

# AKTIVACIJA IMUNOSTI U ARTERIJSKOJ HIPERTENZIJU

---

Šimundić, Tihana

Doctoral thesis / Disertacija

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:152:327517>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-14**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**Tihana Šimundić**

**AKTIVACIJA IMUNOSTI U ARTERIJSKOJ HIPERTENZIJU**  
**doktorska disertacija**

**Osijek, 2017.g.**

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**Tihana Šimundić**

**AKTIVACIJA IMUNOSTI U ARTERIJSKOJ HIPERTENZIJU**  
**doktorska disertacija**

**Osijek, 2017. godina**

Disertacija je izrađena na Zavodu za nefrologiju, Kliničkog bolničkog centra Osijek,  
Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Osijeku  
Mentor: prof. dr. sc. Jerko Barbić, dr. med.  
Rad ima 92 lista.

## **ZAHVALA**

Puno hvala mentoru prof.dr.sc.Jerku Barbiću,dr.med. na vođenju kroz izradu ovog rada.

Zahvaljujem se dr.sc.Andrei Džumhur,dr.med. na optimizmu, idejama i prijateljskoj podršci.

Hvala voditelju i inženjerima Zavoda za kliničku laboratorijsku dijagnostiku, Kliničkog bolničkog centra Osijek, koji su pomogli u realizaciji ove ideje.

Hvala medicinskim sestrama koje su mi pomogle u prikupljanju uzoraka.

I na kraju, veliko hvala mojoj obitelji na strpljenju, podršci i ljubavi.

Tihana Šimundić, dr.med.

# SADRŽAJ

|                                                   |           |
|---------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. UVOD</b>                                    | <b>1</b>  |
| 1.1. Uvod                                         | 1         |
| 1.2. Patofiziologija arterijske hipertenzije      | 2         |
| 1.3. Prirođeni imunološki sustav i hipertenzija   | 3         |
| 1.3.1. Toll-like receptori                        | 4         |
| 1.4. Stečeni imunološki sustav i hipertenzija     | 10        |
| 1.4.1. Th17 limfociti i interleukin 17A           | 13        |
| 1.5. Neuroimunologija i hipertenzija              | 15        |
| 1.6. Sažetak dosadašnjih spoznaja                 | 16        |
| <b>2. HIPOTEZA</b>                                | <b>20</b> |
| <b>3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA</b>                    | <b>21</b> |
| <b>4. ISPITANICI I METODE</b>                     | <b>22</b> |
| 4.1. Ustroj studije                               | 22        |
| 4.2. Ispitanici                                   | 22        |
| 4.3. Metode                                       | 23        |
| 4.4. Statističke metode                           | 25        |
| <b>5. REZULTATI</b>                               | <b>26</b> |
| 5.1. Osnovna obilježja ispitanika                 | 26        |
| 5.2. Povezanost TLR4 i IL-17 s drugim parametrima | 33        |
| 5.3. Utjecaj C reaktivnog proteina i urata        | 46        |
| 5.4. Farmakoterapija                              | 54        |
| <b>6. RASPRAVA</b>                                | <b>57</b> |
| <b>7. ZAKLJUČCI</b>                               | <b>67</b> |
| <b>8. SAŽETAK</b>                                 | <b>68</b> |
| <b>9. SUMMARY</b>                                 | <b>70</b> |
| <b>10. LITERATURA</b>                             | <b>72</b> |
| <b>11. ŽIVOTOPIS</b>                              | <b>86</b> |

