 mm Hg). Stopień tego wzrostu nie korelował z wiekiem, masą ciała, płcią, rasą, wyjściowym ciśnieniem skurczowym czy uzyskanym stężeniem sorafenibu w osoczu (126).



Powstało wiele teorii starających się wyjaśnić przyczynę wzrostu ciśnienia u chorych leczonych inhibitorami VEGF. Do najbardziej udokumentowanych należą: powiązanie z patogenezą nadciśnienia ciążowego i stanu przedrzucawkowego (127–129), upośledzona produkcja i uwalnianie NO (130–134), zmniejszenie ilości naczyń włosowatych, zwiększające obciążenie wstępne serca (130–132), aktywacja układu RAA (133–135), zwiększone wytwarzanie endoteliny-1 (136), nasilony stres oksydacyjny (137), hamowanie natriurezy (138). NO ma bezpośredni wpływ na regulację ciśnienia i cewkową reabsorpcję sodu. Zakłócenie prawidłowego funkcjonowania eNOS poprzez hamowanie VEGF, może więc powodować retencję i zwiększenia objętości płynu zewnątrzkomórkowego, utrwalając nadciśnienie tętnicze (139). Mogą potwierdzać to badania na gryzoniach, u których hamowanie VEGFR-2 spowodowało istotne zmniejszenie natriurezy (133).

#### WPŁYW VEGF-C NA HOMEOSTAZĘ SODOWĄ

Podane mechanizmy wpływu VEGF-C na ciśnienie tętnicze opierały się na dobrze poznanych szlakach patofizjologicznych rozwoju nadciśnienia. Badania homeostazy sodu u człowieka oraz dane eksperymentalne sugerują, że sód gromadzi się w organizmie nie zawsze proporcjonalnie do retencji wody (140–144). Naczynia limfatyczne odgrywają dużą rolę w odprowadzaniu płynu z przestrzeni śródmiąższowej. Różnica ciśnienia osmotycznego pomiędzy tkanką śródmiąższową, limfą i osoczem może mieć znaczące fizjologiczne konsekwencje w regulacji ciśnienia tętniczego. Eksperymentalne badania na zwierzętach wykazały, że sód może być dodatkowo zatrzymywany w podskórnej, śródmiąższowej przestrzeni międzykomórkowej, powiązany z proteoglikanami i glikozaminoglikanami (145). U ludzi badania obrazowe rezonansu magnetycznego z użyciem <sup>23</sup>Na potwierdzają wysoką kumulację sodu w tkance podskórnej i mięśniach szkieletowych (146). Równowaga pomiędzy hipertonicznym płynem śródmiąższowym a osoczem może być istotnym, lokalnie regulowanym mechanizmem usuwania nadmiaru sodu. Wykazano, że w tkance podskórnej w czasie stosowania diety wysokosodowej śródmiąższowe ciśnienie osmotyczne może przekroczyć ciśnienie osmotyczne umożliwiając magazynowanie sodu bez towarzyszącej mu zazwyczaj retencji wody (140,147,148). Sugeruje się, że mechanizm tej regulacji opiera się na działaniu komórek układu immunologicznego, które już we wcześniejszych badaniach były wiązane z rozwojem nadciśnienia (149–153). U gryzoni przy stosowaniu diety wysokosodowej wykazano znaczący wzrost sieci naczyń limfatycznych oraz ich przerost. W śródmiąszu zauważono zwiększone nagromadzenie fagocytów mononuklearnych (MPS - mononuclear

phagocyte system). Ponad 90 % tych komórek wydzielalo czynnik wzrostu śródbłonka naczyniowego typu C (VEGF-C), w samym śródmiaższu natomiast stwierdzono zwiększoną ekspresję tego czynnika. VEGF-C oddziałuje przede wszystkim na receptor VEGFR-3. Pobudza w ten sposób rozrost i przerost naczyń limfatycznych. W modelach zwierzęcych wykazano, że jego działanie jest podobne w życiu płodowym jak i po urodzeniu. Nie stwierdzono przy tym zwiększonej angiogenezy naczyń krwionośnych czy większych, zbiorczych naczyń limfatycznych (154).

W celu potwierdzenia hipotezy, że limfangiogeneza u szczurów poddanych działaniu zwiększonej podaży sodu zależy od aktywności komórek MPS, zastosowano liposomalny kłodronian w celu usunięcia komórek jednojądrzastych. Ich niedobór spowodował znaczące zmniejszenie nacieku komórek VEGF-C-dodatnich, spadek ekspresji VEGF-C oraz brak rozrostu włosowatych naczyń chłonnych. Różnica w średnim ciśnieniu tętniczym pomiędzy szczurami na diecie niskosodowej a osobnikami na diecie wysokosodowej po usunięciu komórek MPS wynosiła aż 30 mm Hg. Zauważono także, że równolegle ze zwiększoną ekspresją VEGF-C zwiększa się ekspresja czynnika transkrypcyjnego TonEBP w skórze. TonEBP reguluje ekspresję genów odpowiedzialnych za ochronę organizmu przed stresem osmotycznym, jest on szczególnie aktywny w rdzeniu nerki i układzie limfatycznym (140,155,156). Niedobór komórek MPS blokował wzrost ekspresji TonEBP, sugerując, że komórki MPS są głównym źródłem tego czynnika. Badacze następnie starali się scharakteryzować zmiany mikrośrodowiska komórek MPS w odpowiedzi na obciążenie sodem z lub bez usuwania komórek MPS. Dieta wysokosodowa zwiększała zawartość jonów sodowych, chlorkowych i wody w tkance podskórnej. Stosunek stężenia zsumowanych jonów sodowych i potasowych do zawartości wody w skórze w porównaniu do osocza był istotnie wyższy, zarówno na diecie nisko- i wysokosodowej. Skórna akumulacja sodu w czasie diety wysokosodowej odbywała się bez proporcjonalnej retencji wody, a towarzyszyła jej zwiększona zawartość proteoglikanów i glikozaminoglikanów, jak postulowano wcześniej.

Przy zahamowaniu szlaku VEGF-C przy użyciu wektora wirusowego zawierającego rozpuszczalny VEGFR-3, dieta wysokosodowa nie spowodowała rozrostu kapilar limfatycznych. W porównaniu z grupą kontrolną szczury z zablokowanym receptorem miały wyższe wartości ciśnienia, zwiększony nacieku komórek VEGF-C-dodatnich oraz podniesioną ekspresję mRNA VEGF-C w tkance podskórnej. Wyniki te mogą sugerować, że istnieje negatywne sprzężenie zwrotne kontrolujące ekspresję VEGF-C, niedziałające przy braku aktywności jego receptora. W żadnym powyższym modelu nie stwierdzono

natomiast zwiększonej ekspresji TNF- $\alpha$  w skórze, co może wskazywać, że reakcji MPS na dietę wysokosodową nie towarzyszy odpowiedź zapalna (134).

Dodatkowo VEGF-C może także aktywować receptor VEGFR-2 śródbłonna, zwiększając ekspresję eNOS i produkcję NO (157–160). Korzystając ze wcześniejszego modelu zwierzęcego, wykazano, że diecie wysokosodowej i zwiększonej sekrecji VEGF-C towarzyszył wzrost ekspresji eNOS w śródbłonie tkanki podskórnej. Przy niedoborze komórek MPS, uzyskanym przy zastosowaniu liposomalnego kłodronianu nie stwierdzano wzrostu ekspresji eNOS, co sugeruje, że ekspresja eNOS w tkance śródmiąższowej jest zależna od funkcji MPS (134).

W ludzi przeprowadzono dotychczas niewielkie badania obserwacyjne, w których stwierdzono znacząco wyższe stężenie VEGF-C w osoczu u pacjentów z nadciśnieniem opornym oraz u chorych z przewlekłą chorobą nerek, wykazano pozytywny związek pomiędzy stężeniem VEGF-C a podażą sodu w diecie (161). Te odkrycia mogą zmienić sposób, w jaki patrzymy na zależność między stężeniem sodu, objętością płynów i ciśnieniem tętniczym w organizmie, z wcześniejszego izotonicznego dwukompartamentowego modelu na dynamiczny model trzykompartamentowy, w którym śródmiąższ podskórny jest dodatkową, niezależnie regulowaną przestrzenią, wpływającą na gospodarkę wodno-elektrolitową i ciśnienie tętnicze (162).

### *HIPOTEZA BADAWCZA*

U pacjentów z nadciśnieniem opornym lub z przewlekłą niewydolnością nerek poziom osoczowego VEGF-C jest znacznie podwyższony w porównaniu z osobami z prawidłowym ciśnieniem tętniczym (134,163). Może to wskazywać, że również u ludzi ten pozanerkowy, śródmiąższowy mechanizm odgrywa ważną rolę w homeostazie sodowej.

Nie wiemy jednak, czy i jak różni się jego działanie między pacjentami z nadciśnieniem tętniczym a osobami bez nadciśnienia. Można założyć, że stężenie VEGF-C koreluje z podażą soli. Dieta polskiej populacji charakteryzuje się dużą zawartością sodu. Dobrze działający śródmiąższowy mechanizm regulacji sodu i zwiększone stężenie VEGF-C powinno chronić przed rozwojem nadciśnienia tętniczego. Przeciwnie, przy wysokosodowej diecie i niskich wartościach VEGF-C można oczekiwać zwiększonej skłonności do rozwoju nadciśnienia.

## CEL BADANIA

1. Ocena zależności między poziomem osoczkowego VEGF-C a wartościami ciśnienia tętniczego w populacji ogólnej, biorąc pod uwagę nerkowe wydalanie sodu.
2. Ustalenie, czy istnieje związek między podażą soli w diecie a stężeniem VEGF-C w osoczu u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym i osób z prawidłowymi wartościami ciśnienia tętniczego.
3. Ocena wpływu interakcji między osoczkowym VEGF-C i podażą sodu w diecie na wartości ciśnienia tętniczego w populacji ogólnej.

## METODOLOGIA

Przeprowadzono przekrojowe badanie kohortowe – na grupie pochodzącej z populacji ogólnej. Włączeni zostali do niego uczestnicy polskiej części europejskiego projektu, dotyczącego badań nad dziedzicznością nadciśnienia tętniczego – European Project on Genes in Hypertension (EPOGH). Było to badanie populacyjne, prowadzone w latach 1999-2008, oparte o strukturę rodzin, oceniające występowanie fenotypów zwiększonego ryzyka sercowo-naczyniowego. Rodziny z populacji ogólnej zostały w 1999 r. wyłonione spośród mieszkańców Miasta i Gminy Niepołomice, regionu o charakterze wiejsko-miejskim, położonego w powiecie krakowskim. Po wylosowaniu pojedynczego mieszkańca, sprawdzano kryteria włączenia do badania: wiek 18-60 lat oraz co najmniej dwupokoleniowość jego rodziny. Następnie po uzyskaniu zgody rekrutowano całą rodzinę wylosowanego uczestnika. Dodatkowym źródłem rekrutacji byli pacjenci Poradni Nadciśnieniowej I Kliniki Kardiologii i Elektrokardiologii Interwencyjnej oraz Nadciśnienia Tętniczego Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie.

W latach 2012-2014 ponownie zaproszono dorosłych członków badanych wcześniej rodzin. Ostatecznie włączonych zostało 109 rodzin, w sumie 303 osoby, z czego 138 stanowili rodzice, natomiast 165 dzieci i/lub wnuki. Drogą listowną uczestnicy otrzymali formularze z wyjaśnieniem celu i przebiegu badania Termin badania w I Klinice Kardiologii i Elektrokardiologii Interwencyjnej oraz Nadciśnienia Tętniczego został ustalony telefonicznie.

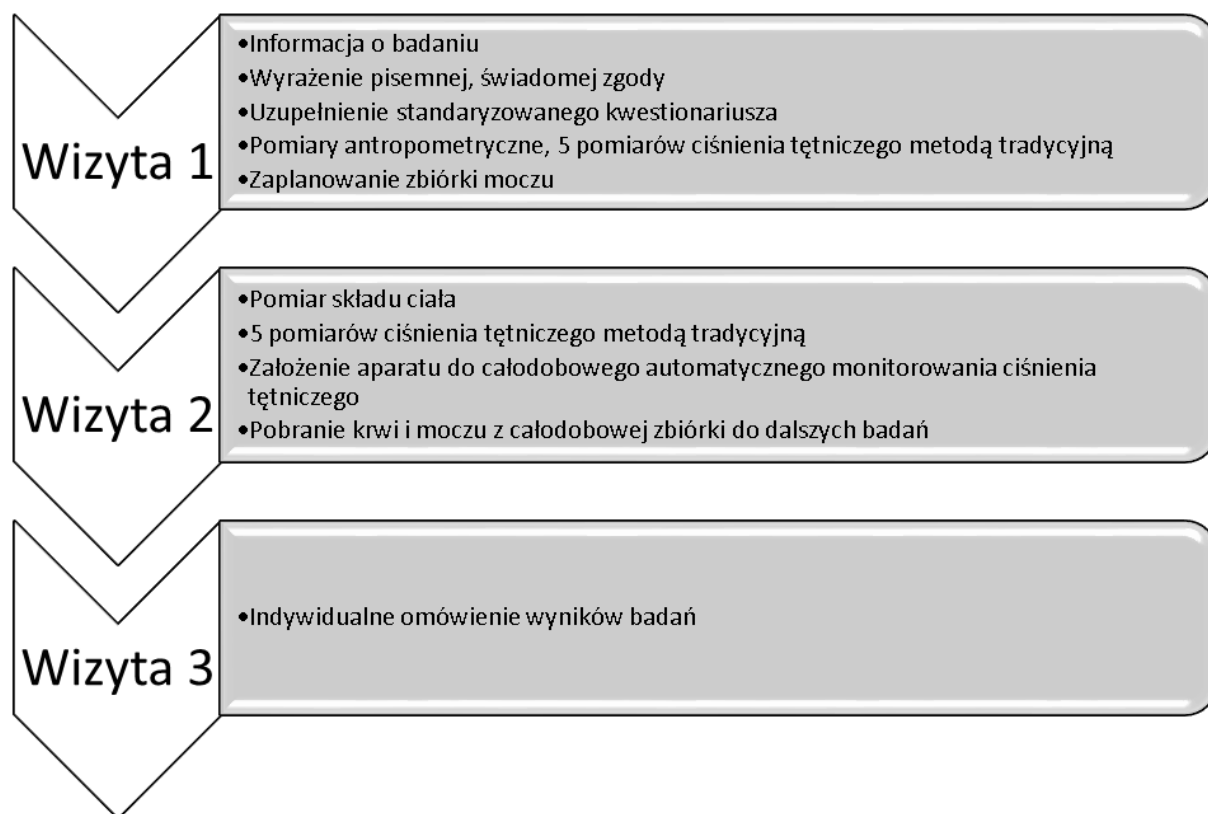
## METODYKA BADAŃ KLINICZNYCH

### PROTOKÓŁ BADANIA

Powyższy projekt uzyskał pozytywną opinię Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego nr KBET/57/B/2010 w dniu 24 czerwca 2010 r. Wszyscy uczestnicy

zostali poinformowani o celu projektu i planowanych badaniach oraz wyrazili świadomą i dobrowolną pisemną zgodę. Badanie zostało przeprowadzone zgodnie z założeniami Deklaracji Helsińskiej i przebiegało według schematu przedstawionego na Rycinie.

RYCINA 1 SCHEMAT PRZEBIEGU BADANIA



#### BADANIE PODMIOTOWE

Uczestnicy zostali poproszeni o wypełnienie szczegółowego, standardowego kwestionariusza, dostarczającego informacji na temat danych demograficznych, statusu socjoekonomicznego, przebytych i współistniejących chorób, zażywanych leków oraz stylu życia - aktywności fizycznej i stosowanych używek. Wypełnianie kwestionariusza odbywało się w obecności przeszkolonego personelu, który tłumaczył wszelkie niejasności.

#### POMIARY ANTROPOMETRYCZNE

U każdego uczestnika projektu przeprowadzono pomiar wzrostu i masy ciała przy użyciu wystandaryzowanej wagi lekarskiej. W celu wyliczenia wskaźnika masy ciała (Body Mass Index BMI) posłużono się wzorem  $BMI = \text{masa ciała} / \text{wzrost}^2$ . Wykonano pomiary obwodu pasa (na poziomie pępka) i bioder (na poziomie krętarzy większych) oraz

obliczono wskaźnika WHR (Waist to Hip circumference Ratio), korzystając z wzoru  $WHR = \text{obwód pasa} / \text{obwód bioder}$ .

#### POMIAR SKŁADU CIAŁA

Wszyscy uczestnicy badania, po początkowym 15-minutowym odpoczynku w pozycji leżącej, zostali poddani analizie m-BIA (Bodystat® Quadscan 4000, Isle of Man, British Isles), dla oszacowania składu organizmu. Technika analizy wieloczęstotliwościowej impedancji bioelektrycznej jest nieinwazyjnym i prostym narzędziem mierzącym ilościowy skład płynów w organizmie, niewykazującym istotnych różnic w porównaniu ze złotym standardem - dylucją izotopową (164). Wartości impedancji zostały zmierzone dla częstotliwości 5 i 200 kHz. Przy niższej częstotliwości ładunek elektryczny przemieszcza się głównie w płynie pozakomórkowym, przy wyższej jest w stanie pokonać opór błony komórkowej i jest przewodzony także przez płyn wewnątrzkomórkowy. Wyżej wymienione pomiary, po wprowadzeniu danych antropometrycznych, z użyciem odpowiednich równań umożliwiają oszacowanie objętości płynu pozakomórkowego, całkowitej zawartości wody w organizmie (TBW – total body water) oraz masy tkanki tłuszczowej.

#### POMIARY CIŚNIENIA TĘTNICZEGO KRWI METODĄ TRADYCYJNĄ

Wszyscy badani zostali poddani standardowym pomiarom ciśnienia tętniczego zgodnie z wytycznymi Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego. Po kilkuminutowym odpoczynku w pozycji siedzącej mankiet sfigmomanometru automatycznego firmy OMRON (model M6 HEM-7001-E) umieszczano na wysokości serca. Ciśnienie tętnicze mierzono pięciokrotnie, na niedominującym ramieniu, w odstępach dwuminutowych. Po około tygodniu pomiar powtarzano podczas drugiej wizyty. Z uzyskanych dziesięciu wartości obliczone zostało średnie gabinetowe ciśnienie tętnicze. Podczas pierwszej wizyty została zmierzona również częstość tętna (średni z dwóch pomiarów wykonywanych na tętnicy promieniowej przez 60 sekund). Nadciśnienie tętnicze było diagnozowane, gdy średnia wartości ciśnienia skurczowego wynosiła  $\geq 140$  mm Hg i/lub rozkurczowego  $\geq 90$  mm Hg lub jeżeli osoba już stosowała leczenie hipotensyjne (165).