## POPIS OZNAKA I KRATICA

|               |                                                                                                                   |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| AII           | angiotenzin II                                                                                                    |
| ACE-I         | inhibitor angiotenzin-konvertirajućeg enzima                                                                      |
| AH            | arterijska hipertenzija                                                                                           |
| APC           | imunopredočne stanice (od engl. antigen presenting cells)                                                         |
| ARB           | blokator angiotenzin-I receptora                                                                                  |
| AT            | arterijski tlak                                                                                                   |
| AT1R          | angiotenzinski receptor tip 1                                                                                     |
| BMI           | indeks tjelesne mase (od engl. body mass index)                                                                   |
| CD14          | klaster diferencijacije 14 (od engl. cluster of differentiation 14)                                               |
| CRASH         | od engl. Croatian action on salt and health                                                                       |
| CRP           | C reaktivni protein                                                                                               |
| DAMP          | obrazac opasnosti/oštećenja (od engl. danger/damage associated molecular pattern)                                 |
| DNA           | deoksiribonukleinska kiselina (od engl. deoxyribonucleic acid)                                                    |
| EH-UH         | “Epidemiologija arterijske hipertenzije u Hrvatskoj“                                                              |
| ESH-ESC       | European Society of Hypertension (ESH) - European Society of Cardiology (ESC)                                     |
| HDL           | lipoproteini velike gustoće, od engl. high density lipoproteins                                                   |
| HMGB1         | protein visoke pokretljivosti iz supine 1 (od engl. high mobility group box 1)                                    |
| HSP           | protein toplinskoga urušaja (od engl. heat shock protein)                                                         |
| IFN $\gamma$  | interferon gama                                                                                                   |
| Ig            | imunoglobulin                                                                                                     |
| IL            | interleukin                                                                                                       |
| IKK           | kinaza I $\kappa$ B                                                                                               |
| IRAK1         | kinaza vezana uz IL-1 receptor (od engl. IL-1 receptor-associated kinase)                                         |
| IRF3          | čimbenik regulacije interferona 3 (od engl. interferon regulating factor 3)                                       |
| ITM           | indeks tjelesne mase                                                                                              |
| KV            | kardiovaskularni                                                                                                  |
| LBP           | protein koji veže LPS (od engl. LPS-binding protein)                                                              |
| LDL           | lipoprotein male gustoće (od engl. low density lipoprotein)                                                       |
| LPS           | lipopolisaharid                                                                                                   |
| MAP kinaza    | kinaza koju pobuđuje mitogen (od engl. mitogen activated protein kinase)                                          |
| MD2           | koreceptor TLR4 (od engl. myeloid differentiation 2)                                                              |
| MFI           | srednji intenzitet fluorescencije biljega (od engl. mean fluorescence intensity)                                  |
| MHC           | glavni kompleks tkivne podudarnosti (od engl. major histocompatibility complex)                                   |
| MRP           | protein mijeloida (od engl. myeloid related protein)                                                              |
| MyD88         | protein primarno odgovoran za mijeloidno razlikovanje (od engl. myeloid differentiation primary response protein) |
| NEMO          | modulator NF $\kappa$ B (od engl. NF- $\kappa$ B essential modulator)                                             |
| NF $\kappa$ B | jezgrin čimbenik $\kappa$ B (od engl. nuclear factor $\kappa$ B)                                                  |
| NK            | od engl. natural killer cells                                                                                     |
| NO            | dušikov monoksid (od engl. nitric oxide)                                                                          |

|              |                                                                                                                                             |
|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| PAMP         | molekularni obrazac povezan s patogenom (od engl. pathogen associated molecular pattern)                                                    |
| PRR          | receptori koji prepoznaju obrazac (od engl. pattern recognition receptors)                                                                  |
| PVN          | paraventrikularna jezgra hipotalamusa (od engl. paraventricular nucleus)                                                                    |
| RNA          | ribonukleinska kiselina (od engl. ribonucleic acid)                                                                                         |
| ROS          | slobodni radikali kisika (od engl. reactive oxygen species)                                                                                 |
| SARM         | od engl. sterile $\alpha$ - and armadillo-motif-containing protein                                                                          |
| SŽS          | središnji živčani sustav                                                                                                                    |
| TAB          | protein koji veže TAK1 (od engl. TAK1 binding protein)                                                                                      |
| TAK1         | kinaza koja aktivira TGF $\beta$ (od engl. TGF $\beta$ -activated kinase)                                                                   |
| TFAM         | mitohondrijski transkripcijski faktor A (od engl. mitochondrial transcription factor A)                                                     |
| TGF $\beta$  | transformirajući čimbenik rasta $\beta$ (od engl. transforming growth factor $\beta$ )                                                      |
| Th           | pomoćnički T limfocit (od engl. helper)                                                                                                     |
| TIRAP        | adaptorski protein koji sadrži TIR domenu (od engl. TIR domain-containing adaptor protein)                                                  |
| TLR          | Toll-u sličan receptor (od engl. toll-like receptor)                                                                                        |
| TM           | tjelesna masa                                                                                                                               |
| TNF $\alpha$ | čimbenik nekroze tumora $\alpha$ (od engl. tumor necrosis factor $\alpha$ )                                                                 |
| TRAF         | čimbenik vezan uz TNF (od engl. tumor necrosis factor (TNF) receptor associated factor)                                                     |
| TRAM         | adaptorska molekula srodna TRIF-u (od engl. TRIF-related adaptor molecule)                                                                  |
| Tregs        | regulacijski T limfociti                                                                                                                    |
| TRIF         | adaptorski protein koji sadrži TIR domenu i potiče interferon $\beta$ (od engl. TIR domain-containing adaptor inducing interferon $\beta$ ) |
| TV           | tjelesna visina                                                                                                                             |
| VCAM-1       | vaskularna stanična adhezijska molekula (od engl. vascular cell adhesion molecule)                                                          |



# 1. UVOD I SVRHA RADA

## 1.1. Uvod

Prema posljednjim klasifikacijskim kriterijima Europskog društva za hipertenziju i Europskog društva za kardiologiju (ESH/ESC) iz 2013. godine arterijska hipertenzija (AH) definira se vrijednostima arterijskoga tlaka (AT) iznad 140/90 mmHg izmjerena u najmanje dva navrata u dva različita vremena s razmakom od nekoliko dana (1). Arterijska hipertenzija predstavlja najvažniji čimbenik rizika za kardiovaskularne incidente (1). Osobito je važno za napomenuti da svako povećanje sistoličkoga tlaka za 20 mmHg ili povećanje dijastoličkoga tlaka za 10 mmHg u dobi od 40 do 70 godina udvostručuje rizik za razvoj kardiovaskularnih bolesti (2). Prema posljednjim podacima, od posljedica kardiovaskularnih bolesti u svijetu godišnje umire oko 17.5 milijuna ljudi (3). To je gotovo 50% svih smrtnih ishoda (4). U Republici Hrvatskoj kardiovaskularne bolesti su također vodeći uzrok smrti: s udjelom 48% u općoj populaciji, a u populaciji starijih od 65 godina s udjelom 52% (5). Na drugom su mjestu novotvorine s udjelom oko 25% u općoj populaciji, odnosno 23% u starijih od 65 godina (5). Istovremeno, upravo novotvorine počesto općoj populaciji, pa i dijelu liječnika, uzimaju puno veću pažnju, zanimanje, pa i strah. Što se tiče same hipertenzije, prema rezultatima studije "Epidemiologija arterijske hipertenzije u Hrvatskoj (EH-UH) (6) prevalencija arterijske hipertenzije je 37,5%, što je u skladu s objavljenim podacima u drugim europskim zemljama. Povišeni krvni tlak odgovoran je za 54% cerebrovaskularnih incidenata i 47% ishemijske bolesti srca, a najveći dio komplikacija zbog povišenog AT nastaje u radno sposobne populacije (od 45 do 69 godine). Kao dodatni problem u liječenju bolesnika sa AH izdvaja se (ne)uspjeh kontrole AT. U Republici Hrvatskoj se u svega 19,4% bolesnika postiže dobra kontrola arterijskoga tlaka (6). Osim loše regulacije AT, svi pacijenti sa AH mogu biti i dodatno ugroženi ovisno o pridruženim čimbenicima rizika te ovisno o ukupnom kardiovaskularnom riziku (1). Procjena KV rizika je važna jer nam pomaže u odluci hoćemo li i kako ćemo liječiti pacijenta. Ovdje treba napomenuti da se prečesto olako prelazi preko pojedinih čimbenika rizika. Primjerice, već samo prisustvo bubrežne bolesti (kreatinin u serumu  $>133$   $\mu\text{mol/L}$  za muškarce,  $>124$   $\mu\text{mol/L}$  za žene, proteinurija  $> 300\text{mg/dU}$  ili dijabetička nefropatija) bolesnika svrstava u kategoriju vrlo visokog dodatnog rizika čak i pri normalnim vrijednostima AT. Ukoliko takav pacijent ima

pridruženu i AH, što najčešće i bude slučaj, to samo znači da moramo ustrajati u dobroj kontroli AT. Sve navedeno dovoljno govori o važnosti same arterijske hipertenzije, kako za pojedinca, tako i za društvo u cjelini, te njenog pravodobnog i energičnog liječenja.