#### CAŁODOBOWA AUTOMATYCZNE MONITOROWANIE CIŚNIENIA TĘTNICZEGO

ABPM rejestrowano przy użyciu aparatu SpaceLabs 90207. Pomiary ciśnienia i tętna były dokonywane automatycznie, co 15 minut w ciągu dnia (6.00 – 22.00) i 30 minut w nocy (22.00 – 6.00). Każdy uczestnik został szczegółowo poinformowany o przebiegu badania,

zalecano wykonywanie codziennych czynności z wykluczeniem intensywnych ćwiczeń fizycznych. Pouczono, iż w momencie napełnienia mankietu należy przystanąć, pozostawić ramię nieruchomo na wysokości serca i nie rozmawiać. Każdemu uczestnikowi wydano dzienniczek, w którym odnotowywał dane dotyczące wystąpienia objawów (np. bóle głowy, nudności), aktywności fizycznej, godzin posiłków, spoczynku nocnego oraz przyjmowania leków.

Przeprowadzenie oraz interpretacja wyników całodobowego monitorowania ciśnienia tętniczego były zgodne z aktualnymi wytycznymi ESH oraz Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego (165). Oceniono średnie wartości dla całej doby (skurczowe SBP 24h, rozkurczowe DBP 24h), w okresie dnia (skurczowe SBP d, rozkurczowe DBP d) i nocy (skurczowe SBP n, rozkurczowe DBP n). Podczas analizy danych zastosowano kryteria Staessena eliminacji wartości niewiarygodnych. Wyniki, w których odnotowano poniżej 70 % prawidłowych pomiarów były wyłączone z analizy, a uczestnicy poproszeni o wykonanie pomiaru ABPM raz jeszcze. Odrzucono wartości skurczowego ciśnienia przekraczające 240 mm Hg lub niższe niż 50 mm Hg, a rozkurczowego wyższe od 140 mm Hg lub poniżej 40 mm Hg. Wyeliminowano również ciśnienia tętna niższe niż 10 % wartości ciśnienia skurczowego oraz częstości tętna powyżej 150/min lub poniżej 40/min (166).

#### BADANIA LABORATORYJNE

Średnio 1 tydzień po pomiarze ABPM uczestnicy byli poproszeni o przeprowadzenie 24-godzinnej zbiórki moczu w wydany 2500 ml plastikowym pojemniku. Każdy uczestnik otrzymał następujące instrukcje:

- mocz powinien być oddawany bezpośrednio do pojemników, szeroka szyjka ułatwia to kobietom
- pierwszy poranny mocz powinien być oddany do toalety, jest to moment rozpoczęcia zbiórki i powinien być odnotowany na etykiecie pojemnika, wszystkie kolejne porcje moczu powinny być oddawane do pojemnika
- po dokładnie 24 godzinach, uczestnicy powinny oddać mocz do pojemnika i zanotować czas zakończenia zbiórki
- kobiety w wieku rozrodczym nie powinny przeprowadzać zbiórek w trakcie krwawienia miesięcznego.

Przy przekazywaniu moczu do ośrodka personel sprawdzał godziny rozpoczęcia i zakończenia zbiórki oraz mierzył objętość zebranego moczu z dokładnością do 20 ml.

W tym samym dniu u każdego uczestnika projektu pobierano próbki krwi, odnotowując czy był na czczo. Rutynowe parametry biochemiczne zostały oznaczone w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie. W Zakładzie Diagnostyki wykonano następujące badania krwi obwodowej: morfologia krwi z rozmazem, stężenie kreatyniny, kwasu moczowego, CRP, glukozy, insuliny, elektrolitów (sód, potas) oraz lipidogram (cholesterol całkowity oraz frakcje LDL i HDL, trójglicerydy). Stężenie glukozy w surowicy oznaczono metodą kolorymetryczną z wykorzystaniem oksydazy glukozowej. Do wyznaczenia parametrów lipidogramu posłużono się metodą enzymatyczną, poza wartością frakcji LDL, która została wyliczona za pomocą równania Friedewalda. W 24-godzinnej zbiórce moczu stężenie kreatyniny, sodu i potasu oznaczono metodą kolorymetryczną, a następnie wyliczano 24-godzinne wydalanie mnożąc stężenie sodu w moczu (mmol/l) przez objętość moczu ze zbiórki (l/dobę).

W Zakładzie Biochemii Klinicznej Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego w Krakowie przeprowadzono oznaczenia parametrów biochemicznych związanych z aktywnością RAA, procesów zapalnych i stężenia VEGF-C. Wyznaczono aktywność reninową osocza metodą immunochemiczną z zastosowaniem znaczników izotopowych, podobnie stężenie aldosteronu w moczu i osoczu. Oznaczono wskaźniki zapalane takie jak interleukina-6 (IL-6) i mieloperoksydaza (MPO) oraz stężenie VEGF-C w osoczu metodą immunoenzymatyczną (ELISA).

#### METODOLOGIA OZNACZEŃ LITU

Stężenia litu, zarówno w osoczu jak i w moczu, niezbędne do obliczeń klirensu litu, zmierzono przy zastosowaniu absorpcyjnej spektrometrii atomowej w Pracowni Biopierwiastków Zakładu Bromatologii Wydziału Farmaceutycznego Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Klirens litu (CLi) obliczono według wzoru:

$$CLi = V \times U_{Li} / P_{Li}$$

V [ml/min] - minutowa objętość moczu, wyznaczona na podstawie 24-godzinnej



zbiórki moczu

ULi – stężenie litu w moczu

PLi - stężenie litu w osoczu

Cząstkowe wydalenie litu (FELi) obliczono według wzoru:

$$\mathbf{FELi = 100 \times CLi/CCr}$$

FELi - Cząstkowe wydalenie litu

CLi – klirens litu

CCr – klirens kreatyniny

Reabsorbcja litu zachodzi prawie wyłącznie (ok. 90 %) w cewce proksymalnej nefronu przez kanały odpowiedzialne za transport sodu. FELi stanowi procentową wartość ładunku sodu jaka pozostaje w nefronie po opuszczeniu kanalika bliższego. Niska wartość FELi wskazuje na większą reabsorpcję sodu w kanalikule proksymalnym nefronu, co pośrednio może wskazywać na sodowrażliwość. Badania w modelach zwierzęcych i w niewielkich grupach zdrowych uczestników i pacjentów z nadciśnieniem wykazały, że FELi jest wiarygodnym i powtarzalnym wskaźnikiem nerkowego metabolizmu sodu (167).

#### METODY STATYSTYCZNE

Do zarządzania uzyskanymi danymi oraz ich opracowania statystycznego wykorzystano oprogramowanie SAS System, wersja 9.3.

Charakterystykę badanej grupy przedstawiono na podstawie parametrów statystyki opisowej z uwzględnieniem wartości średnich i odchyłeń standardowych oraz liczebności i wartości procentowej. Porównania między grupami przeprowadzono za pomocą testu t-Studenta dla zmiennych niezależnych (zmienne ciągłe) oraz testu chi-kwadrat (proporcje).

Zmienne powiązane ustalono za pomocą regresji krokowej, przyjmując wartość p dla wejścia i pozostania w modelu  $\leq 0,10$ .

Analizę zależności między badanymi wskaźnikami gospodarki sodowej a parametrami układu sercowo-naczyniowego przeprowadzono z wykorzystaniem uogólnionego modelu regresji wieloczynnikowej zastosowanego w procedurze PROC MIXED oprogramowania SAS System, która umożliwia standaryzację obliczeń poza zmiennymi powiązanymi

również o współczynnik zależny od pokrewieństwa osób poddanych obserwacji. Za istotną statystycznie przyjęto wartość  $p < 0.05$ .

Porównania osoczowych stężeń VEGF-C u osób z i bez nadciśnienia tętniczego dokonano wykorzystując model mieszany (PROC MIXED), w którym uwzględniono zmienne powiązane, a obliczone średnie stanowią reszty kwadratowe modelu.

## WYNIKI

### CHARAKTERYSTYKA BADANEJ POPULACJI

Do grupy badanej zrekrutowano 303 osoby, w tym 138 osób (57 mężczyzn, 81 kobiet) z pokolenia rodziców i 165 osób (79 mężczyzn, 86 kobiet) z pokolenia potomków. Charakterystykę kliniczną oraz wyniki oznaczeń laboratoryjnych zestawiono w tabelach 1, 2 i 3 z podziałem na grupę pokoleniową oraz płeć. Dla grupy rodziców średni wiek wynosił  $61,5 \pm 7,9$  lat, natomiast dla potomków  $34,8 \pm 8,4$  lat. Starsze pokolenie charakteryzowało się istotnie niższym wzrostem ( $168,0 \pm 5,8$  vs  $171,8 \pm 7,3$  cm,  $p < 0,001$ ), większą masą ciała ( $80,4 \pm 13,9$  vs  $73,1 \pm 7,3$  kg,  $p < 0,001$ ) i wyższą procentową zawartością tkanki tłuszczowej ( $30,0 \pm 8,6$  vs  $18,5 \pm 7,1$  %,  $p < 0,001$ ) oraz większym wskaźnikiem masy ciała ( $28,8 \pm 5,1$  vs  $24,6 \pm 4,3$  kg/m<sup>2</sup>,  $p < 0,001$ ) w stosunku do grupy młodszej. Młodszy uczestnicy badania znamienne częściej deklarowali palenie papierosów ( $15,5$  vs  $9,4$  %,  $p = 0,02$ ). Natomiast w obu grupach wiekowych mężczyźni w porównaniu do kobiet częściej regularnie spożywali alkohol (rodzice:  $33,3$  % vs  $14,8$  %,  $p < 0,01$ ; potomkowie:  $43,0$  % vs  $10,5$  %,  $p < 0,001$ ).

W obrębie obu pokoleń mężczyźni, w porównaniu do kobiet, charakteryzowali się wyższym wzrostem (rodzice  $174,1 \pm 5,7$  vs  $161,9 \pm 5,8$  cm,  $p < 0,001$ ; potomkowie  $178,1 \pm 7,7$  vs  $165,5 \pm 6,9$  cm,  $p < 0,001$ ) oraz większą masą ciała (rodzice  $86,2 \pm 13,4$  vs  $76,2 \pm 14,2$  kg,  $p < 0,001$ ; potomkowie  $82,6 \pm 13,6$  vs  $64,2 \pm 13,4$  kg,  $p < 0,001$ ). Wśród pokolenia rodziców, mężczyźni w porównaniu do kobiet charakteryzowali się istotnie niższą zawartością tkanki tłuszczowej ( $24,1 \pm 7,7$  vs  $30,7 \pm 9,3$  %,  $p < 0,001$ ). Natomiast w obrębie młodszej pokolenia, mężczyźni mieli większy wskaźnik masy ciała niż kobiety ( $26,0 \pm 3,6$  vs  $23,4 \pm 4,5$  kg/m<sup>2</sup>,  $p < 0,001$ ). Pokolenie rodziców wykazało wyższe niż potomkowie wartości skurczowego ( $135,3 \pm 17,0$  vs  $122,7 \pm 13,3$  mm Hg,  $p < 0,001$ ) oraz rozkurczowego ( $86,3 \pm 10,1$  vs  $83,6 \pm 9,9$  mm Hg,  $p < 0,05$ ) ciśnienia tętniczego w

pomiarach gabinetowych. Ponadto, mężczyźni z młodszego pokolenia wykazywali wyższe gabinetowe ciśnienie skurczowe ( $128,3 \pm 11,1$  vs  $117,5 \pm 13,1$  mm Hg,  $p < 0,001$ ) i rozkurczowe ( $85,7 \pm 10,1$  vs  $81,8 \pm 9,3$  mm Hg,  $p < 0,01$ ) w porównaniu do kobiet (Tabela 2).

Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami pokoleniowymi w wartościach ciśnień z ambulatoryjnego monitorowania, za wyjątkiem dziennego ciśnienia rozkurczowego, które było niższe w grupie rodziców ( $75,4 \pm 7,7$  vs  $77,4 \pm 8,2$  mm Hg,  $p < 0,05$ ). Analiza wartości ciśnień z ABPM w starszym pokoleniu wykazała wyższe ciśnienia skurczowe całodobowe ( $122,7 \pm 10$  vs  $119,2 \pm 10,5$  mm Hg,  $p < 0,05$ ), rozkurczowe całodobowe ( $74,8 \pm 7$  vs  $70,4 \pm 7,2$  mm Hg,  $p < 0,001$ ), rozkurczowe dzienne ( $78,1 \pm 7,3$  vs  $73,6 \pm 7,5$  mm Hg,  $p < 0,001$ ) oraz rozkurczowe nocne ( $67,0 \pm 8,4$  vs  $62,4 \pm 7,4$  mm Hg,  $p = 0,001$ ) u mężczyzn w porównaniu do kobiet. Wśród potomków synowie wykazywali istotnie wyższe wartości ciśnienia skurczowego, jak i rozkurczowego, z okresu całej doby ( $124,1/76,1 \pm 8,8/8,5$  vs  $114,4/71,9 \pm 9,4/6,8$  mm Hg,  $p < 0,001$ ), dnia ( $127,7/79,3 \pm 9,3/9$  vs  $118,1/75,6 \pm 9,4/7$  mm Hg,  $p < 0,001$ ) i nocy ( $115,2/67,7 \pm 9,8/8,4$  vs  $105,4/62,9 \pm 10,4/7,8$  mm Hg,  $p < 0,001$ ). Nadciśnienie tętnicze częściej występowało u rodziców (80,4 % vs 32,7 %,  $p < 0,001$ ). W starszym pokoleniu częstość występowania nadciśnienia tętniczego była podobna u obu płci (80,7 % mężczyzn; 80,3 % kobiet), natomiast wśród osób młodszych chorowało istotnie więcej mężczyzn (45,6 % vs 20,9 %,  $p < 0,001$ ). Osób przyjmujących leki hipotensyjne było istotnie więcej wśród rodziców niż dzieci (63 % vs 10,9 %,  $p < 0,001$ ). Na podstawie analizy składu ciała metodą bioimpedancji stwierdzono, że mężczyźni, w porównaniu do kobiet z obu grup wiekowych charakteryzowali się wyższą procentową zawartością wody w organizmie (rodzice  $47,0 \pm 5,8$  vs  $34,3 \pm 3,9$  %,  $p < 0,001$ ; potomkowie  $45,1 \pm 5,0$  vs  $31,9 \pm 4,1$  %,  $p < 0,001$ ), uwzględniając również płyn zewnątrzkomórkowy (rodzice  $19,7 \pm 2,4$  vs  $16,3 \pm 1,9$  %,  $p < 0,001$ ; potomkowie  $18,9 \pm 1,9$  vs  $15,9 \pm 6$  %,  $p < 0,001$ ) i wewnątrzkomórkowy (rodzice  $26,8 \pm 3,3$  vs  $18,8 \pm 2,7$  %,  $p < 0,001$ ; potomkowie  $26,2 \pm 3,5$  vs  $16,8 \pm 3,5$  %,  $p < 0,001$ ) (Tabela 2).

Analizując wyniki morfologii krwi oraz oznaczeń biochemicznych we krwi wykazano, iż rodzice w porównaniu z potomkami charakteryzowali się istotnie wyższymi hematokrytem ( $42,2 \pm 3,1$  vs  $41,4 \pm 3,8$  %,  $p = 0,04$ ), niższym szacowanym przesączaniem kłębuszkowym ( $87,1 \pm 16,4$  vs  $100,3 \pm 17,8$  ml/min/1.73m<sup>2</sup>,  $p < 0,001$ ) oraz niższym klirensiem kreatyniny ( $11,8 \pm 6,9$  vs  $14,7 \pm 14,8$  mmol/24h,  $p < 0,05$ ). W obu pokoleniach, u płci męskiej

stwierdzono istotnie wyższe poziomy, niż u kobiet, następujących oznaczeń laboratoryjnych: liczba erytrocytów (rodzice:  $5,0 \pm 0,4$  vs  $4,6 \pm 0,3$  mln/ $\mu$ l,  $p < 0,001$ ; potomkowie:  $5,1 \pm 0,3$  vs  $4,5 \pm 0,3$  mln/ $\mu$ l,  $p < 0,001$ ), hemoglobina (rodzice:  $15,1 \pm 1,1$  vs  $13,7 \pm 1,7$  g/dl,  $p < 0,001$ ; potomkowie:  $15,2 \pm 0,8$  vs  $13,1 \pm 1,4$  g/dl,  $p < 0,001$ ), hematokryt (rodzice:  $43,9 \pm 2,8$  % vs  $41,1 \pm 2,8$  %,  $p < 0,001$ ; potomkowie:  $44,0 \pm 2,2$  vs  $38,9 \pm 3,4$  %,  $p < 0,001$ ), kreatynina (rodzice:  $81,2 \pm 11,5$  vs  $68,1 \pm 12,7$   $\mu$ mol/l,  $p < 0,001$ ; potomkowie:  $82,7 \pm 13,0$  vs  $64,7 \pm 9,3$   $\mu$ mol/l,  $p < 0,001$ ). W grupie rodziców u mężczyzn w porównaniu do kobiet obserwowano wyższe wartości szacowanego przesączania kłębuszkowego ( $91,0 \pm 14,2$  vs  $84,3 \pm 17,3$  ml/min/1.73m<sup>2</sup>,  $p = 0,02$ ) oraz niższe stężenia sodu w surowicy ( $139,5 \pm 2,1$  vs  $140,7 \pm 2,2$  mmol/l,  $p < 0,01$ ). Po analizie wyników specjalistycznych oznaczeń biochemicznych wykazano istotne różnice międzypokoleniowe stężenia interleukiny-6 w osoczu (rodzice:  $1,9 \pm 1$  vs potomkowie  $1,4 \pm 1,1$  pg/ml,  $p < 0,001$ ). W grupie osób młodszych, mężczyźni wykazywali istotnie wyższe stężenie mieloperoksydazy w osoczu ( $97,3 \pm 122,3$  vs  $55,4 \pm 67,6$   $\mu$ g/24h,  $p < 0,01$ ). Takich różnic nie zaobserwowano w grupie rodziców. Nie stwierdzono różnic pomiędzy stężeniem VEGF-C w surowicy zarówno między pokoleniami, jak i płciami (Tabela 3).

Na podstawie analizy próbek moczu uzyskanych z dobowej zbiórki moczu wykazano wyższe wartości cząstkowego wydalania sodu w grupie rodziców ( $0,82 \pm 0,31$  vs  $0,68 \pm 0,29$  %,  $p < 0,001$ ), dodatkowo były one wyższe u ojców w porównaniu z matkami ( $0,92 \pm 0,37$  vs  $0,74 \pm 0,27$  %,  $p = 0,001$ ). W młodszej generacji kobiety charakteryzowały się wyższym cząstkowym wydalaniem litu niż mężczyźni ( $0,92 \pm 0,37$  vs  $0,74 \pm 0,27$  %,  $p = 0,001$ ). W obu grupach wiekowych mężczyźni wykazywali wyższe wartości klirensu sodu niż kobiety (rodzice:  $1,09 \pm 0,48$  % vs  $0,72 \pm 0,27$  %,  $p < 0,001$ ; potomkowie:  $0,91 \pm 0,37$  vs  $0,71 \pm 0,28$  %,  $p < 0,001$ ) (Tabela 4).