## **1.2. Patofiziologija arterijske hipertenzije**

Patofiziologija primarne AH je višeslojna, i ne u potpunosti, razjašnjena. Do sada su dobro poznati neki mehanizmi kao što su: pojačana aktivnost simpatičkog živčanog sustava, promjene u renin-angiotenzin-aldosteronskoj osi, endotelna disfunkcija, retencija soli, prevladavajuća vazokonstrikcija i manjak vazodilatatornih molekula (npr. prostaciklina, dušičnog oksida) te promjene na razini bubrežne cirkulacije s povišenim otporom (7-9) Novije spoznaje sve više govore u prilog prirođenog i stečenog imunološkog sustava koji su uključeni u ovaj proces kao i u oštećenje ciljnih organa, a koji su u međusobnoj interakciji. U skladu s tim, sve se više govori o arterijskoj hipertenziji kao upalnoj bolesti (10-13).

Prvi dokazi o tome datiraju još iz 1964. godine (14). Tada je po prvi puta zamijećeno da imunosupresija snižava arterijski tlak u štakora (14). Pet godina nakon toga dokazano je, također na štakorima, da dolazi do infiltracije mononukleara u oštećeni endotel (15). Prvi interleukin koji je budio interes istraživača u sklopu hipoteze o povezanosti imunosti i hipertenzije bio je interleukin-2. Međutim, istaživanjem na životinjskim modelima tada se pokazalo kako on ne utječe niti na razvoj hipertenzije niti je bitan za održavanje stanja povišenoga tlaka (16). Bilo je još nekoliko ranih studija koje su povezivale arterijsku hipertenziju i imunost (16, 17). No, nakon toga nije bilo novijih istraživanja tijekom gotovo dva desetljeća. Tek je unazad nekoliko godina imunološki odgovor postao ponovno zanimljiv u kontekstu AH. To vjerojatno jednim dijelom možemo pripisati i paralelnom napretku laboratorijskih i molekularnih dijagnostičkih metoda, ali isto tako i drukčijem shvaćanju imunosti u čovjeka.

Dugi je niz godina prevladavalo mišljenje kako imunološki sustav ima primarnu zadaću razlikovati „svoje“ i „tuđe“. To se u prvom redu odnosilo na mikroorganizme, za koje se smatralo da su kroz evoluciju imali presudnu ulogu u razvoju imunosti. No, počele su se javljati

brojne spoznaje o aktivnom imunološkom odgovoru, a bez prisutnosti klasične infekcije mikroorganizmima. Upravo iz tog razloga, predložen je model „signala opasnosti“ po kojem imunološki sustav prvenstveno reagira na ono što čini „štetu“ organizmu domaćina, a ne samo na „svoje“ i „tuđe“ (18). Upravo nas taj model „signala opasnosti“ uvodi u dokaze o prirođenom i stečenom imunološkom odgovoru u arterijskoj hipertenziji.

### **1.3. Prirođeni imunološki sustav i hipertenzija**

Osnovna podjela imunološkog sustava je na prirođeni (nespecifični) i stečeni (specifični). Prirođeni imunološki sustav je filogenetski stariji, ne može razviti memoriju i predstavlja prvu liniju obrane i to putem epitelnih stanica, neutrofila, fagocita, makrofaga, dendritičkih i NK ("natural killer") stanica, sustava komplementa,  $\gamma/\delta$  T limfocita, slobodnih radikala kisika (ROS), dušikovog monoksida (NO), pri čemu u aktivaciji prirođene imunosti veliku ulogu imaju signalni, membranski receptori kao što su receptori slični Toll-u (Toll-like receptori-TLR).