TABELA 2 CHARAKTERYSTYKA POPULACJI Z PODZIAŁEM NA GRUPĘ POKOLENIOWĄ I PŁEĆ

	Ojcowie		Matki		p	Synowie		Córki		p	Ppok
<b>N (303)</b>	57	41,3%	81	58,7%		79	47,88%	84	52,12%		
	<b>średnia</b>	<b>SD</b>	<b>średnia</b>	<b>SD</b>		<b>średnia</b>	<b>SD</b>	<b>średnia</b>	<b>SD</b>		
<b>Wiek (lat)</b>	62,03	8,39	61,20	7,53	0,54	33,95	7,84	35,61	8,88	0,21	<,0001
<b>Wzrost (cm)</b>	174,07	5,72	161,85	5,79	<,0001	178,06	7,66	165,50	6,91	<,0001	<,0001
<b>Waga (kg)</b>	86,24	13,43	76,18	14,21	<,0001	82,57	13,56	64,19	13,36	<,0001	<,0001
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	28,48	4,30	29,11	5,56	0,47	26,00	3,60	23,40	4,51	<,0001	<,0001
<b>SBP (mm Hg)</b>	138,09	16,98	133,26	16,85	0,10	128,27	11,08	117,53	13,07	<,0001	<,0001
<b>DBP (mm Hg)</b>	86,17	9,80	86,44	10,41	0,10	85,67	10,09	81,76	9,33	<,0001	0,02
	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>		<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>		
<b>Nadciśnienie tętnicze</b>	46,00	80,70	66,00	80,25	0,95	36,00	45,57	18,00	20,93	0,00	<,0001
<b>Leczenie hipotensyjne</b>	25,00	61,40	52,00	64,20	0,74	10,00	12,66	8,00	9,30	0,49	<,0001
<b>Palenie</b>	7,00	12,28	6,00	7,41	0,33	16,00	20,25	15,00	17,44	0,64	0,02
<b>Picie alkoholu</b>	19,00	33,33	12,00	14,81	0,01	34,00	43,04	9,00	10,47	<,0001	0,47

PPOK – P DLA RÓŻNICY MIĘDZY POKOLENIAMI, BMI – WSKAŹNIK MASY CIAŁA (BODY MASS INDEX), SBP – GABINETOWE SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE (SYSTOLIC BLOOD PRESSURE), DBP – GABINETOWE ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE (DIASTOLIC BLOOD PRESSURE),

TABELA 3 WYNIKI CAŁODOBOWEGO MONITOROWANIA CIŚNIENIA TĘTNICZEGO ORAZ BIOIMPEDANCJI W BADANEJ POPULACJI Z PODZIAŁEM NA GRUPĘ POKOLENIOWĄ I PŁEĆ

	Ojcowie		Matki		p	Synowie		Córki		p	Ppok
	średnia	SD	średnia	SD		średnia	SD	średnia	SD		
<b>SBP 24 (mm Hg)</b>	122,74	10,05	119,16	10,53	0,05	124,05	8,81	114,42	9,41	<,0001	<b>0,18</b>
<b>DBP 24 (mm Hg)</b>	74,84	6,97	70,38	7,16	0,00	76,06	8,50	71,91	6,84	0,00	<b>0,06</b>
<b>SBP d (mm Hg)</b>	126,47	9,91	122,94	11,29	0,06	127,73	9,32	118,06	9,41	<,0001	<b>0,17</b>
<b>DBP d (mm Hg)</b>	78,05	7,30	73,59	7,52	0,00	79,28	8,97	75,60	6,99	0,00	<b>0,04</b>
<b>SBP n (mm Hg)</b>	113,72	13,03	110,01	10,97	0,07	115,23	9,81	105,37	10,38	<,0001	<b>0,28</b>
<b>DBP n (mm Hg)</b>	66,98	8,37	62,43	7,38	0,00	67,65	8,46	62,94	7,77	0,00	<b>0,36</b>
<b>BFAT (%)</b>	24,15	7,66	30,68	9,27	0,00	17,58	6,87	19,37	7,24	0,17	<b>&lt;,0001</b>
<b>TBW (%)</b>	47,03	5,88	34,31	3,93	<,0001	45,11	5,00	31,91	4,07	<,0001	<b>0,10</b>
<b>ECF (%)</b>	19,70	2,41	16,25	1,85	<,0001	18,90	1,93	15,85	6,01	0,00	<b>0,40</b>
<b>ICF (%)</b>	26,84	3,34	18,80	2,69	<,0001	26,28	3,46	16,77	3,52	<,0001	<b>0,14</b>

PPOK – P DLA RÓŻNICY MIĘDZY POKOLENIAMI, SBP 24 – SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU 24 GODZIN (SYSTOLIC BLOOD PRESSURE), DBP 24 – ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU 24 GODZIN (DIASTOLIC BLOOD PRESSURE), SBP D - SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU DNIA, DBP D - ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU DNIA, SBP N - SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU NOCY, DBP N - ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU NOCY, BFAT – ZAWARTOŚĆ TŁUSZCZU W ORGANIZMIE (BODY FAT), TBW – CAŁKOWITA ZAWARTOŚĆ WODY W ORGANIZMIE (TOTAL BODY WATER), ECF – PŁYN ZEWNĄTRZKOMÓRKOWY (EXTRACELLULAR FLUID), ICF – PŁYN WEWNĄTRZKOMÓRKOWY (INTRACELLULAR FLUID)

TABELA 4 WYNIKI OZNACZEŃ LABORATORYJNYCH W BADANEJ POPULACJI

	Ojcowie		Matki		p	Synowie		Córki		p	Ppok
	średnia	SD	średnia	SD		średnia	SD	średnia	SD		
WBC (10 <sup>3</sup> /ul)	6,20	1,50	5,95	1,47	0,33	6,39	1,65	6,24	1,68	0,58	<b>0,15</b>
RBC (10 <sup>6</sup> /ul)	5,04	0,37	4,64	0,34	<,0001	5,15	0,29	4,53	0,35	<,0001	<b>0,63</b>
HGB (g/dl)	15,10	1,11	13,65	1,70	<,0001	15,23	0,83	13,07	1,41	<,0001	<b>0,43</b>
HTC (%)	43,88	2,78	41,06	2,79	<,0001	44,04	2,15	38,95	3,37	<,0001	<b>0,04</b>
Kreatynina (umol/l)	81,21	11,46	68,10	12,68	<,0001	82,68	12,95	64,69	9,31	<,0001	<b>0,90</b>
eGFR (ml/min/1,73m <sup>2</sup> )	91,02	14,20	84,35	17,29	0,02	101,33	16,43	99,33	19,09	0,47	<,0001
VEGF-C (pg/ml)	1241,77	557,79	1307,57	782,40	0,59	1176,76	755,89	1265,71	731,20	0,45	<b>0,49</b>
CRP (mg/l)	2,21	2,43	3,38	4,44	0,07	2,50	5,80	1,87	2,37	0,36	<b>0,12</b>
IL-6 (pg/ml)	1,83	0,89	1,92	1,06	0,62	1,37	1,09	1,39	1,10	0,90	<,0001
MPO (ng/ml)	81,95	82,53	69,49	121,33	0,50	97,29	122,40	55,43	67,58	0,01	<b>0,93</b>
Wydalenie Na w moczu (mmol/d)	218,26	95,32	146,20	54,14	<,0001	182,95	74,27	141,96	55,66	<,0001	<b>0,10</b>
Klirens litu (ml/min/1,73m <sup>2</sup> )	23,40	18,58	22,80	26,34	0,88	21,09	11,76	23,83	21,05	0,31	<b>0,82</b>
Klirens sodu (ml/min/1,73m <sup>2</sup> )	1,09	0,48	0,72	0,27	<,0001	0,91	0,37	0,71	0,28	0,01	<b>0,12</b>
Klirens kreatyniny (ml/min/1,73m <sup>2</sup> )	121,56	38,36	107,48	81,07	0,23	152,14	146,91	125,33	119,04	0,20	<b>0,05</b>
FENa [%]	0,92	0,37	0,74	0,27	0,001	0,69	0,28	0,68	0,30	0,83	<b>0,01</b>
FELi [%]	20,01	16,80	22,75	28,98	0,52	16,08	8,82	23,26	21,01	0,01	<b>0,45</b>
FDRNa [%]	93,67	4,81	95,22	3,13	0,02	94,55	3,38	95,86	2,45	0,005	<b>0,11</b>

PPOK – P DLA RÓŻNICY MIĘDZY POKOLENIAMI, WBC – LEUKOCYTY (WHITE BLOOD CELLS), RBC – ERYTROCYTY (RED BLOOD CELLS), HGB – HEMOGLOBINA (HEMOGLOBIN), HTC – HEMATOKRYT (HEMATOCRIT), EGFR – OSZACOWANE PRZESĄCZANIE KŁĘBUSZKOWE (ESTIMATED GLOMERULAR FILTRATION RATE), VEGF-C – ŚRÓDBŁONKOWY CZYNNIK WZROSTU NACZYŃ TYPU C (VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR TYPE C), CRP – BIAŁKO C-REAKTYWNE (C-REACTIVE PROTEIN), IL-6 – INTERLEUKINA 6 (INTERLEUKIN 6), MPO – MIELOPEROKSYDAZA (MYELOPEROXIDASE), FENA – CZĄSTKOWE WYDALANIE SODU, FELI – CZĄSTKOWE WYDALANIE LITU, FDRNA - CZĄSTKOWA REABSORBCJA SODU W CEWCE DALSZEJ

## ZMIENNE POWIĄZANE

Do wyodrębnienia czynników powiązanych z analizowanymi fenotypami zastosowano analizę regresji krokowej. We wszystkich analizach uwzględniono wiek i płeć badanych. Wartości ciśnienia skurczowego w pomiarach 24-godzinnych korelowały ze wskaźnikiem masy ciała ( $\beta \pm \text{SD}$ :  $0,48 \pm 0,22$  mm Hg,  $p=0,0001$ ), przyjmowaniem leków przeciwnadciśnieniowych ( $-0,21 \pm 1,41$  mm Hg,  $p=0,08$ ), paleniem tytoniu ( $1,07 \pm 1,58$  mm Hg,  $p=0,08$ ) i spożywaniem alkoholu ( $2,67 \pm 1,34$  mm Hg,  $p=0,04$ ). Te same zmienne powiązane wykorzystano dla wszystkich analizowanych wartości ciśnienia tętniczego w celu jednolitej interpretacji wyników.

## ZALEŻNOŚĆ MIĘDZY STĘŻENIEM VEGF-C A WARTOŚCIAMI CIŚNIENIA TĘTNICZEGO

Analizy regresji wieloczynnikowej standaryzowano z uwzględnieniem wieku, płci, wskaźnika masy ciała, zażywania leków przeciwnadciśnieniowych, palenia tytoniu, deklarowanego spożycia alkoholu.

Dla całej grupy badanych nie stwierdzono zależności pomiędzy stężeniem VEGF-C a wartościami ciśnienia tętniczego z całej doby, okresu dnia i nocy. Przy analizie podgrupy nieleczonej hipotensyjnie zaobserwowano negatywną zależność pomiędzy stężeniem VEGF-C a skurczowym ( $\beta$  [Beta – współczynnik regresji]  $-0,0017$   $p=0,047$ ) i rozkurczowym ( $\beta$   $-0,0014$   $p=0,049$ ) ciśnieniem tętniczym z okresu całej doby. Takiego związku nie wykazano dla populacji przyjmującej leki przeciwnadciśnieniowe (Tabela 5, Tabela 6, Tabela 7).

Przy wykluczeniu z grupy badanej uczestników podejrzewanych o stan zapalny ( $\text{CRP} > 5$  mg/l) w podgrupie nieleczonej hipotensyjnie wykazano dodatkowo negatywną zależność między stężeniem VEGF-C a skurczowym ciśnieniem tętniczym z okresu dnia ( $\beta$   $-0,0019$   $p=0,039$ ) i nocy ( $\beta$   $-0,002$   $p=0,0454$ ). W grupie leczonej hipotensyjnie nie wykazano dodatkowych zależności (Tabela 8, Tabela 9).

Przy podziale populacji badanej ze względu na cząstkowe wydalenie litu (FELi) ani w podgrupie z FELi poniżej mediany, ani w podgrupie z FELi powyżej mediany, nie uzyskano istotnej statystycznie zależności pomiędzy stężeniem VEGF-C a wartościami ciśnienia tętniczego. Natomiast stosując powyższy podział tylko dla uczestników nieleczonych hipotensyjnie w podgrupie z FELi poniżej mediany wykazano negatywny związek pomiędzy stężeniem VEGF-C a rozkurczowym ciśnieniem tętniczym z całej doby



( $\beta$  -0,0027  $p=0,0183$ ), okresu dnia ( $\beta$  -0,0028  $p=0,0227$ ), nocy ( $\beta$  -0,0027  $p=0,0337$ ) oraz skurczowym ciśnieniem tętniczym z okresu nocy ( $\beta$  -0.0033  $p=0,0446$ ). W podgrupie z frakcyjnym wydalaniem litu powyżej mediany nie wykazano takiej zależności (Tabela 10, Tabela 11).

TABELA 5 WYNIKI REGRESJI WIELOCZYNNIKOWEJ. STĘŻENIE ŚRÓDBŁONKOWEGO CZYNNIKA WZROSTU NACZYŃ TYPU C W SUROWICY A WARTOŚCI CIŚNIENIA TĘTNICZEGO W CAŁODOBOWYM MONITOROWANIU W BADANEJ POPULACJI

	Współczynnik beta	SE	p
<b>SBP 24</b>	-0,001	0,000758	<b>0,1878</b>
<b>DBP 24</b>	-0,0009	0,000601	<b>0,136</b>
<b>SBP d</b>	-0,00092	0,000784	<b>0,2419</b>
<b>DBP d</b>	-0,00074	0,000634	<b>0,2469</b>
<b>SBP n</b>	-0,00126	0,000867	<b>0,1474</b>
<b>DBP n</b>	-0,00093	0,000647	<b>0,1508</b>

STANDARYZOWANE WZGLĘDEM PŁCI, WIEKU, BMI, LECZENIA HIPOTENSyjNEGO, STYLU ŻYCIA, WYDALANIA SODU.

SBP 24 – SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU 24 GODZIN (SYSTOLIC BLOOD PRESSURE), DBP 24 – ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU 24 GODZIN (DIASTOLIC BLOOD PRESSURE), SBP D - SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU DNIA, DBP D - ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU DNIA, SBP N - SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU NOCY, DBP N - ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU NOCY

TABELA 6 WYNIKI REGRESJI WIELOCZYNNIKOWEJ. STĘŻENIE ŚRÓDBŁONKOWEGO CZYNNIKA WZROSTU NACZYŃ TYPU C W SUROWICY A WARTOŚCI CIŚNIENIA TĘTNICZEGO W CAŁODOBOWYM MONITOROWANIU W POPULACJI NIELECZONEJ HIPOTENSYJNIE

	Współczynnik beta		SE	p
<b>SBP 24</b>	-0,00172		0,000859	<b>0,0473</b>
<b>DBP 24</b>	-0,00141		0,000706	<b>0,0491</b>
<b>SBP d</b>	-0,00168		0,000889	<b>0,061</b>
<b>DBP d</b>	-0,00137		0,000755	<b>0,0735</b>
<b>SBP n</b>	-0,00194		0,00099	<b>0,0532</b>
<b>DBP n</b>	-0,00102		0,000747	<b>0,1753</b>

STANDARYZOWANE WZGLĘDEM PŁCI, WIEKU, BMI, LECZENIA HIPOTENSYJNEGO, STYLU ŻYCIA, WYDALANIA SODU.

SBP 24 – SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU 24 GODZIN (SYSTOLIC BLOOD PRESSURE), DBP 24 – ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU 24 GODZIN (DIASTOLIC BLOOD PRESSURE), SBP D - SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU DNIA, DBP D - ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU DNIA, SBP N - SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU NOCY, DBP N - ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU NOCY

TABELA 7 WYNIKI REGRESJI WIELOCZYNNIKOWEJ. STĘŻENIE ŚRÓDBŁONKOWEGO CZYNNIKA WZROSTU NACZYŃ TYPU C W SUROWICY A WARTOŚCI CIŚNIENIA TĘTNICZEGO W CAŁODOBOWYM MONITOROWANIU W POPULACJI LECZONEJ HIPOTENSYJNIE

	Współczynnik beta		SE	p
<b>SBP 24</b>	0,00049		0,001484	<b>0,7434</b>
<b>DBP 24</b>	0,000327		0,001078	<b>0,7638</b>
<b>SBP d</b>	0,000597		0,001546	<b>0,7018</b>
<b>DBP d</b>	0,000583		0,001113	<b>0,6039</b>
<b>SBP n</b>	-0,00002		0,001628	<b>0,9914</b>
<b>DBP n</b>	-0,00027		0,001189	<b>0,819</b>

STANDARYZOWANE WZGLĘDEM PŁCI, WIEKU, BMI, LECZENIA HIPOTENSYJNEGO, STYLU ŻYCIA, WYDALANIA SODU.

SBP 24 – SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU 24 GODZIN (SYSTOLIC BLOOD PRESSURE), DBP 24 – ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU 24 GODZIN (DIASTOLIC BLOOD PRESSURE), SBP D - SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU DNIA, DBP D - ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU DNIA, SBP N - SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU NOCY, DBP N - ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU NOCY

TABELA 8 WYNIKI REGRESJI WIELOCZYNNIKOWEJ. STĘŻENIE ŚRÓDBŁONKOWEGO CZYNNIKA WZROSTU NACZYŃ TYPU C W SUROWICY A WARTOŚCI CIŚNIENIA TĘTNICZEGO W CAŁODOBOWYM MONITOROWANIU W POPULACJI NIELECZONEJ HIPOTENSYJNIE (WYKLUCZAJĄC CRP > 5 MG/L)

	Współczynnik beta		SE	p
<b>SBP 24</b>	-0,0019		0,000863	<b>0,0302</b>
<b>DBP 24</b>	-0,00146		0,00073	<b>0,0491</b>
<b>SBP d</b>	-0,00188		0,0009	<b>0,039</b>
<b>DBP d</b>	-0,00139		0,000777	<b>0,0769</b>
<b>SBP n</b>	-0,00202		0,000999	<b>0,0454</b>
<b>DBP n</b>	-0,00106		0,000773	<b>0,1725</b>

STANDARYZOWANE WZGLĘDEM PŁCI, WIEKU, BMI, LECZENIA HIPOTENSYJNEGO, STYLU ŻYCIA, WYDALANIA SODU.

SBP 24 – SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU 24 GODZIN (SYSTOLIC BLOOD PRESSURE), DBP 24 – ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU 24 GODZIN (DIASTOLIC BLOOD PRESSURE), SBP D - SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU DNIA, DBP D - ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU DNIA, SBP N - SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU NOCY, DBP N - ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU NOCY

TABELA 9 WYNIKI REGRESJI WIELOCZYNNIKOWEJ. STĘŻENIE ŚRÓDBŁONKOWEGO CZYNNIKA WZROSTU NACZYŃ TYPU C W SUROWICY A WARTOŚCI CIŚNIENIA TĘTNICZEGO W CAŁODOBOWYM MONITOROWANIU W POPULACJI LECZONEJ HIPOTENSYJNIE (WYKLUCZAJĄC CRP > 5 MG/L)

	Współczynnik beta		SE	p
<b>SBP 24</b>	0,000401		0,001449	<b>0,7844</b>
<b>DBP 24</b>	0,000232		0,001156	<b>0,8425</b>
<b>SBP d</b>	0,000467		0,001538	<b>0,7639</b>
<b>DBP d</b>	0,000506		0,001196	<b>0,6758</b>
<b>SBP n</b>	-0,00009		0,001598	<b>0,9537</b>
<b>DBP n</b>	-0,00034		0,001282	<b>0,7908</b>

STANDARYZOWANE WZGLĘDEM PŁCI, WIEKU, BMI, LECZENIA HIPOTENSYJNEGO, STYLU ŻYCIA, WYDALANIA SODU.

SBP 24 – SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU 24 GODZIN (SYSTOLIC BLOOD PRESSURE), DBP 24 – ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU 24 GODZIN (DIASTOLIC BLOOD PRESSURE), SBP D - SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU DNIA, DBP D - ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU DNIA, SBP N - SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU NOCY, DBP N - ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU NOCY

TABELA 10 WYNIKI REGRESJI WIELOCZYNNIKOWEJ. STĘŻENIE ŚRÓDBŁONKOWEGO CZYNNIKA WZROSTU NACZYŃ TYPU C W SUROWICY A WARTOŚCI CIŚNIENIA TĘTNICZEGO W CAŁODOBOWYM MONITOROWANIU W POPULACJI NIELECZONEJ HIPOTENSYJNIE I Z CZĄSTKOWYM WYDALANIEM LITU PRZEKRACZAJĄCYM MEDIANĘ W BADANEJ POPULACJI

	Współczynnik beta		SE	p
<b>SBP 24</b>	-0,00076		0,001066	<b>0,4791</b>
<b>DBP 24</b>	0,000078		0,000882	<b>0,9297</b>
<b>SBP d</b>	-0,00083		0,001112	<b>0,4626</b>
<b>DBP d</b>	0,000058		0,000977	<b>0,9534</b>
<b>SBP n</b>	-0,00083		0,001183	<b>0,4867</b>
<b>DBP n</b>	0,00063		0,00086	<b>0,4686</b>

STANDARYZOWANE WZGLĘDEM PŁCI, WIEKU, BMI, LECZENIA HIPOTENSYJNEGO, STYLU ŻYCIA, WYDALANIA SODU.

SBP 24 – SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU 24 GODZIN (SYSTOLIC BLOOD PRESSURE), DBP 24 – ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU 24 GODZIN (DIASTOLIC BLOOD PRESSURE), SBP D - SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU DNIA, DBP D - ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU DNIA, SBP N - SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU NOCY, DBP N - ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU NOCY

TABELA 11 WYNIKI REGRESJI WIELOCZYNNIKOWEJ. STĘŻENIE ŚRÓDBŁONKOWEGO CZYNNIKA WZROSTU NACZYŃ TYPU C W SUROWICY A WARTOŚCI CIŚNIENIA TĘTNICZEGO W CAŁODOBOWYM MONITOROWANIU W POPULACJI NIELECZONEJ HIPOTENSYJNIE I Z CZĄSTKOWYM WYDALANIEM LITU MNIEJSZYM NIŻ MEDIANA W BADANEJ POPULACJI

	Współczynnik beta		SE	p
<b>SBP 24</b>	-0,00271		0,001342	<b>0,0512</b>
<b>DBP 24</b>	-0,00274		0,001109	<b>0,0183</b>
<b>SBP d</b>	-0,00246		0,0014	<b>0,0868</b>
<b>DBP d</b>	-0,00278		0,001169	<b>0,0227</b>
<b>SBP n</b>	-0,00327		0,00157	<b>0,0446</b>
<b>DBP n</b>	-0,00268		0,001215	<b>0,0337</b>

STANDARYZOWANE WZGLĘDEM PŁCI, WIEKU, BMI, LECZENIA HIPOTENSYJNEGO, STYLU ŻYCIA, WYDALANIA SODU.

SBP 24 – SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU 24 GODZIN (SYSTOLIC BLOOD PRESSURE), DBP 24 – ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU 24 GODZIN (DIASTOLIC BLOOD PRESSURE), SBP D - SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU DNIA, DBP D - ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU DNIA, SBP N - SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU NOCY, DBP N - ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU NOCY

## DETERMINANTY OSOCZOWEGO STĘŻENIA VEGF-C

W badanej populacji nie stwierdzono istotnej różnicy w stężeniu VEGF-C w surowicy pomiędzy osobami chorującymi na nadciśnienie tętnicze a pozostałymi uczestnikami badania (Rycina 1). W grupie badanej, w analizie jednoczynnikowej wykazano istotną, pozytywną korelację pomiędzy stężeniem VEGF-C w surowicy a procentową zawartością płynu zewnątrzkomórkowego ( $r\ 0,1897\ p=0,0047$ ) oraz osoczym stężeniem aldosteronu ( $r\ 0,1406\ p=0,0148$ ). Związek ten był silniej wyrażony w podgrupie pacjentów nieleczonych przeciwnadciśnieniowo (odpowiednio  $r\ 0,23623\ p=0,003$  i  $r\ 0,0148\ p=0,0015$ ). W podgrupie osób leczonych hipotensyjnie nie wykazano istotnej zależności pomiędzy stężeniem VEGF-C w surowicy a badanymi zmiennymi (Tabela 12). Korzystając z analizy regresji krokowej wśród determinantów osocznego stężenia VEGF-C w modelu pozostały: procentowa zawartość płynu zewnątrzkomórkowego ( $r^2\ 0,038\ p=0,0047$ ), osocze stężenie aldosteronu ( $r^2\ 0,0635\ p=0,0123$ ) oraz osocze stężenie mieloperoksydazy ( $r^2\ 0,0752\ p=0,0996$ ). Zaproponowany model wyjaśniał 7,5 % obserwowanej zmiennej stężenia VEGF-C w surowicy (Tabela 13).

TABELA 12 WYNIKI ANALIZY KORELACJI POMIĘDZY OSOCZOWYM STĘŻENIEM VEGF-C A POSZCZEGÓLNYMI ZMIENNYMI.

	Cała populacja		Nieleczeni hipotensyjnie		Leczeni hipotensyjnie	
	Współczynnik korelacji	p	Współczynnik korelacji	p	Współczynnik korelacji	p
Wiek	0,03278	0,5717	0,00742	0,918	0,06834	0,4885
Płeć	0,05679	0,3269	0,06129	0,3947	0,04571	0,6434
BMI	0,09715	0,093	0,12899	0,0723	0,04295	0,6635
ECF	0,18974	<b>0,0047</b>	0,23623	<b>0,003</b>	0,01939	0,8791
ICF	0,03892	0,5659	0,04727	0,5579	-0,00773	0,9516
TBW	0,03456	0,6069	0,0666	0,4072	-0,05446	0,6616
CRP	-0,04863	0,4013	-0,01709	0,8126	-0,0933	0,3438
MPO	-0,09501	0,1005	-0,08183	0,2554	-0,11909	0,2263
IL 6	-0,01126	0,8476	0,00496	0,9454	-0,06482	0,5196
Wydalenie Na w moczu	-0,02356	0,6844	-0,06899	0,3379	0,04215	0,6694
Na w surowicy	0,02101	0,7175	0,05681	0,4314	-0,05439	0,5816
ARO	0,01551	0,8182	0,12205	0,1509	-0,11639	0,2977
Wydalenie aldosteronu w moczu	0,01963	0,7349	0,07005	0,3305	-0,10446	0,2889
Aldosteron w surowicy	0,14058	<b>0,0148</b>	0,2263	<b>0,0015</b>	-0,10808	0,2724
FELi	0,03624	0,5318	0,03866	0,5916	0,03636	0,7127

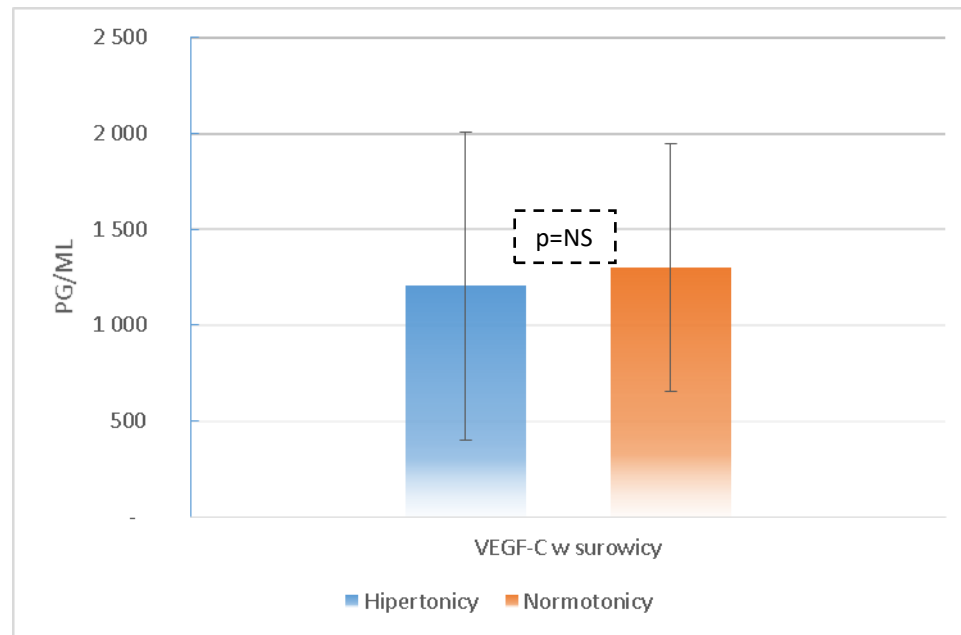
ECF – PŁYN ZEWNĄTRZKOMÓRKOWY (EXTRACELLULAR FLUID), ICF – PŁYN WEWNĄTRZKOMÓRKOWY (INTRACELLULAR FLUID), TBW – CAŁKOWITA ZAWARTOŚĆ WODY W ORGANIZMIE (TOTAL BODY WATER), CRP – BIAŁKO C-REAKTYWNE (C-REACTIVE PROTEIN), MPO – MIELOPEROKSYDAZA (MYELOPEROXIDASE), IL-6 – INTERLEUKINA 6 (INTERLEUKIN 6), BMI – WSKAŹNIK MASY CIAŁA (BODY MASS INDEX), ARO – AKTYWNOŚĆ RENINOWA OSOCZA, FELi – CZĄSTKOWE WYDALANIE LITU

TABELA 13 WYNIKI ANALIZY REGRESJI KROKOWEJ POMIĘDZY OSOCZOWYM STĘŻENIEM VEGF-C A POSZCZEGÓLNYMI ZMIENNYMI.

Krok	Zmienna	R <sup>2</sup> cząstkowy	R <sup>2</sup> modelu	Wartość F	p
1	ECF	0,036	0,036	8,14	0,0047
2	Płeć	0,0275	0,0635	6,37	0,0123
3	MPO	0,0117	0,0752	2,74	0,0996

ECF – PŁYN ZEWNĄTRZKOMÓRKOWY (EXTRACELLULAR FLUID), MPO – MIELOPEROKSYDAZA (MYELOPEROXIDASE)

RYCINA 2 STĘŻENIE VEGF-C W SUROWICY U OSÓB CHOROJĄCYCH NA NADCIŚNIENIE TĘNICZE I U POZOSTAŁYCH UCZESTNIKÓW BADANIA.





#### WPLYW NA CIŚNIENIE TĘTNICZE INTERAKCJI POMIĘDZY OSOCZOWYM STĘŻENIEM VEGF-C A WYDALANIEM SODU

Dla całej grupy badanych nie stwierdzono wpływu interakcji pomiędzy stężeniem VEGF-C w surowicy a wydalaniem sodu na wartości ciśnienia tętniczego z całej doby, okresu dnia i nocy (Tabela 14). Przy analizie podgrupy nieleczonej hipotensyjnie zaobserwowano ujemny wpływ interakcji stężenie VEGF-C/wydalanie sodu na rozkurczowe ciśnienie tętnicze z okresu nocy ( $\beta$  -0,0014  $p=0,049$ ) (Tabela 15). Takiego związku nie wykazano dla populacji przyjmującej leki przeciwnadciśnieniowe (Tabela 16).

TABELA 14 WYNIKI REGRESJI WIELOCZYNNIKOWEJ. WPŁYW INTERAKCJI POMIĘDZY STĘŻENIEM ŚRÓDBŁONKOWEGO CZYNNIKA WZROSTU NACZYŃ TYPU C A WYDALANIEM SODU NA WARTOŚCI CIŚNIENIA TĘTNICZEGO W CAŁODOBOWYM MONITOROWANIU W BADANEJ POPULACJI

	Współczynnik beta	SE	p
<b>SBP 24</b>	$-2,25 \cdot 10^{-6}$	0,000012	0,852
<b>DBP 24</b>	$-4,46 \cdot 10^{-6}$	0,00001	0,6412
<b>SBP d</b>	$3,29 \cdot 10^{-6}$	0,000012	0,792
<b>DBP d</b>	$-2,10 \cdot 10^{-7}$	0,00001	0,9834
<b>SBP n</b>	$-2 \cdot 10^{-5}$	0,000014	0,2686
<b>DBP n</b>	$-1 \cdot 10^{-5}$	0,00001	0,1855

STANDARYZOWANE WZGLĘDEM PŁCI, WIEKU, BMI, LECZENIA HIPOTENSyjNEGO, STYLU ŻYCIA.

SBP 24 – SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU 24 GODZIN (SYSTOLIC BLOOD PRESSURE), DBP 24 – ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU 24 GODZIN (DIASTOLIC BLOOD PRESSURE), SBP D - SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU DNIA, DBP D - ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU DNIA, SBP N - SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU NOCY, DBP N - ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU NOCY

TABELA 15 WYNIKI REGRESJI WIELOCZYNNIKOWEJ. WPŁYW INTERAKCJI POMIĘDZY STĘŻENIEM ŚRÓDBŁONKOWEGO CZYNNIKA WZROSTU NACZYŃ TYPU C A WYDALANIEM SODU NA WARTOŚCI CIŚNIENIA TĘTNICZEGO W CAŁODOBOWYM MONITOROWANIU W POPULACJI NIELECZONEJ HIPOTENSYJNIE

	Współczynnik beta		SE	p
<b>SBP 24</b>	-0,00002		0,000017	0,3193
<b>DBP 24</b>	-0,00002		0,000014	0,1388
<b>SBP d</b>	-0,00001		0,000017	0,5616
<b>DBP d</b>	-0,00001		0,000015	0,3535
<b>SBP n</b>	-0,00003		0,000019	0,1087
<b>DBP n</b>	-0,00003		0,000014	<b>0,041</b>

STANDARYZOWANE WZGLĘDEM PŁCI, WIEKU, BMI, LECZENIA HIPOTENSYJNEGO, STYLU ŻYCIA.

SBP 24 – SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU 24 GODZIN (SYSTOLIC BLOOD PRESSURE), DBP 24 – ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU 24 GODZIN (DIASTOLIC BLOOD PRESSURE), SBP D - SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU DNIA, DBP D - ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU DNIA, SBP N - SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU NOCY, DBP N - ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU NOCY

TABELA 16 WYNIKI REGRESJI WIELOCZYNNIKOWEJ. WPŁYW INTERAKCJI POMIĘDZY STĘŻENIEM ŚRÓDBŁONKOWEGO CZYNNIKA WZROSTU NACZYŃ TYPU C A WYDALANIEM SODU NA WARTOŚCI CIŚNIENIA TĘTNICZEGO W CAŁODOBOWYM MONITOROWANIU W POPULACJI LECZONEJ HIPOTENSYJNIE

	Współczynnik beta		SE	p
<b>SBP 24</b>	$1,4 \cdot 10^{-05}$		0,000018	0,4675
<b>DBP 24</b>	$7,16 \cdot 10^{-06}$		0,000013	0,5962
<b>SBP d</b>	$1,8 \cdot 10^{-05}$		0,000019	0,363
<b>DBP d</b>	$9,64 \cdot 10^{-06}$		0,000014	0,49
<b>SBP n</b>	$5,63 \cdot 10^{-06}$		0,00002	0,7828
<b>DBP n</b>	$-1,17 \cdot 10^{-06}$		0,000015	0,9373

STANDARYZOWANE WZGLĘDEM PŁCI, WIEKU, BMI, LECZENIA HIPOTENSYJNEGO, STYLU ŻYCIA.

SBP 24 – SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU 24 GODZIN (SYSTOLIC BLOOD PRESSURE), DBP 24 – ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU 24 GODZIN (DIASTOLIC BLOOD PRESSURE), SBP D - SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU DNIA, DBP D - ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU DNIA, SBP N - SKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU NOCY, DBP N - ROZKURCZOWE CIŚNIENIE TĘTNICZE Z OKRESU NOCY

## WNIOSKI

1. W całej badanej grupie w analizie wieloczynnikowej nie stwierdzono zależności między stężeniem VEGF-C w osoczu a ciśnieniem tętniczym. W podgrupie uczestników nieleczonych przeciwnadciśnieniowo wykazano ujemną zależność między stężeniem VEGF-C w osoczu a skurczowym i rozkurczowym ciśnieniem tętniczym z okresu całej doby. Ponadto u nieleczonych hipotensyjnie, po wykluczeniu uczestników ze stężeniem białka C reaktywnego powyżej 5 mg/l, wykazano ujemną zależność między stężeniem VEGF-C w osoczu a skurczowym ciśnieniem tętniczym z okresu dnia i nocy. Wskazuje to na udział podskórnego buforu sodowego w regulacji wysokości ciśnienia tętniczego w badanej populacji.
2. W badanej populacji wyższe stężenie VEGF-C w osoczu było związane z wyższą procentową zawartością płynu zewnątrzkomórkowego w ustroju oraz z wyższym osoczym stężeniem aldosteronu natomiast z niższym osoczym stężeniem mieloperoksydazy. Wskazuje to na istnienie powiązań między produkcją VEGF-C a gospodarką sodową organizmu oraz mechanizmami odpowiedzi immunologicznej.
3. Stwierdzono interakcję pomiędzy spożyciem sodu a stężeniem VEGF-C w osoczu w odniesieniu do ciśnienia rozkurczowego w nocy, co może wskazywać na ich łączne znaczenie w regulacji profilu dobowego ciśnienia tętniczego.