Odgovor prirođenog imunološkog sustava je brz i nespecifičan. Taj odgovor se može očitovati direktnim mehanizmima (npr. sintezom citkina i kemokina, aktivacijom sustava komplementa i fagocitozom) ili aktivacijom stečenoga imunološkog sustava. Treba imati na umu da stanice prirođenoga imunološkoga sustava mogu imati i proupalne i protuupalne učinke. Primjer za to su M1 i M2 makrofagi. M1 makrofagi imaju snažan proupalni učinak na način da su izvor brojnih proupalnih citokina: interleukina (IL)-1 $\beta$ , -6, -12, -23, tumor nekrotizirajućeg faktora  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) i slobodnih radikala kisika (ROS). S druge strane, M2 makrofagi sintetiziraju protuupalni citokin IL-10 (19), te na taj način pomažu djelovanju regulacijskih T-limfocita (Tregs) koji su poznati po svom anti-hipertenzivnom učinku (20, 21).

Iako je prirođeni imunološki sustav prepoznat prije više od 100 godina i donio je Nobelovu nagradu Ilyji Mechnikovu 1908. godine, tek je unatrag 15-ak godina ponovo postao interesantan za daljnja istraživanja u medicini. Danas je sve više dokaza da upravo prirođeni imunološki odgovor ima presudnu ulogu za razvoj kardiovaskularnih bolesti koje se danas prepoznaju kao kronična upalna stanja. Jedna od komponenti prirođene imunosti koja se često spominje u kontekstu arterijske hipertenzije su Toll-like receptori 4 (TLR4).

### 1.3.1. Toll-like receptori

Christiane Nüsslein-Völhard, s Max Planck Instituta u Tübingenu, u Njemačkoj, je 1985.g analizirajući mutacije vinske mušice *Drosophila melanogaster* otkrila mutirani gen i nazvala ga je Toll gen, a proizvod gena Toll receptor (22). Prilikom otkrića na njemačkom jeziku je rekla "*Das ist ja toll!*" (od njem. "Ovo je sjajno"), te su ovi receptori tako i dobili svoj naziv. Znanstvenici Christiane Nusslein-Volhard i Eric Wieschaus su za otkriće Toll receptora i njihove uloge na polju genetskih mehanizama koji kontroliraju embrionalni razvoj dobili Nobelovu nagradu iz fiziologije i medicine 1995. godine (23).

Godine 1991. otkriveno je da je receptor za IL-1 homologne građe sa unutarstaničnim dijelom Toll receptora kod *Drosophila* te se od tada pretpostavlja kako Toll receptor ima ulogu i u imunom sustavu (24), a to je i potvrđeno 1996. g. kada je otkrivena temeljna uloga Toll receptora u obrani od gljivične infekcije u *Drosophila*, koja, zanimljivo, ima razvijen samo urođeni imunostni sustav (25). Daljnja istraživanja u tom smjeru dovela su do toga da je 1994. g. Nomura sa suradnicima klonirao receptor za koji se pretpostavilo da ima ulogu u imunom sustavu čovjeka (26). Upravo taj receptor, s obzirom da je bio sličan ranije otkrivenom Toll-receptoru, Medzhitov i suradnici su 1997.g. nazvali Toll-like receptor (Toll-u sličan receptor) ili skraćeno TLR, i dokazali njegovu ulogu u pobudi urođenoga, a potom i specifičnoga imunostnog sustava (27). Taj prvootkriveni TLR sada je poznat kao Toll-like receptor 4 (TLR4). Nobelovu nagradu 2011. godine dobili su Bruce A. Beutler i Jules A. Hoffmann za otkriće iz 1998. godine da TLR-i prepoznaju velik broj mikroorganizama i aktiviraju prirodni imunološki odgovor, te Ralph M. Steinman koji je 1973. godine otkrio dendritičke stanice i kasnije njihovu ulogu u aktivaciji i regulaciji stečene imunosti (28).

Toll-u slični receptori (TLR) su skupina signalnih, membranskih receptora koji sudjeluju u aktivaciji urođenoga imunološkoga sustava, a posljedično i specifičnog imunološkog sustava (29). Mogu biti izraženi na svim stanicama, ali su uglavnom izraženi na stanicama perifernih leukocita. Ovi receptori nazivaju se receptorima koji prepoznaju obrazac (PRR - od engl. pattern recognition receptors). Ti obrasci, odnosno TLR ligandi (Tablica 1.1.), mogu biti bakterijske, virusne ili gljivične komponente (PAMP - molekularni obrazac povezan s

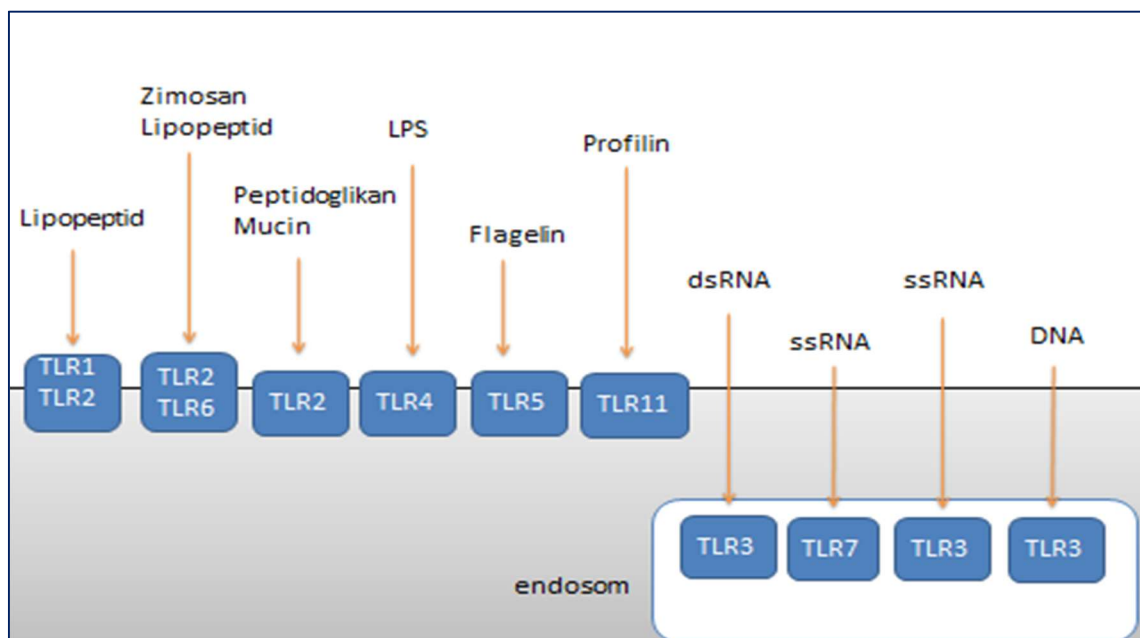
patogenom, od engl. pattern associated molecular pattern) (30), ali isto tako i endogene molekule koje nastaju kao rezultat oštećenja tkiva (DAMP - obrazac oštećenja/opasnosti, od engl. danger/damage associated molecular pattern) (31, 32). To su tzv. „signali opasnosti“. Aktivacijom TLR dolazi do ekspresije proupalnih gena što rezultira sintezom citokina, kemokina i adhezijskih molekula (33). Time se u daljnjoj kaskadi aktivira specifični imunološki odgovor (npr. Th1, Th2, Th17, Th23, Treg), dolazi do migracije stanica i njihove aktivacije na mjestu oštećenja. Upravo je arterijska hipertenzija primjer u kojem se na mehaničko oštećenje endotela u sklopu hiperetenzije u organizmu može potaknuti nastanak endogenih molekula koje predstavljaju tzv. signal oštećenja/opasnosti (DAMP), a koje su agonisti TLR, te tako potiču imunosni odgovor (34, 35).

Tablica 1.1. Neki od egzogenih i endogenih liganda

| Egzogeni TLR ligandi (PAMPs)                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Endogeni TLR ligandi (DAMPs)                                                                                                                                                                                                                                          |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Virusni: ssRNA, ds RNA, DNA, fuzijski proteini, proteini ovojnice,</li> <li>• Bakterijski: LPS, glikolipidi, DNA, teiholična kiselina, porini, peptidiglikan, glikoinozitolfosfolipidi, flagelin</li> <li>• Gljivični: zimosan</li> <li>• Biljni: taksol</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ekstracelularni: fibronektin, amiloid-beta</li> <li>• Stanični: HSP60, 70 i 90, HMGB1, galaktin, TFAM, MRP8 i 14, DNA</li> <li>• Ostali: oksidirani LDL, slobodne masne kiseline, angiotenzin II, urična kiselina</li> </ul> |

\*HMBG1: skupina velike pokretljivosti (od engl. high-mobility group box 1), †HSP: protein toplinskog urušaja (od engl. heat shock protein), ‡LDL: lipoprotein velike gustoće (od engl. low-density lipoprotein), §LPS: lipopolisaharid (od engl. lipopolysaccharide), ||MRP: protein mijeloida (od engl. myeloid related protein), ¶TFAM: mitohondrijski transkripcijski faktor A (od engl. mitochondrial transcription factor A).