## DYSKUSJA

### SPOŻYCIE SODU W BADANEJ POPULACJI

W badanej populacji średnie wydalanie sodu z moczem wynosiło 162 mmol/d. Odpowiada to przyjmowaniu w diecie ok. 3,9 g sodu, czyli 10 g chlorku sodu dziennie. W badaniu Intersalt z 1988 r. uzyskano nieco wyższe wartości - 191,8 mmol/d w populacji krakowskiej i 174,6 mmol/d w populacji warszawskiej (35). W nowszych danych z polskiej kohorty badania European Project on Genes in Hypertension (EPOGH) wydalanie sodu w populacji krakowskiej wynosiło średnio 245 mmol/dobę (168). Światowa organizacja zdrowia zaleca ograniczenie przyjmowania soli w diecie do 5 g na dobę (169). Przy zauważalnym spadku konsumpcji soli w porównaniu do badania Intersalt badana populacja charakteryzuje się bardzo wysoką podażą sodu w diecie.

## WPŁYW VEGF NA CIŚNIENIE TĘTNICZE

U ludzi brak dotychczas badań dotyczących wpływu stężenia VEGF-C na ciśnienie tętnicze w populacji ogólnej. W niewielkim badaniu wykazano istotnie wyższe stężenie osocznego VEGF-C u chorych z opornym nadciśnieniem tętniczym w porównaniu z grupą osób z prawidłowym ciśnieniem tętniczym ( $p < 0,001$ ) (134). W innym badaniu stosowano dietę wysokosodową a następnie niskosodową u chorych z przewlekłą chorobą nerek i wśród zdrowych ochotników. Wykazano istotnie wyższe stężenie VEGF-C w osoczu podczas stosowania diety wysokosodowej u chorych z przewlekłą chorobą nerek ( $p = 0,034$ ) oraz podobny trend w zdrowej grupie ( $p = 0,07$ ) (161). Nie analizowano związku stężenia VEGF-C z ciśnieniem tętniczym. Badacze niemieccy przy użyciu metody wykrywania sodu tkankowego w rezonansie magnetycznym wykazali wyższe stężenie tkankowego sodu (w mięśniach i skórze) u osób chorujących na nadciśnienie tętnicze niż w zdrowej grupie kontrolnej. Stężenie sodu w skórze korelowało z zawartą w niej wolną wodą, inaczej niż w tkance mięśniowej, gdzie zaobserwowano wysokie stężenie sodu niezwiązanego z wodą (146).

W nowszym badaniu z wykorzystaniem rezonansu magnetycznego u pacjentów z ciężką niewydolnością nerek, poddawanych hemodializie oraz w zdrowej populacji wykazano, że wyższe stężenie zmagazynowanego w tkankach sodu korelowało z niższym stężeniem VEGF-C w osoczu. Samo stężenie VEGF-C było także odwrotnie zależne od wieku uczestnika. Dodatkowo po hemodializie chorzy z niższym stężeniem VEGF-C mieli znacząco wyższe stężenie zmagazynowanego sodu w porównaniu z chorymi z wyższymi stężeniami VEGF-C ( niskie VEGF-C: 2,3 ng/l, stężenie sodu: 24,3 mmol/l; wysokie VEGF-C: 4,1 ng/ml, stężenie sodu: 18,2 mmol/l) (170). W modelu zwierzęcym wykazano różnicę w średnim ciśnieniu tętniczym (30 mm Hg) pomiędzy szczurami w grupie kontrolnej na diecie niskosodowej a osobnikami na diecie wysokosodowej po usunięciu z ich organizmu komórek jednojądrzastych wydzielających VEGF-C. Podobnie przy zahamowaniu szlaku VEGF-C przy użyciu wektora wirusowego szczury z zablokowanym receptorem miały wyższe wartości ciśnienia tętniczego, zwiększony naciek komórek VEGF-C-dodatnich oraz podwyższoną ekspresję mRNA VEGF-C w tkance podskórnej w porównaniu do grupy kontrolnej (134).

## VEGF-C A SODOWRAŻLIWOŚĆ

W badanej populacji nie stwierdzono zależności między stężeniem VEGF-C w osoczu a cząstkowym wydalaniem litu w odniesieniu do wartości ciśnienia tętniczego. Przy wzroście podaży sodu następuje zwiększenie objętości płynu zewnątrzkomórkowego, co w konsekwencji powinno doprowadzić do zwiększonej natriurezy i diurezy ciśnieniowej, przywracających fizjologiczną równowagę wodno-elektrolitową. Teoria sodowrażliwości zakłada, iż u pewnej grupy osób mechanizm ten nie działa prawidłowo i nadmierna podaż sodu powoduje stały wzrost ciśnienia tętniczego (76). W dotychczasowych badaniach wśród ludzi stosowano różne protokoły obciążania sodem, różne definicje samej sodowrażliwości i ostatecznie uzyskiwano sprzeczne wyniki co do powszechności jej występowania. Najczęściej stosowany protokół tj. stosowanie diety niskosodowej przez kilka tygodni a następnie diety z wysoką zawartością sodu, był niemożliwy do zrealizowania w przekrojowym badaniu populacyjnym. W badaniu do oceny sodowrażliwości stosowano oznaczenie cząstkowego wydalania litu. Ten pośredni wskaźnik sodowrażliwości był już wykorzystywany w badaniach dotyczących dużych populacji (171,172). Brak jakichkolwiek zależności pomiędzy stężeniem VEGF-C w osoczu a cząstkowym wydalaniem litu w badanej populacji potwierdza, że podskórny bufor sodowy jest niezależny od nerkowej homeostazy sodu.

## WPŁYW LEKÓW PRZECIWNADCIŚNIENIOWYCH NA GOSPODARKĘ SODOWĄ

W badanej populacji związek stężenia VEGF-C z ciśnieniem tętniczym wykazano tylko w podgrupie nieprzyjmującej leków przeciwnadciśnieniowych. W badaniach nad wpływem leków hipotensyjnych na wydalanie sodu stwierdzono zwiększoną natriurezę przy stosowaniu antagonistów wapnia (173). Beta-adrenolityki charakteryzują się neutralnym wpływem na wydalanie sodu z moczem (174,175). Inhibitory konwertazy angiotensyny oraz antagoniści receptora angiotensyny II typu 1 poprzez hamowanie układu renina-angiotensyna-aldosteron mogą zwiększać natriurezę (176–178). Podobnie, diuretyki tiazydowe i pętlowe poprzez blokowanie wchłaniania zwrotnego sodu w nefronie zwiększają natriurezę (179,180). Brak natomiast badań dotyczących wpływu leków przeciwnadciśnieniowych na homeostazę sodową ocenianą całościowo, a także badań oceniających wpływ leków na osoczowe stężenie VEGF-C. W badanej populacji większość uczestników chorujących na nadciśnienie stosowała więcej niż jeden lek hipotensyjny. Brak związku stężenia VEGF-C z wartościami ciśnienia tętniczego u

chorych przyjmujących leki może wynikać z ich silniejszego wpływu na gospodarkę sodową, co maskuje dość słabą zależność zaobserwowaną u osób nieleczonych.

#### CZYNNIKI ZAPALNE W NADCIŚNIENIU TĘTNICZYM

Wykazana zależność ciśnienia tętniczego od stężenia VEGF-C wydzielanego przez makrofagi pośrednio może wiązać układ immunologiczny z mechanizmami odpowiedzialnymi za nadciśnienie tętnicze. Badania Guzika i wsp. łączą patogenezę nadciśnienia z aktywnością limfocytów T i produkowanymi przez nie interleukinami (181). Już w badaniach przeprowadzonych w latach 80-tych i 90-tych zaobserwowano u pacjentów z samoistnym nadciśnieniem tętniczym, jak również w modelach zwierzęcych wielogenowych form nadciśnienia zwiększenie liczby krążących monocytów oraz ich silniejszą aktywację (182,183). Nieprawidłowości te najczęściej obserwowano u gryzoni z samoistnym nadciśnieniem. W tym modelu wykazano, że immunosupresja obniżała ciśnienie tętnicze (184). W nowszym badaniu u gryzoni wykazano, że w rozwoju nadciśnienia tętniczego udział ma występujący w makrofagach receptor aktywowany przez proliferatory peroksysomów typu gamma (185). Odkrycia te doprowadziły do wysunięcia hipotezy, że pierwotne zmiany układu immunologicznego mogą wywoływać odpowiedź zapalną w ścianie tętnic i mięszu nerkowym, co prowadzi następnie do wzrostu ciśnienia tętniczego, podobnie jak w rozwoju nadciśnienia przy zapaleniu kłębuszków nerkowych. Hipoteza ta została zanegowana przez odkrycie, że nadciśnienie *per se* albo czynniki wywołujące nadciśnienie (np. angiotensyna II), mogą doprowadzić do infiltracji lub aktywacji leukocytów, szczególnie makrofagów, w tkankach docelowych. Następnie komórki te przyczyniają się do rozwoju uszkodzenia narządów uwalniając cytokiny, wolne rodniki i inne mediatory (186,187). Aktualne badania skupiają się głównie na poznaniu mechanizmów prowadzących do nacieku i aktywacji makrofagów oraz zapobieganiu wtórnym uszkodzeniom narządów.

W badanej populacji wyższe stężenie VEGF-C było związane z niższym stężeniem mieloperoksydazy (MPO). Mieloperoksydaza jest enzymem należący do peroksydaz, który katalizuje reakcje powstawania kwasu podchlorawego, związku chemicznego o silnych właściwościach bakteriobójczych i przeciwwirusowych. Znajduje się ona w ziarnistościach granulocytów obojętnochłonnych i makrofagów. Wykazano, że produkty utleniania wytwarzane przez MPO są związane z rozwojem blaszek miażdżycowych, m.in. poprzez utlenianie lipoprotein niskiej gęstości. Badania kliniczne sugerują związek pomiędzy

stężeniem MPO a dysfunkcją śródbłónka i rozwojem choroby wieńcowej (188). Obecnie w badaniach klinicznych stężenie MPO jest stosowane głównie jako marker stresu oksydacyjnego. Istnieje bardzo mało badań łączących stężenie MPO z rozwojem nadciśnienia tętniczego. W badaniu z 2010 r. w populacji ok. 700 osób wykazano istotny, niezależny, pozytywny związek pomiędzy stężeniem MPO a ciśnieniem tętniczym (wzrost o 2,1 mm Hg na jedno odchylenie standardowe stężenia MPO [95 % CI: 0,66 - 3,54]). Zależność ta była bardziej wyrażona dla stanów klinicznych charakteryzujących się wyższym stresem oksydacyjnym, takich jak otyłość, zespół metaboliczny, cukrzyca (189). W nowszym badaniu interwencyjnym u chorych na cukrzycę typu 2 stosowano leczenie hipotensyjne połączeniem olmesartanu i amlodypiny, po 6 i 12 miesiącach leczenia przy obniżeniu ciśnienia tętniczego wykazano istotnie zmniejszenie stężenia MPO (190). Pomimo pewnych obserwacji wskazujących na związek pomiędzy ciśnieniem tętniczym a stężeniem MPO brak jest jednoznacznych dowodów na istotną rolę MPO na rozwój nadciśnienia.

#### WOLEMIA A NADCIŚNIENIE TĘTNICZE

W przeprowadzonej analizie wyższe stężenie VEGF-C w osoczu było związane z wyższą procentową zawartością płynu zewnątrzkomórkowego w ustroju. W dotychczas przeprowadzonych badaniach nad podskórnym magazynem sodowym i VEGF-C nie stosowano oznaczenia zawartości płynu zewnątrzkomórkowego organizmu. Analizując wpływ ECF na rozwój nadciśnienia sodowrażliwego, Guyton i współpracownicy (76,191) postulowali, iż retencja sodu może powodować ekspansję ECF, ale samo zwiększenie objętości bezpośrednio nie powinno zwiększać ciśnienia tętniczego. Autorzy zaproponowali hipotezę, że wzrost ECF zwiększa pojemność minutową serca, co z kolei podnosi perfuzję tkankową do poziomu przekraczającego potrzeby metaboliczne komórek. Względna nadwyżka podaży krwi może wyzwolić "autoregulującą" odpowiedź w tkankach prowadzącą do zwężenia naczyń i tym samym do zwiększenia oporu naczyniowego.

Sam wzrost objętości zewnątrzkomórkowej jest bardzo trudny do wykazania u pacjentów z samoistnym nadciśnieniem tętniczym. Z drugiej strony, obserwowana natężona natriureza w odpowiedzi na zwiększoną podaż soli może świadczyć o zwiększonej objętości wewnątrznaczyniowej. Dotychczasowe wyniki badań mających na celu ocenę zmian ECF są wzajemnie sprzeczne - u chorych z nadciśnieniem wykazano zarówno zwiększenie jak i stabilny poziom ECF (77,78). Widoczne rozbieżności mogą po prostu odzwierciedlać różne fazy choroby nadciśnieniowej. To przypuszczenie jest zgodne z modelem



zaproponowanym przez Stevo Juliusa (79). Przewiduje on przejście ze zwiększonego rzutu serca (stąd ekspansja ECF) i prawidłowego systemowego oporu naczyniowego we wczesnej fazie rozwoju nadciśnienia do fizjologicznego rzutu serca (stąd prawidłowe ECF) i zwiększonego oporu naczyniowego w późnej fazie rozwoju nadciśnienia. Słabością tego modelu jest jego niezgodność z obserwacjami, które dotychczas nie wykazały związku między rzutem serca a obwodowym oporem naczyniowym (79). W nowszych obserwacjach u chorych na nadciśnienie tętnicze i w zdrowej populacji także nie wykazano zależności pomiędzy ECF a występowaniem nadciśnienia tętniczego, dopiero przy indeksacji do wskaźnika masy ciała ECF było niezależnym czynnikiem rozwoju nadciśnienia tętniczego (192).

#### NADCIŚNIENIE TĘTNICZE A ALDOSTERON

W badanej populacji stężenie VEGF-C w osoczu korelowało ze stężeniem osoczym aldosteronu. Aldosteron, jako główny hormon układu RAA, odgrywa ważną rolę w gospodarce wodno-elektrolitowej organizmu. Wzrost podaży sodu reprezentowany przez zwiększone wydalanie sodu z moczem prowadzi do zmniejszenia aktywacji RAA i obniżenia stężenia aldosteronu (193). W pierwotnym hiperaldosteronizmie wzrost zwrotnego wchłaniania sodu w kanalikule dystalnym poprzez aktywację receptora mineralokortykosteroidowego (MR) prowadzi do rozwoju nadciśnienia sodowrażliwego. W badaniach na szczurach, przy obciążeniu sodem z ciągłym wlewem aldosteronu, wykazano wzrost zarówno ciśnienia tętniczego jak i białkomoczu do poziomu podobnego, jak w pierwotnym hiperaldosteronizmie. Jednakże przy stosowaniu diety niskosodowej wlew aldosteronu nie powodował rozwoju nadciśnienia ani uszkodzenia nerek. Przy stosowaniu antagonisty aldosteronu u pacjentów z opornym nadciśnieniem tętniczym, wykazano większą odpowiedź hipotensyjną u chorych z wyższym wydalaniem sodu z moczem, niezależnie od wyjściowego stężenia aldosteronu (194). Wskazywać to może na kluczową rolę sodu w procesie aktywacji receptora aldosteronu i rozwoju nadciśnienia (86). W kolejnym badaniu stwierdzono, że zwiększone obciążenie sodem pogarsza uszkodzenia narządowe serca i nerek u otyłych szczurów (92,195). Podwyższony poziom aldosteronu był skutkiem uwalniania dużej ilości czynników hormonalnych przez adipocyty tkanki tłuszczowej (93,196). W badaniu wśród pacjentów z opornym nadciśnieniem tętniczym uczestnicy z większym obwodem talii charakteryzowali się lepszą odpowiedzią hipotensyjną na spironolakton (197). Nie wykazano zależności między stężeniem aldosteronu w osoczu a redukcją ciśnienia tętniczego (197,198). Taką zależność

wykazano tylko dla stosunku stężenia aldosteronu do reniny w osoczu (199). W naszej populacji przy wyższym stężeniu aldosteronu obserwowano niższe stężenie VEGF-C, samo VEGF-C nie było związane z poziomem wydalania sodu z moczem. Być może obserwowana zależność pomiędzy VEGF-C a aldosteronem jest pośrednim wykładnikiem związku VEGF-C z gospodarką wodno-elektrolitową ustroju. Do określenia tego związku niezbędne są kolejne badania.

#### GOSPODARKA SODOWA A PROFIL DOBOWY CIŚNIENIA TĘTNICZEGO

W badanej populacji stwierdzono interakcję pomiędzy spożyciem sodu a stężeniem VEGF-C w osoczu w odniesieniu do ciśnienia rozkurczowego w nocy. Pośrednio może to wskazywać na udział VEGF-C w regulacji dobowej ciśnienia tętniczego. W przeprowadzonych badaniach wykazano, że zwiększona podaż sodu wiąże się z częstszym występowaniem braku fizjologicznego spadku ciśnienia w nocy (149). Natomiast w badaniu Uzu i wsp. u chorych na cukrzycę typu 2 i z wysokim wydalaniem sodu wykazano przywrócenie fizjologicznego spadku ciśnienia w nocy po zastosowaniu diuretyku tiazydowego (200).

Do słabych punktów wyżej przedstawionej analizy należy jej przekrojowy charakter, ponieważ związek pomiędzy osoczym stężeniem VEGF-C, wydalaniem sodu a ciśnieniem tętniczym był badany tylko w jednym punkcie czasowym. W celu określenia wpływu podskórnego magazynu sodu na ciśnienie tętnicze został użyty pośredni wskaźnik – osocze stężenie VEGF-C. Rozwój metod obrazowania kationu sodowego w rezonansie magnetycznym być może w przyszłości pozwoli zbadać ten wpływ w sposób bardziej bezpośredni. Dodatkowo badaną populację stanowiły rodziny, co może ograniczać przekrojowy charakter grupy poprzez stosowanie podobnej diety, podobnego stylu życia i poprzez działanie jednakowych czynników środowiskowych. Z kolei głównym atutem niniejszego badania jest jego innowacyjność, jest pierwszą analizą wpływu VEGF-C na ciśnienie tętnicze w tak licznej populacji ogólnej. Do oceny podaży sodu w diecie zastosowano poziom jego wydalania z całodobowej zbiórce moczu, co przyjmuje się za złoty standard w badaniach epidemiologicznych. W ostatnim okresie pojawiło się badanie negujące uniwersalność oceny spożycia sodu na podstawie wydalania sodu moczem dobowym. U uczestników ponad 200-dniowej symulacji lotu na Marsa obserwowano znaczące fluktuacje w dobowym wydalaniu sodu, którym towarzyszyły zmiany w stężeniu aldosteronu, kortyzolu i kortyzonu powtarzające się w okresie 7 dni, obserwowano

również regularne zmiany w całkowitej ilości sodu ustroju w okresie miesięcznym (201). Były to jednak ściśle kontrolowane warunki, które praktycznie nie są do odtworzenia w badaniu epidemiologicznym. Dodatkowo w badaniu u każdego uczestnika został oszacowany procentowy skład ciała przy użyciu metody bioimpedancji. Dotychczasowe badania dotyczące magazynowania sodu, czy gospodarki wodno-elektrolitowej bardzo rzadko korzystały z tego narzędzia. W badaniu został również uwzględniony wpływ reakcji zapalnej (oznaczenie białka c-reaktywnego, interleukiny-6 i mieloperoksydazy), jako czynnik zakłócający zależność między VEGF-C a ciśnieniem tętniczym.

Podsumowując, w aktualnym badaniu wykazaliśmy u nieleczonych osób z populacji ogólnej ujemną zależność między osoczym stężeniem VEGF-C a wartościami ciśnienia tętniczego w całodobowym monitorowaniu. Zależność ta podlegała modulacji przez zawartość płynu zewnątrzkomórkowego w ustroju, nasilenie procesów zapalnych, jak również poziom spożycia sodu. Wskazuje to na udział podskórnego buforu sodowego w regulacji wysokości ciśnienia tętniczego w badanej populacji. Zagadnienie to wymaga dalszych badań, zarówno na poziomie molekularnym, klinicznym, jak i epidemiologicznym.

## STRESZCZENIE

**Cel:** Śródbłonkowy czynnik wzrostu naczyń typu C (VEGF-C) jest nowym markerem akumulacji sodu w tkance podskórnej, niezbadanym dotychczas u ludzi. Badania na modelu zwierzęcym wykazały istotną zależność pomiędzy nadmiernym spożyciem sodu, zwiększeniem stężenia VEGF-C w osoczu, a wzrostem ciśnienia tętniczego. Celem niniejszej pracy doktorskiej była ocena zależności między poziomem osoczkowego VEGF-C a wartościami ciśnienia tętniczego w populacji ogólnej, ustalenie czynników warunkujących stężenie VEGF-C w osoczu w badanej populacji oraz ocena wpływu interakcji między osoczkowym VEGF-C i podażą sodu w diecie na wartości ciśnienia tętniczego w populacji ogólnej.

**Materiały i metody:** Przeprowadzono przekrojowe badanie kohortowe. Uczestnicy zostali zrekrutowani z populacji ogólnej z terenu województwa małopolskiego, włączonych zostało 109 rodzin, w sumie 303 osoby. U każdego uczestnika badania wykonano: całodobowe automatyczne monitorowanie ciśnienia tętniczego (SpaceLabs 90207), oznaczenia parametrów morfologii krwi, stężenia kreatyniny, kwasu moczowego, białka C-reaktywnego, glukozy, elektrolitów (sód, potas), lipidogramu, pomiaru aktywności reninowej osocza, oznaczenia wskaźników zapalanych (interleukina-6 (IL-6) i mieloperoksydaza (MPO)) oraz stężenia VEGF-C w osoczu metodą immunoenzymatyczną (ELISA). Spożycie sodu i klirens litu oceniano na podstawie 24-godzinne go wydalania sodu z moczem. Pomiar objętości płynu pozakomórkowego, całkowitej zawartości wody w organizmie oraz masy tkanki tłuszczowej został przeprowadzony przy użyciu metody impedancji bioelektrycznej (Bodystat® Quadscan 4000, Isle of Man, British Isles). Analizy statystyczne przeprowadzono za pomocą oprogramowania SAS (SAS Institute, Cary, NC) w wersji 9.3.

**Wyniki:** Badana grupa obejmowała 138 osób (57 mężczyzn, 81 kobiet) z pokolenia rodziców i 165 osób (79 mężczyzn, 86 kobiet) z pokolenia potomków. Dla grupy rodziców średni wiek wynosił  $61,5 \pm 7,9$  lat, natomiast dla potomków  $34,8 \pm 8,4$  lat. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami pokoleniowymi w wartościach ciśnienia z całodobowego monitorowania, za wyjątkiem ciśnienia rozkurczowego z okresu dnia, które było niższe u rodziców ( $75,4 \pm 7,7$  vs  $77,4 \pm 8,2$  mm Hg,  $p < 0,05$ ). Średnie wydalanie sodu w moczu dobowym w grupie rodziców wynosiło 175

$\pm 71$  mmol/d, a w grupie potomków  $161 \pm 65$  mmol/d. Nie stwierdzono różnic pomiędzy stężeniem VEGF-C w surowicy zarówno między pokoleniami, jak i płciami.

Analizy regresji wieloczynnikowej standaryzowano z uwzględnieniem wieku, płci, wskaźnika masy ciała, zażywania leków przeciwnadciśnieniowych, palenia tytoniu, deklarowanego spożycia alkoholu. Dla całej badanej grupy nie stwierdzono zależności pomiędzy stężeniem VEGF-C a wartościami ciśnienia tętniczego z całej doby, okresu dnia i nocy. Przy analizie podgrupy nieleczonej hipotensyjnie zaobserwowano negatywną zależność pomiędzy stężeniem VEGF-C a skurczowym ( $\beta$  [Beta – współczynnik regresji] - 0,0017  $p=0,047$ ) i rozkurczowym ( $\beta$  -0,0014  $p=0,049$ ) ciśnieniem tętniczym z okresu całej doby. Takiego związku nie wykazano dla populacji przyjmującej leki przeciwnadciśnieniowe. W badanej populacji nie stwierdzono istotnej różnicy w stężeniu VEGF-C w surowicy pomiędzy osobami chorującymi na nadciśnienie tętnicze a pozostałymi uczestnikami badania. W analizie jednoczynnikowej wykazano istotną, pozytywną korelację pomiędzy stężeniem VEGF-C w surowicy a procentową zawartością płynu zewnątrzkomórkowego ( $r$  0,1897  $p=0,0047$ ) oraz osoczym stężeniem aldosteronu ( $r$  0,1406  $p=0,0148$ ). Związek ten był silniej wyrażony w podgrupie pacjentów nieleczonych przeciwnadciśnieniowo (odpowiednio  $r$  0,23623  $p=0,003$  i  $r$  0,0148  $p=0,0015$ ). Korzystając z analizy regresji krokowej ustalono determinanty osoczonego stężenia VEGF-C: procentowa zawartość płynu zewnątrzkomórkowego ( $r^2$  0,038  $p=0,0047$ ), osoczone stężenie aldosteronu ( $r^2$  0,0635  $p=0,0123$ ) oraz osoczone stężenie mieloperoksydazy ( $r^2$  0,0752  $p=0,0996$ ). Zaproponowany model wyjaśniał 7,5 % zmienności stężenia VEGF-C w surowicy. Dla całej obserwowanej grupy nie stwierdzono wpływu interakcji pomiędzy stężeniem VEGF-C w surowicy a wydalaniem sodu na wartości ciśnienia tętniczego z całej doby, okresu dnia i nocy. Przy analizie podgrupy nieleczonej hipotensyjnie zaobserwowano ujemny wpływ interakcji pomiędzy stężeniem VEGF-C a dobowym wydalaniem sodu z moczem na rozkurczowe ciśnienie tętnicze z okresu nocy ( $\beta$  -0,0014  $p=0,049$ ).

Wnioski: W całej badanej grupie w analizie wieloczynnikowej nie stwierdzono zależności między stężeniem VEGF-C w osoczu a ciśnieniem tętniczym. W podgrupie uczestników nieleczonych przeciwnadciśnieniowo wykazano ujemną zależność między stężeniem VEGF-C w osoczu a skurczowym i rozkurczowym ciśnieniem tętniczym z okresu całej doby. Wskazuje to na udział podskórnego buforu sodowego w regulacji wysokości ciśnienia tętniczego w badanej populacji.

W badanej populacji wyższe stężenie VEGF-C w osoczu było związane z wyższą procentową zawartością płynu zewnątrzkomórkowego w ustroju oraz z wyższym osoczym stężeniem aldosteronu, natomiast z niższym osoczym stężeniem mieloperoksydazy. Wskazuje to na istnienie powiązań między produkcją VEGF-C a gospodarką sodową organizmu oraz mechanizmami odpowiedzi immunologicznej.

Stwierdzono interakcję pomiędzy spożyciem sodu a stężeniem VEGF-C w osoczu w odniesieniu do ciśnienia rozkurczowego w nocy, co może wskazywać na ich łączne znaczenie w regulacji profilu dobowego ciśnienia tętniczego.

## ABSTRACT

**Objective:** Vascular endothelial growth factor type C (VEGF-C) is a novel marker for sodium accumulation in the subcutaneous tissue, yet unexplored in humans. Animal studies have shown a significant correlation between excess sodium intake, increased levels of VEGF-C in the plasma and higher blood pressure. The aim of this thesis was to evaluate the relationship between the level of serum VEGF-C and blood pressure in the general population, determine the factors influencing VEGF-C serum levels in population and to assess the impact of the interaction between plasma VEGF-C and sodium intake on the blood pressure in the general population.

**Methods:** In this cross-sectional cohort study, participants were recruited from the general population of the Malopolska Region of Poland, including 109 families, a total of 303 people. With every participant, we performed: ambulatory blood pressure measurement (SpaceLabs 90207), complete blood count, serum concentration of creatinine, uric acid, C-reactive protein, glucose, electrolytes (sodium, potassium), lipid profile, measurement of plasma renin activity, levels of inflammatory markers (interleukin-6 and myeloperoxidase) and plasma VEGF-C concentration was measured using ELISA kit. Sodium intake and lithium clearance was assessed based on 24-hour urinary sodium excretion. The measurement of the extracellular fluid volume, total body water and fat mass was conducted using the method of bioelectrical impedance (Bodystat® Quadscan 4000, Isle of Man, British Isles). Statistical analyses were performed using SAS (SAS Institute, Cary, NC) version 9.3.

**Results:** The study group consisted of 138 parents (57 men, 81 women) and 165 descendants (79 men, 86 women). Average age of parents was  $61.5 \pm 7.9$  years, and of descendants  $34.8 \pm 8.4$  years. There were no significant differences between the groups in the values of blood pressure on ambulatory monitoring, except for the daytime diastolic blood pressure that was lower in parents ( $75.4 \pm 7.7$  vs  $77.4 \pm 8.2$  mm Hg,  $p < 0.05$ ). Mean urinary sodium excretion in parents was  $175 \pm 71$  mmol / d, and the descendants' group  $161 \pm 65$  mmol / d and was not significantly different. No difference was found between serum VEGF-C levels, nor between generations neither genders.

Multivariate regression analyse were adjusted for age, gender, body mass index, use of antihypertensive drugs, declared smoking and alcohol consumption. In whole study group there was no association between serum VEGF-C and blood pressure throughout 24 hours, daytime and nighttime. In subgroup analysis of participants never treated with

antihypertensive medications there was observed a negative correlation between serum VEGF-C and systolic ( $\beta$  [Beta - regression coefficient] -0.0017,  $p=0.047$ ) and diastolic ( $\beta$  -0.0014,  $p=0.049$ ) blood pressure over 24 hours. Such relation was not shown for the population receiving antihypertensives. In the study population, there was no significant difference in the concentration of VEGF-C levels between individuals with hypertension and normotensives. In univariate analysis there was demonstrated a significant, positive correlation between the concentration of serum VEGF-C and the extracellular fluid volume ( $r = 0.1897$   $p = 0.0047$ ) as well as plasma concentration of aldosterone ( $r = 0.1406$   $p=0.0148$ ). This correlation was more pronounced in the subgroup of patients not treated with antihypertensives ( $r = 0.23623$   $p=0.003$  and  $r = 0.0148$ ,  $p=0.0015$ ). Using stepwise regression analysis as the determinants of plasma VEGF-C levels there were selected: extracellular fluid volume ( $r^2 = 0.038$ ,  $p=0.0047$ ), plasma aldosterone levels ( $r^2 = 0.0635$   $p=0.0123$ ) and plasma levels of myeloperoxidase ( $r^2 = 0.0752$   $p=0.0996$ ). The proposed model explained 7.5% of the observed variability in concentrations of VEGF-C. In the study group, we did not observe any interaction between serum VEGF-C, sodium excretion and blood pressure throughout 24 hours, daytime and nighttime. While analysing subgroup of participants never treated with antihypertensive medications we observed negative interaction between concentration of VEGF-C and excretion of sodium and night-time diastolic blood pressure ( $\beta$  -0.0014,  $p=0.049$ ).

**Conclusions:** In the whole group in the multivariate analysis, there was no association between serum VEGF-C levels and blood pressure. In the subgroup of subjects never treated with antihypertensive medications we demonstrated a negative correlation between serum VEGF-C levels and systolic and diastolic blood pressure over 24 hours period. This indicates that the subcutaneous sodium buffer participates in the regulation of blood pressure.

In our population higher concentration of VEGF-C levels were associated with a higher percentage of extracellular fluid in the body, and a higher plasma concentration of aldosterone but with a lower plasma concentration of myeloperoxidase. This points to the existence of links between the production of VEGF-C, sodium homeostasis and the mechanisms of the immune response.

We showed an interaction between sodium intake and the concentration of VEGF-C levels in relation to diastolic blood pressure at night, which may indicate their overall importance in the regulation of circadian blood pressure profile.



## BIBLIOGRAFIA

1. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet*. 2005 Jan 15;365(9455):217–23.
2. Booth J. A short history of blood pressure measurement. *Proc R Soc Med*. 1977 Nov;70(11):793–9.
3. Society of Actuaries. Blood Pressure: Report of the Joint Committee on Mortality of the Association of Life Insurance Medical Directors and the Actuarial Society of America. New York, NY; 1925.
4. Society of Actuaries. Build and Blood Pressure Study. Chicago, IL; 1959.
5. Society of Actuaries and Association of Life, Insurance Medical Directors of America. Blood Pressure Study, 1979. 1980.
6. The Actuarial Society of America and the Association of Life Insurance Medical Directors. Blood Pressure Study, 1939. New York, NY; 1940.
7. Stamler J, Stamler R, Neaton JD. Blood pressure, systolic and diastolic, and cardiovascular risks. US population data. *Arch Intern Med*. 1993 Mar 8;153(5):598–615.
8. Vasan RS, Larson MG, Leip EP, Evans JC, O'Donnell CJ, Kannel WB, et al. Impact of high-normal blood pressure on the risk of cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 2001 Nov 1;345(18):1291–7.
9. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R, Prospective Studies Collaboration. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet*. 2002 Dec 14;360(9349):1903–13.
10. Postel-Vinay N. [History of hypertension and of vascular risk: at the origins of change of contemporary medicine]. *Hist Sci Med*. 1996;30(2):235–41.
11. Osler W. An Address ON HIGH BLOOD PRESSURE: ITS ASSOCIATIONS, ADVANTAGES, AND DISADVANTAGES: Delivered at the Glasgow Southern Medical Society. *Br Med J*. 1912 Nov 2;2(2705):1173–7.
12. Page IH. The mosaic theory of arterial hypertension--its interpretation. *Perspect Biol Med*. 1967;10(3):325–33.
13. Brunner HR, Laragh JH, Baer L, Newton MA, Goodwin FT, Krakoff LR, et al. Essential hypertension: renin and aldosterone, heart attack and stroke. *N Engl J Med*. 1972 Mar 2;286(9):441–9.
14. Staessen JA, Wang J, Bianchi G, Birkenhäger WH. Essential hypertension. *Lancet*. 2003 May 10;361(9369):1629–41.
15. Frankel F. A case of bilateral suprarenal tumour with a latent course, accompanied by nephritis, circulatory changes and retinitis [in German]. *Arch Path Anat*. 1883;103(244–263).
16. Goldblatt H, Lynch J, Hanzal RF, Summerville WW. Studies on experimental hypertension: The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *J Exp Med*. 1934 Feb 28;59(3):347–79.
17. Cushing H. The basophil adenomas of the pituitary body and their clinical manifestations (pituitary basophilism). 1932. *Obes Res*. 1994 Sep;2(5):486–508.
18. Conn JW. Presidential address. I. Painting background. II. Primary aldosteronism, a new clinical syndrome. *J Lab Clin Med*. 1955 Jan;45(1):3–17.

19. Tomasz Zdrojewski, Bogdan Wyrzykowski, Zbigniew Gaciong i wsp. Wyniki badania NATPOL 2011. In Centrum Prasowe Polskiej Agencji Prasowej w Warszawie; 2011.
20. Lopez AD, Mathers CD, Ezzati M, Jamison DT, Murray CJL. Global and regional burden of disease and risk factors, 2001: systematic analysis of population health data. *Lancet*. 2006 May 27;367(9524):1747–57.
21. Wolf-Maier K, Cooper RS, Banegas JR, Giampaoli S, Hense H-W, Joffres M, et al. Hypertension prevalence and blood pressure levels in 6 European countries, Canada, and the United States. *JAMA*. 2003 May 14;289(18):2363–9.
22. Friis-Hansen B. Body water compartments in children: changes during growth and related changes in body composition. *Pediatrics*. 1961 Aug;28:169–81.
23. McLean RM. Measuring population sodium intake: a review of methods. *Nutrients*. 2014 Nov;6(11):4651–62.
24. Rose G, Stamler J. The INTERSALT study: background, methods and main results. INTERSALT Co-operative Research Group. *J Hum Hypertens*. 1989 Oct;3(5):283–8.
25. Stamler J, Elliott P, Dennis B, Dyer AR, Kesteloot H, Liu K, et al. INTERMAP: background, aims, design, methods, and descriptive statistics (nondietary). *J Hum Hypertens*. 2003 Sep;17(9):591–608.
26. Stolarz-Skrzypek K, Kuznetsova T, Thijs L, Tikhonoff V, Seidlerová J, Richart T, et al. Fatal and nonfatal outcomes, incidence of hypertension, and blood pressure changes in relation to urinary sodium excretion. *JAMA*. 2011 May 4;305(17):1777–85.
27. Krystyna Widecka, Tomasz Grodzicki, Krzysztof Narkiewicz, Andrzej Tykarski, Joanna Dziwura. Zasady postępowania w nadciśnieniu tętniczym — 2011 rok Wytyczne Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego. *Nadciśnienie Tętnicze*. 2011 Oct 5;15(4):211–35.
28. Veith I. Huang ti nei ching su wên = The Yellow Emperor's classic of internal medicine. Berkeley: University of California Press; 2002.
29. Ambard L, Beaujard C. Causes de l'hypertension arterielle. *Arch Gen Med*. 1904;1:520–533.
30. Boegehold MA, Kotchen TA. Importance of dietary chloride for salt sensitivity of blood pressure. *Hypertension*. 1991 Jan;17(1 Suppl):158-161.
31. Kempner W. Treatment of hypertensive vascular disease with rice diet. *Am J Med*. 1948 Apr;4(4):545–77.
32. Pickering TG. The therapy of hypertension: object and methods. In: *High Blood Pressure*. 2nd ed. New York, NY: Grune & Stratton; 1968. p. 392.
33. Dahl LK. Possible role of salt intake in the development of essential hypertension. 1960. *Int J Epidemiol*. 2005 Oct;34(5):967–78.
34. Dahl LK. Salt and hypertension. *Am J Clin Nutr*. 1972 Feb;25(2):231–44.
35. Intersalt: an international study of electrolyte excretion and blood pressure. Results for 24 hour urinary sodium and potassium excretion. Intersalt Cooperative Research Group. *BMJ*. 1988 Jul 30;297(6644):319–28.
36. Whelton PK, Appel LJ, Espeland MA, Applegate WB, Ettinger WH, Kostis JB, et al. Sodium reduction and weight loss in the treatment of hypertension in older persons: a randomized controlled trial of

- nonpharmacologic interventions in the elderly (TONE). TONE Collaborative Research Group. *JAMA*. 1998 Mar 18;279(11):839–46.
37. Grobbee DE, Hofman A. Does sodium restriction lower blood pressure? *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1986 Jul 5;293(6538):27–9.
  38. Cutler JA, Follmann D, Allender PS. Randomized trials of sodium reduction: an overview. *Am J Clin Nutr*. 1997 Feb;65(2 Suppl):643S–651S.
  39. He FJ, MacGregor GA. Effect of longer-term modest salt reduction on blood pressure. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004;(3):CD004937.
  40. Graudal NA, Hubeck-Graudal T, Jürgens G. Effects of low-sodium diet vs. high-sodium diet on blood pressure, renin, aldosterone, catecholamines, cholesterol, and triglyceride (Cochrane Review). *Am J Hypertens*. 2012 Jan;25(1):1–15.
  41. Chien K-L, Hsu H-C, Chen P-C, Su T-C, Chang W-T, Chen M-F, et al. Urinary sodium and potassium excretion and risk of hypertension in Chinese: report from a community-based cohort study in Taiwan. *J Hypertens*. 2008 Sep;26(9):1750–6.
  42. Tunstall-Pedoe H, Woodward M, Tavendale R, A'Brook R, McCluskey MK. Comparison of the prediction by 27 different factors of coronary heart disease and death in men and women of the Scottish Heart Health Study: cohort study. *BMJ*. 1997 Sep 20;315(7110):722–9.
  43. Tuomilehto J, Jousilahti P, Rastenyte D, Moltchanov V, Tanskanen A, Pietinen P, et al. Urinary sodium excretion and cardiovascular mortality in Finland: a prospective study. *Lancet*. 2001 Mar 17;357(9259):848–51.
  44. Alderman MH, Madhavan S, Cohen H, Sealey JE, Laragh JH. Low urinary sodium is associated with greater risk of myocardial infarction among treated hypertensive men. *Hypertension*. 1995 Jun;25(6):1144–52.
  45. Cook NR, Cutler JA, Obarzanek E, Buring JE, Rexrode KM, Kumanyika SK, et al. Long term effects of dietary sodium reduction on cardiovascular disease outcomes: observational follow-up of the trials of hypertension prevention (TOHP). *BMJ*. 2007 Apr 28;334(7599):885–8.
  46. Taylor RS, Ashton KE, Moxham T, Hooper L, Ebrahim S. Reduced dietary salt for the prevention of cardiovascular disease: a meta-analysis of randomized controlled trials (Cochrane review). *Am J Hypertens*. 2011 Aug;24(8):843–53.
  47. Strazzullo P, D'Elia L, Kandala N-B, Cappuccio FP. Salt intake, stroke, and cardiovascular disease: meta-analysis of prospective studies. *BMJ*. 2009;339:b4567.
  48. O'Donnell M, Mente A, Rangarajan S, McQueen MJ, Wang X, Liu L, et al. Urinary sodium and potassium excretion, mortality, and cardiovascular events. *N Engl J Med*. 2014 Aug 14;371(7):612–23.
  49. Grassi G, Dell'Oro R, Seravalle G, Foglia G, Trevano FQ, Mancia G. Short- and long-term neuroadrenergic effects of moderate dietary sodium restriction in essential hypertension. *Circulation*. 2002 Oct 8;106(15):1957–61.
  50. Garg R, Williams GH, Hurwitz S, Brown NJ, Hopkins PN, Adler GK. Low-salt diet increases insulin resistance in healthy subjects. *Metab Clin Exp*. 2011 Jul;60(7):965–8.
  51. Alderman MH, Madhavan S, Ooi WL, Cohen H, Sealey JE, Laragh JH. Association of the renin-sodium profile with the risk of myocardial infarction in patients with hypertension. *N Engl J Med*. 1991 Apr 18;324(16):1098–104.

52. Kawasaki T, Delea CS, Bartter FC, Smith H. The effect of high-sodium and low-sodium intakes on blood pressure and other related variables in human subjects with idiopathic hypertension. *Am J Med.* 1978 Feb;64(2):193–8.
53. Luft FC, Rankin LI, Bloch R, Weyman AE, Willis LR, Murray RH, et al. Cardiovascular and humoral responses to extremes of sodium intake in normal black and white men. *Circulation.* 1979 Sep;60(3):697–706.
54. Miller JZ, Weinberger MH, Daugherty SA, Fineberg NS, Christian JC, Grim CE. Heterogeneity of blood pressure response to dietary sodium restriction in normotensive adults. *J Chronic Dis.* 1987;40(3):245–50.
55. Sullivan JM, Ratts TE, Taylor JC, Kraus DH, Barton BR, Patrick DR, et al. Hemodynamic effects of dietary sodium in man: a preliminary report. *Hypertension.* 1980 Aug;2(4):506–14.
56. Sullivan JM, Prewitt RL, Ratts TE. Sodium sensitivity in normotensive and borderline hypertensive humans. *Am J Med Sci.* 1988 Apr;295(4):370–7.
57. Campese VM, Romoff MS, Levitan D, Saglikes Y, Friedler RM, Massry SG. Abnormal relationship between sodium intake and sympathetic nervous system activity in salt-sensitive patients with essential hypertension. *Kidney Int.* 1982 Feb;21(2):371–8.
58. Dustan HP, Kirk KA. Relationship of sodium balance to arterial pressure in black hypertensive patients. *Am J Med Sci.* 1988 Apr;295(4):378–83.
59. Weinberger MH, Miller JZ, Luft FC, Grim CE, Fineberg NS. Definitions and characteristics of sodium sensitivity and blood pressure resistance. *Hypertension.* 1986 Jun;8(6 Pt 2):II127-134.
60. Weinberger MH, Fineberg NS. Sodium and volume sensitivity of blood pressure. Age and pressure change over time. *Hypertension.* 1991 Jul;18(1):67–71.
61. Weinberger MH. Salt sensitivity of blood pressure in humans. *Hypertension.* 1996 Mar;27(3 Pt 2):481–90.
62. Weinberger MH, Fineberg NS, Fineberg SE, Weinberger M. Salt sensitivity, pulse pressure, and death in normal and hypertensive humans. *Hypertension.* 2001 Feb;37(2 Pt 2):429–32.
63. Sullivan JM. Salt sensitivity. Definition, conception, methodology, and long-term issues. *Hypertension.* 1991 Jan;17(1 Suppl):I61-68.
64. Rodriguez BL, Labarthe DR, Huang B, Lopez-Gomez J. Rise of blood pressure with age. New evidence of population differences. *Hypertension.* 1994 Dec;24(6):779–85.
65. Overlack A, Ruppert M, Kolloch R, Kraft K, Stumpe KO. Age is a major determinant of the divergent blood pressure responses to varying salt intake in essential hypertension. *Am J Hypertens.* 1995 Aug;8(8):829–36.
66. Rocchini AP, Key J, Bondie D, Chico R, Moorehead C, Katch V, et al. The effect of weight loss on the sensitivity of blood pressure to sodium in obese adolescents. *N Engl J Med.* 1989 Aug 31;321(9):580–5.
67. Kojima S, Murakami K, Kimura G, Sanai T, Yoshida K, Imanishi M, et al. A gender difference in the association between salt sensitivity and family history of hypertension. *Am J Hypertens.* 1992 Jan;5(1):1–7.

68. Ishibashi K, Oshima T, Matsuura H, Watanabe M, Ishida M, Ishida T, et al. Effects of age and sex on sodium chloride sensitivity: association with plasma renin activity. *Clin Nephrol*. 1994 Dec;42(6):376–80.
69. Overlack A, Ruppert M, Kolloch R, Göbel B, Kraft K, Diehl J, et al. Divergent hemodynamic and hormonal responses to varying salt intake in normotensive subjects. *Hypertension*. 1993 Sep;22(3):331–8.
70. Tuck ML. Role of salt in the control of blood pressure in obesity and diabetes mellitus. *Hypertension*. 1991 Jan;17(1 Suppl):135–142.
71. Kawasaki T, Itoh K, Cugini P. Influence of reapportionment of daily salt intake on circadian blood pressure pattern in normotensive subjects. *J Nutr Sci Vitaminol*. 1994 Oct;40(5):459–66.
72. Murakami K, Kojima S, Kimura G, Sanai T, Yoshida K, Imanishi M, et al. The association between salt sensitivity of blood pressure and family history of hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol Suppl*. 1992;20:61–3.
73. Ferrari P, Travaglini M, Schild C, Allemann Y, Shaw S, Weidmann P. Enhanced blood pressure response to mineralocorticoid stimulation in normotensive members of hypertensive families. *Blood Press*. 1992 Aug;1(2):86–91.
74. Kojima S, Inenaga T, Matsuoka H, Kuramochi M, Omae T, Nara Y, et al. The association between salt sensitivity of blood pressure and some polymorphic factors. *J Hypertens*. 1994 Jul;12(7):797–801.
75. Lifton RP, Dluhy RG, Powers M, Rich GM, Cook S, Ulick S, et al. A chimaeric 11 beta-hydroxylase/aldosterone synthase gene causes glucocorticoid-remediable aldosteronism and human hypertension. *Nature*. 1992 Jan 16;355(6357):262–5.
76. Guyton AC, Coleman TG, Cowley AV, Scheel KW, Manning RD, Norman RA. Arterial pressure regulation. Overriding dominance of the kidneys in long-term regulation and in hypertension. *Am J Med*. 1972 May;52(5):584–94.
77. Simon AC, Safar ME, Levenson JA, Aboras NE, Alexandre JM, Pauleau NF. Extracellular fluid volume and renal indices in essential hypertension. *Clin Exp Hypertens*. 1979;1(5):557–76.
78. Beretta-Piccoli C. Body sodium in normal subjects predisposed to hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1990;16 Suppl 7:S52–55.
79. Julius S. Transition from high cardiac output to elevated vascular resistance in hypertension. *Am Heart J*. 1988 Aug;116(2 Pt 2):600–6.
80. Haddy FJ, Overbeck HW. The role of humoral agents in volume expanded hypertension. *Life Sci*. 1976 Oct 1;19(7):935–47.
81. Dostanic-Larson I, Lorenz JN, Van Huysse JW, Neumann JC, Moseley AE, Lingrel JB. Physiological role of the alpha1- and alpha2-isoforms of the Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase and biological significance of their cardiac glycoside binding site. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2006 Mar;290(3):R524–528.
82. Ferrari P, Ferrandi M, Valentini G, Bianchi G. Rostafuroxin: an ouabain antagonist that corrects renal and vascular Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase alterations in ouabain and adducin-dependent hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2006 Mar;290(3):R529–535.
83. Crowley SD, Gurley SB, Oliverio MI, Pazmino AK, Griffiths R, Flannery PJ, et al. Distinct roles for the kidney and systemic tissues in blood pressure regulation by the renin-angiotensin system. *J Clin Invest*. 2005 Apr;115(4):1092–9.

84. Strazzullo P, Galletti F, Barba G. Altered renal handling of sodium in human hypertension: short review of the evidence. *Hypertension*. 2003 May;41(5):1000–5.
85. Chiolero A, Maillard M, Nussberger J, Brunner HR, Burnier M. Proximal sodium reabsorption: An independent determinant of blood pressure response to salt. *Hypertension*. 2000 Oct;36(4):631–7.
86. Shibata S, Mu S, Kawarazaki H, Muraoka K, Ishizawa K, Yoshida S, et al. Rac1 GTPase in rodent kidneys is essential for salt-sensitive hypertension via a mineralocorticoid receptor-dependent pathway. *J Clin Invest*. 2011 Aug;121(8):3233–43.
87. Farjah M, Roxas BP, Geenen DL, Danziger RS. Dietary salt regulates renal SGK1 abundance: relevance to salt sensitivity in the Dahl rat. *Hypertension*. 2003 Apr;41(4):874–8.
88. Massaad C, Houard N, Lombès M, Barouki R. Modulation of human mineralocorticoid receptor function by protein kinase A. *Mol Endocrinol*. 1999 Jan;13(1):57–65.
89. Mihailidou AS, Loan Le TY, Mardini M, Funder JW. Glucocorticoids activate cardiac mineralocorticoid receptors during experimental myocardial infarction. *Hypertension*. 2009 Dec;54(6):1306–12.
90. Jaffe IZ, Mendelsohn ME. Angiotensin II and aldosterone regulate gene transcription via functional mineralocorticoid receptors in human coronary artery smooth muscle cells. *Circ Res*. 2005 Apr 1;96(6):643–50.
91. McCurley A, Pires PW, Bender SB, Aronovitz M, Zhao MJ, Metzger D, et al. Direct regulation of blood pressure by smooth muscle cell mineralocorticoid receptors. *Nat Med*. 2012 Sep;18(9):1429–33.
92. Nagase M, Matsui H, Shibata S, Gotoda T, Fujita T. Salt-induced nephropathy in obese spontaneously hypertensive rats via paradoxical activation of the mineralocorticoid receptor: role of oxidative stress. *Hypertension*. 2007 Nov;50(5):877–83.
93. Ehrhart-Bornstein M, Lamounier-Zepter V, Schraven A, Langenbach J, Willenberg HS, Barthel A, et al. Human adipocytes secrete mineralocorticoid-releasing factors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003 Nov 25;100(24):14211–6.
94. Fujita T. Mineralocorticoid receptors, salt-sensitive hypertension, and metabolic syndrome. *Hypertension*. 2010 Apr;55(4):813–8.
95. de Paula RB, da Silva AA, Hall JE. Aldosterone antagonism attenuates obesity-induced hypertension and glomerular hyperfiltration. *Hypertension*. 2004 Jan;43(1):41–7.
96. Freeley M, O'Dowd F, Paul T, Kashanin D, Davies A, Kelleher D, et al. L-plastin regulates polarization and migration in chemokine-stimulated human T lymphocytes. *J Immunol*. 2012 Jun 15;188(12):6357–70.
97. Ghosh MC, Baatar D, Collins G, Carter A, Indig F, Biragyn A, et al. Dexamethasone augments CXCR4-mediated signaling in resting human T cells via the activation of the Src kinase Lck. *Blood*. 2009 Jan 15;113(3):575–84.
98. Kasal DA, Barhoumi T, Li MW, Yamamoto N, Zdanovich E, Rehman A, et al. T regulatory lymphocytes prevent aldosterone-induced vascular injury. *Hypertension*. 2012 Feb;59(2):324–30.
99. Rickard AJ, Morgan J, Tesch G, Funder JW, Fuller PJ, Young MJ. Deletion of mineralocorticoid receptors from macrophages protects against deoxycorticosterone/salt-induced cardiac fibrosis and increased blood pressure. *Hypertension*. 2009 Sep;54(3):537–43.
100. Gill JR, Güllner G, Lake CR, Lakatua DJ, Lan G. Plasma and urinary catecholamines in salt-sensitive idiopathic hypertension. *Hypertension*. 1988 Apr;11(4):312–9.

101. Esler M, Straznicky N, Eikelis N, Masuo K, Lambert G, Lambert E. Mechanisms of sympathetic activation in obesity-related hypertension. *Hypertension*. 2006 Nov;48(5):787–96.
102. Lohmeier TE, Iliescu R, Liu B, Henegar JR, Maric-Bilkan C, Irwin ED. Systemic and renal-specific sympathoinhibition in obesity hypertension. *Hypertension*. 2012 Feb;59(2):331–8.
103. Nagae A, Fujita M, Kawarazaki H, Matsui H, Ando K, Fujita T. Sympathoexcitation by oxidative stress in the brain mediates arterial pressure elevation in obesity-induced hypertension. *Circulation*. 2009 Feb 24;119(7):978–86.
104. Symplicity HTN-2 Investigators, Esler MD, Krum H, Sobotka PA, Schlaich MP, Schmieder RE, et al. Renal sympathetic denervation in patients with treatment-resistant hypertension (The Symplicity HTN-2 Trial): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2010 Dec 4;376(9756):1903–9.
105. Sato Y, Ando K, Ogata E, Fujita T. High potassium intake attenuates antinatriuretic response to air stress in DOCA-salt rats. *Am J Physiol*. 1991 May;260(5 Pt 2):R941–945.
106. Sanders PW. Salt intake, endothelial cell signaling, and progression of kidney disease. *Hypertension*. 2004 Feb;43(2):142–6.
107. Zacchigna L, Vecchione C, Notte A, Cordenonsi M, Dupont S, Maretto S, et al. Emilin1 links TGF-beta maturation to blood pressure homeostasis. *Cell*. 2006 Mar 10;124(5):929–42.
108. Lifton RP, Gharavi AG, Geller DS. Molecular mechanisms of human hypertension. *Cell*. 2001 Feb 23;104(4):545–56.
109. Zhao X, Pollock DM, Zeldin DC, Imig JD. Salt-sensitive hypertension after exposure to angiotensin is associated with inability to upregulate renal epoxygenases. *Hypertension*. 2003 Oct;42(4):775–80.
110. Nakagawa K, Holla VR, Wei Y, Wang W-H, Gatica A, Wei S, et al. Salt-sensitive hypertension is associated with dysfunctional Cyp4a10 gene and kidney epithelial sodium channel. *J Clin Invest*. 2006 Jun;116(6):1696–702.
111. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med*. 1971 Nov 18;285(21):1182–6.
112. Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, Perruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science*. 1983 Feb 25;219(4587):983–5.
113. Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1989 Jun 15;161(2):851–8.
114. Carmeliet P, Ferreira V, Breier G, Pollefeyt S, Kieckens L, Gertsenstein M, et al. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature*. 1996 Apr 4;380(6573):435–9.
115. Ferrara N, Carver-Moore K, Chen H, Dowd M, Lu L, O'Shea KS, et al. Heterozygous embryonic lethality induced by targeted inactivation of the VEGF gene. *Nature*. 1996 Apr 4;380(6573):439–42.
116. Miquerol L, Langille BL, Nagy A. Embryonic development is disrupted by modest increases in vascular endothelial growth factor gene expression. *Development*. 2000 Sep;127(18):3941–6.
117. Otani N, Minami S, Yamoto M, Shikone T, Otani H, Nishiyama R, et al. The vascular endothelial growth factor/fms-like tyrosine kinase system in human ovary during the menstrual cycle and early pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999 Oct;84(10):3845–51.

118. Eming SA, Krieg T. Molecular mechanisms of VEGF-A action during tissue repair. *J Invest Dermatol Symp Proc.* 2006 Sep;11(1):79–86.
119. Street J, Bao M, deGuzman L, Bunting S, Peale FV, Ferrara N, et al. Vascular endothelial growth factor stimulates bone repair by promoting angiogenesis and bone turnover. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002 Jul 23;99(15):9656–61.
120. Mac Gabhann F, Ji JW, Popel AS. VEGF gradients, receptor activation, and sprout guidance in resting and exercising skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 2007 Feb;102(2):722–34.
121. Lee S, Chen TT, Barber CL, Jordan MC, Murdock J, Desai S, et al. Autocrine VEGF signaling is required for vascular homeostasis. *Cell.* 2007 Aug 24;130(4):691–703.
122. Broxterman HJ, Georgopapadakou NH. Anticancer therapeutics: “Addictive” targets, multi-targeted drugs, new drug combinations. *Drug Resist Updat.* 2005 Aug;8(4):183–97.
123. Robinson ES, Matulonis UA, Ivy P, Berlin ST, Tyburski K, Penson RT, et al. Rapid development of hypertension and proteinuria with cediranib, an oral vascular endothelial growth factor receptor inhibitor. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010 Mar;5(3):477–83.
124. Yang JC, Haworth L, Sherry RM, Hwu P, Schwartzentruber DJ, Topalian SL, et al. A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer. *N Engl J Med.* 2003 Jul 31;349(5):427–34.
125. Patel TV, Morgan JA, Demetri GD, George S, Maki RG, Quigley M, et al. A preeclampsia-like syndrome characterized by reversible hypertension and proteinuria induced by the multitargeted kinase inhibitors sunitinib and sorafenib. *J Natl Cancer Inst.* 2008 Feb 20;100(4):282–4.
126. Maitland ML, Kasza KE, Karrison T, Moshier K, Sit L, Black HR, et al. Ambulatory monitoring detects sorafenib-induced blood pressure elevations on the first day of treatment. *Clin Cancer Res.* 2009 Oct 1;15(19):6250–7.
127. Maynard SE, Min J-Y, Merchan J, Lim K-H, Li J, Mondal S, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest.* 2003 Mar;111(5):649–58.
128. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim K-H, England LJ, Yu KF, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med.* 2004 Feb 12;350(7):672–83.
129. Lowe DT. Nitric oxide dysfunction in the pathophysiology of preeclampsia. *Nitric Oxide.* 2000 Aug;4(4):441–58.
130. Inai T, Mancuso M, Hashizume H, Baffert F, Haskell A, Baluk P, et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in cancer causes loss of endothelial fenestrations, regression of tumor vessels, and appearance of basement membrane ghosts. *Am J Pathol.* 2004 Jul;165(1):35–52.
131. Baffert F, Le T, Sennino B, Thurston G, Kuo CJ, Hu-Lowe D, et al. Cellular changes in normal blood capillaries undergoing regression after inhibition of VEGF signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2006 Feb;290(2):H547–559.
132. Steeghs N, Gelderblom H, Roodt JO ’t, Christensen O, Rajagopalan P, Hovens M, et al. Hypertension and rarefaction during treatment with telatinib, a small molecule angiogenesis inhibitor. *Clin Cancer Res.* 2008 Jun 1;14(11):3470–6.



133. Facemire CS, Nixon AB, Griffiths R, Hurwitz H, Coffman TM. Vascular endothelial growth factor receptor 2 controls blood pressure by regulating nitric oxide synthase expression. *Hypertension*. 2009 Sep;54(3):652–8.
134. Machnik A, Neuhofer W, Jantsch J, Dahlmann A, Tammela T, Machura K, et al. Macrophages regulate salt-dependent volume and blood pressure by a vascular endothelial growth factor-C-dependent buffering mechanism. *Nat Med*. 2009 May;15(5):545–52.
135. Veronese ML, Mosenkis A, Flaherty KT, Gallagher M, Stevenson JP, Townsend RR, et al. Mechanisms of hypertension associated with BAY 43-9006. *J Clin Oncol*. 2006 Mar 20;24(9):1363–9.
136. Alexander BT, Rinewalt AN, Cockrell KL, Massey MB, Bennett WA, Granger JP. Endothelin type a receptor blockade attenuates the hypertension in response to chronic reductions in uterine perfusion pressure. *Hypertension*. 2001 Feb;37(2 Pt 2):485–9.
137. González SA, Forcada P, de Cavanagh EMV, Inserra F, Svane JC, Obregón S, et al. Sodium intake is associated with parasympathetic tone and metabolic parameters in mild hypertension. *Am J Hypertens*. 2012 May;25(5):620–4.
138. August P, Lenz T, Ales KL, Druzin ML, Edersheim TG, Hutson JM, et al. Longitudinal study of the renin-angiotensin-aldosterone system in hypertensive pregnant women: deviations related to the development of superimposed preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 1990 Nov;163(5 Pt 1):1612–21.
139. Zou AP, Cowley AW. Role of nitric oxide in the control of renal function and salt sensitivity. *Curr Hypertens Rep*. 1999 May;1(2):178–86.
140. Ziomer A, Machnik A, Dahlmann A, Dietsch P, Beck F-X, Wagner H, et al. Sodium-, potassium-, chloride-, and bicarbonate-related effects on blood pressure and electrolyte homeostasis in deoxycorticosterone acetate-treated rats. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2008 Dec;295(6):F1752–1763.
141. Titze J, Maillet A, Lang R, Gunga HC, Johannes B, Gauquelin-Koch G, et al. Long-term sodium balance in humans in a terrestrial space station simulation study. *Am J Kidney Dis*. 2002 Sep;40(3):508–16.
142. Titze J, Bauer K, Schafflhuber M, Dietsch P, Lang R, Schwind KH, et al. Internal sodium balance in DOCA-salt rats: a body composition study. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2005 Oct;289(4):F793–802.
143. Titze J, Lang R, Ilies C, Schwind KH, Kirsch KA, Dietsch P, et al. Osmotically inactive skin Na<sup>+</sup> storage in rats. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2003 Dec;285(6):F1108–1117.
144. Heer M, Baisch F, Kropp J, Gerzer R, Drummer C. High dietary sodium chloride consumption may not induce body fluid retention in humans. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2000 Apr;278(4):F585–595.
145. Titze J, Machnik A. Sodium sensing in the interstitium and relationship to hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2010 Jul;19(4):385–92.
146. Kopp C, Linz P, Dahlmann A, Hammon M, Jantsch J, Müller DN, et al. <sup>23</sup>Na magnetic resonance imaging-determined tissue sodium in healthy subjects and hypertensive patients. *Hypertension*. 2013 Mar;61(3):635–40.
147. Schafflhuber M, Volpi N, Dahlmann A, Hilgers KF, Maccari F, Dietsch P, et al. Mobilization of osmotically inactive Na<sup>+</sup> by growth and by dietary salt restriction in rats. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007 May;292(5):F1490–1500.
148. Titze J, Shakibaei M, Schafflhuber M, Schulze-Tanzil G, Porst M, Schwind KH, et al. Glycosaminoglycan polymerization may enable osmotically inactive Na<sup>+</sup> storage in the skin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004 Jul;287(1):H203–208.

149. Fukuda S, Yasu T, Kobayashi N, Ikeda N, Schmid-Schönbein GW. Contribution of fluid shear response in leukocytes to hemodynamic resistance in the spontaneously hypertensive rat. *Circ Res.* 2004 Jul 9;95(1):100–8.
150. Guzik TJ, Hoch NE, Brown KA, McCann LA, Rahman A, Dikalov S, et al. Role of the T cell in the genesis of angiotensin II induced hypertension and vascular dysfunction. *J Exp Med.* 2007 Oct 1;204(10):2449–60.
151. Jeltsch M, Kaipainen A, Joukov V, Meng X, Lakso M, Rauvala H, et al. Hyperplasia of lymphatic vessels in VEGF-C transgenic mice. *Science.* 1997 May 30;276(5317):1423–5.
152. Kerjaschki D. The crucial role of macrophages in lymphangiogenesis. *J Clin Invest.* 2005 Sep;115(9):2316–9.
153. Schoppmann SF, Birner P, Stöckl J, Kalt R, Ullrich R, Caucig C, et al. Tumor-associated macrophages express lymphatic endothelial growth factors and are related to peritumoral lymphangiogenesis. *Am J Pathol.* 2002 Sep;161(3):947–56.
154. Lohela M, Heloterä H, Haiko P, Dumont DJ, Alitalo K. Transgenic induction of vascular endothelial growth factor-C is strongly angiogenic in mouse embryos but leads to persistent lymphatic hyperplasia in adult tissues. *Am J Pathol.* 2008 Dec;173(6):1891–901.
155. Go WY, Liu X, Roti MA, Liu F, Ho SN. NFAT5/TonEBP mutant mice define osmotic stress as a critical feature of the lymphoid microenvironment. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004 Jul 20;101(29):10673–8.
156. Neuhofer W, Beck F-X. Cell survival in the hostile environment of the renal medulla. *Annu Rev Physiol.* 2005;67:531–55.
157. Joukov V, Sorsa T, Kumar V, Jeltsch M, Claesson-Welsh L, Cao Y, et al. Proteolytic processing regulates receptor specificity and activity of VEGF-C. *EMBO J.* 1997 Jul 1;16(13):3898–911.
158. Feng Y, Venema VJ, Venema RC, Tsai N, Caldwell RB. VEGF induces nuclear translocation of Flk-1/KDR, endothelial nitric oxide synthase, and caveolin-1 in vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999 Mar 5;256(1):192–7.
159. He H, Venema VJ, Gu X, Venema RC, Marrero MB, Caldwell RB. Vascular endothelial growth factor signals endothelial cell production of nitric oxide and prostacyclin through flk-1/KDR activation of c-Src. *J Biol Chem.* 1999 Aug 27;274(35):25130–5.
160. Ahmad S, Hewett PW, Wang P, Al-Ani B, Cudmore M, Fujisawa T, et al. Direct evidence for endothelial vascular endothelial growth factor receptor-1 function in nitric oxide-mediated angiogenesis. *Circ Res.* 2006 Sep 29;99(7):715–22.
161. Slagman MCJ, Kwakernaak AJ, Yazdani S, Laverman GD, van den Born J, Titze J, et al. Vascular endothelial growth factor C levels are modulated by dietary salt intake in proteinuric chronic kidney disease patients and in healthy subjects. *Nephrol Dial Transplant.* 2012 Mar;27(3):978–82.
162. Luft FC. Molecular genetics of salt-sensitivity and hypertension. *Drug Metab Dispos.* 2001 Apr;29(4 Pt 2):500–4.
163. Hamnvik O-PR, Choueiri TK, Turchin A, McKay RR, Goyal L, Davis M, et al. Clinical risk factors for the development of hypertension in patients treated with inhibitors of the VEGF signaling pathway. *Cancer.* 2015 Jan 15;121(2):311–9.
164. Lukaski HC. Validation of body composition assessment techniques in the dialysis population. *ASAIO J.* 1997 Jun;43(3):251–5.

165. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redán J, Zanchetti A, Böhm M, et al. 2013 Practice guidelines for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and the European Society of Cardiology (ESC): ESH/ESC Task Force for the Management of Arterial Hypertension. *J Hypertens*. 2013 Oct;31(10):1925–38.
166. Parati G, Stergiou G, O'Brien E, Asmar R, Beilin L, Bilo G, et al. European Society of Hypertension practice guidelines for ambulatory blood pressure monitoring. *J Hypertens*. 2014 Jul;32(7):1359–66.
167. Cwynar M, Stompór T, Bartoń H, Grodzicki T. Endogenous lithium clearance: a diagnostic method of assessing sodium sensitivity in hypertension. Methodological and clinical implications. *Kardiol Pol*. 2014;72(1):1–7.
168. Stolarz K, Staessen JA, Kawecka-Jaszcz K, Brand E, Bianchi G, Kuznetsova T, et al. Genetic variation in CYP11B2 and AT1R influences heart rate variability conditional on sodium excretion. *Hypertension*. 2004 Aug;44(2):156–62.
169. Nishida C, Uauy R, Kumanyika S, Shetty P. The joint WHO/FAO expert consultation on diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: process, product and policy implications. *Public Health Nutr*. 2004 Feb;7(1A):245–50.
170. Dahlmann A, Dörfelt K, Eicher F, Linz P, Kopp C, Mössinger I, et al. Magnetic resonance-determined sodium removal from tissue stores in hemodialysis patients. *Kidney Int*. 2015 Feb;87(2):434–41.
171. Cwynar M, Gąsowski J, Stompór T, Bartoń H, Wizner B, Dubiel M, et al. Blood pressure and arterial stiffness in patients with high sodium intake in relation to sodium handling and left ventricular diastolic dysfunction status. *J Hum Hypertens*. 2015 Oct;29(10):583–91.
172. Jin Y, Kuznetsova T, Maillard M, Richart T, Thijs L, Bochud M, et al. Independent relations of left ventricular structure with the 24-hour urinary excretion of sodium and aldosterone. *Hypertension*. 2009 Sep;54(3):489–95.
173. Luft FC. Calcium-channel-blocking drugs and renal sodium excretion. *Am J Nephrol*. 1987;7 Suppl 1:39–43.
174. Rice AJ, Ferguson RK, Delle M, Wilson WR. Comparative beta-blocking activities and effects on sodium excretion of sotalol and propranolol. *Clin Pharmacol Ther*. 1970 Aug;11(4):567–73.
175. Weber MA, Drayer JI. Renal effects of beta-adrenoceptor blockade. *Kidney Int*. 1980 Nov;18(5):686–99.
176. Hollenberg NK. Renal hemodynamics in essential and renovascular hypertension. Influence of captopril. *Am J Med*. 1984 May 31;76(5B):22–8.
177. Hollenberg NK. Angiotensin-converting enzyme inhibition: renal aspect. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1985;7 Suppl 1:S40–44.
178. Pechlivanova DM, Stoynev AG. Effect of chronic treatment with angiotensin receptor ligands on water-salt balance in Wistar and spontaneously hypertensive rats. *Folia Med (Plovdiv)*. 2013 Dec;55(3–4):63–9.
179. Gifford RW, Mattox VR, Orvis AL, Sones DA, Rosevear JW. Effect of thiazide diuretics on plasma volume, body electrolytes, and excretion of aldosterone in hypertension. *Circulation*. 1961 Nov;24:1197–205.
180. Luft FC, Fineberg NS, Weinberger MH. Long-term effect of nifedipine and hydrochlorothiazide on blood pressure and sodium homeostasis at varying levels of salt intake in mildly hypertensive patients. *Am J Hypertens*. 1991 Sep;4(9):752–60.

181. Itani HA, McMaster WG, Saleh MA, Nazarewicz RR, Mikolajczyk TP, Kaszuba AM, et al. Activation of Human T Cells in Hypertension: Studies of Humanized Mice and Hypertensive Humans. *Hypertension*. 2016 Jul;68(1):123–32.
182. Schmid-Schönbein GW, Seiffge D, DeLano FA, Shen K, Zweifach BW. Leukocyte counts and activation in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Hypertension*. 1991 Mar;17(3):323–30.
183. Dörffel Y, Lätsch C, Stuhlmüller B, Schreiber S, Scholze S, Burmester GR, et al. Preactivated peripheral blood monocytes in patients with essential hypertension. *Hypertension*. 1999 Jul;34(1):113–7.
184. Norman RA, Zielak DJ, Bost KL, Khraibi AA, Galloway PG. Immune system dysfunction contributes to the aetiology of spontaneous hypertension. *J Hypertens*. 1985 Jun;3(3):261–8.
185. Kriska T, Cepura C, Gauthier KM, Campbell WB. Role of macrophage PPAR $\gamma$  in experimental hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2014 Jan 1;306(1):H26–32.
186. Fu ML. Do immune system changes have a role in hypertension? *J Hypertens*. 1995 Nov;13(11):1259–65.
187. Luft FC, Mervaala E, Müller DN, Gross V, Schmidt F, Park JK, et al. Hypertension-induced end-organ damage : A new transgenic approach to an old problem. *Hypertension*. 1999 Jan;33(1 Pt 2):212–8.
188. Nambi V. The use of myeloperoxidase as a risk marker for atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep*. 2005 Mar;7(2):127–31.
189. Van der Zwan LP, Scheffer PG, Dekker JM, Stehouwer CDA, Heine RJ, Teerlink T. Hyperglycemia and oxidative stress strengthen the association between myeloperoxidase and blood pressure. *Hypertension*. 2010 Jun;55(6):1366–72.
190. Derosa G, Mugellini A, Pesce RM, D'Angelo A, Maffioli P. Olmesartan Combined With Amlodipine on Oxidative Stress Parameters in Type 2 Diabetics, Compared With Single Therapies: A Randomized, Controlled, Clinical Trial. *Medicine (Baltimore)*. 2016 Mar;95(13):e3084.
191. Guyton AC. Blood pressure control--special role of the kidneys and body fluids. *Science*. 1991 Jun 28;252(5014):1813–6.
192. Seo HS, Kim EJ, Kim SW, Im SI, Na JO, Choi CU, et al. Extracellular fluid adjusted for body size is contracted in hypertension. *Hypertens Res*. 2013 Oct;36(10):916–21.
193. Libianto R, Jerums G, Lam Q, Chen A, Baqar S, Pylis F, et al. Relationship between urinary sodium excretion and serum aldosterone in patients with diabetes in the presence and absence of modifiers of the renin-angiotensin-aldosterone system. *Clin Sci*. 2014 Jan;126(2):147–54.
194. Ghazi L, Dudenbostel T, Lin CP, Oparil S, Calhoun DA. Urinary sodium excretion predicts blood pressure response to spironolactone in patients with resistant hypertension independent of aldosterone status. *J Hypertens*. 2016 May;34(5):1005–10.
195. Matsui H, Ando K, Kawarazaki H, Nagae A, Fujita M, Shimosawa T, et al. Salt excess causes left ventricular diastolic dysfunction in rats with metabolic disorder. *Hypertension*. 2008 Aug;52(2):287–94.
196. Nagase M, Yoshida S, Shibata S, Nagase T, Gotoda T, Ando K, et al. Enhanced aldosterone signaling in the early nephropathy of rats with metabolic syndrome: possible contribution of fat-derived factors. *J Am Soc Nephrol*. 2006 Dec;17(12):3438–46.

197. de Souza F, Muxfeldt E, Fiszman R, Salles G. Efficacy of spironolactone therapy in patients with true resistant hypertension. *Hypertension*. 2010 Jan;55(1):147–52.
198. Nishizaka MK, Zaman MA, Calhoun DA. Efficacy of low-dose spironolactone in subjects with resistant hypertension. *Am J Hypertens*. 2003 Nov;16(11 Pt 1):925–30.
199. Satoh M, Kikuya M, Hosaka M, Asayama K, Inoue R, Metoki H, et al. Association of aldosterone-to-renin ratio with hypertension differs by sodium intake: the Ohasama study. *Am J Hypertens*. 2015 Feb;28(2):208–15.
200. Uzu T, Sakaguchi M, Yokomaku Y, Kume S, Kanasaki M, Isshiki K, et al. Effects of high sodium intake and diuretics on the circadian rhythm of blood pressure in type 2 diabetic patients treated with an angiotensin II receptor blocker. *Clin Exp Nephrol*. 2009 Aug;13(4):300–6.
201. Lerchl K, Rakova N, Dahlmann A, Rauh M, Goller U, Basner M, et al. Agreement between 24-hour salt ingestion and sodium excretion in a controlled environment. *Hypertension*. 2015 Oct;66(4):850–7.