Za sada se zna za postojanje deset vrsta TLR receptora koji su identificirani u ljudi (TLR1-TLR10) i dvanaest u miševa (TLR1-TLR9, TLR11-TLR13) (36, 37). Uobičajeno se dijele u dvije grupe s obzirom na to gdje prepoznaju svoje ligande. Tako ih dijelimo na: unutarstanične TLR (TLR3, 7-9, i 13) koji se nalaze na unutarstaničnim membranama i na TLR koji su na površinskoj membrani stanice (TLR1, 2, 4-6, 11) (Slika 1.1.) (38, 39). Oni koji su na površini stanice prepoznaju lipide, proteine i lipopeptide, a intracelularni TLR prepoznaju specifične virusne i bakterijske nukleinske kiseline (39). TLR4 prepoznaje lipopolisaharide (LPS), peptidoglikane kao specifične komponente gram (-) bakterija (40, 41), ali i neke endogene ligande koji su proizvod raspada stanica kao što su HSP, hijaluronan i fibronektin (42).



Slika 1.1. TLR smješteni na površini stanice i intracelularni TLR i njihovi ligandi (vlastita izrada slike - prilagođeno prema (43)).

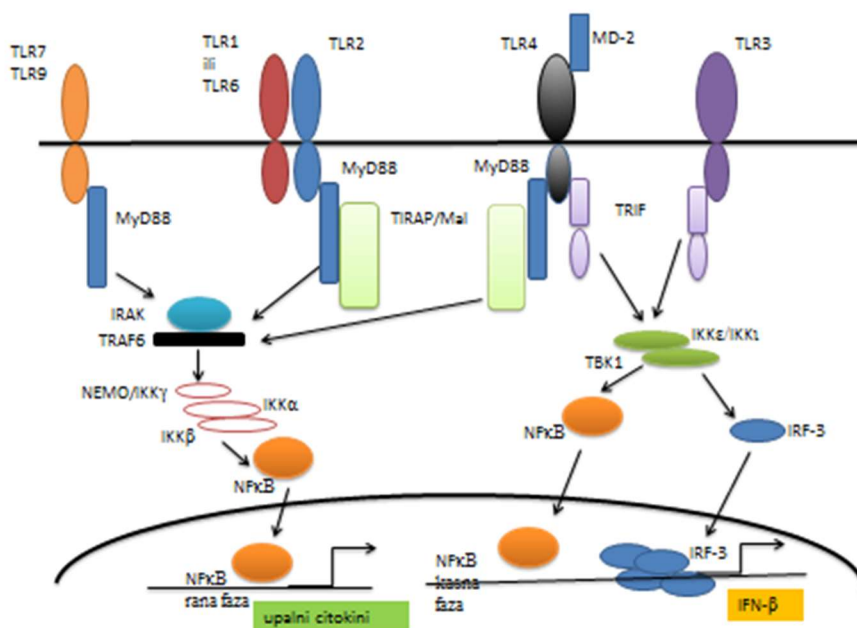
\*LPS-lipopolisaharid

Većina TLR-a su homodimeri, a TLR2 čini heterodimere najčešće s TLR1 i TLR6. Svi TLR imaju ekto-domenu na koju se vežu ligandi, transmembransku regiju i unutarstaničnu signalnu TIR domenu. Kako bi se ligandi vezali za TLR potrebne su i neke kostimulacijske molekule kao što su CD14 i LBP. Vezivanjem aktivacijskoga liganda za TLR nastupa njihova dimerizacija i posljedično tomu pokreće se aktivacijski unutarstanični signalni put. U prijenosu

signala sudjeluje pet adaptorskih molekula: MyD88, TIRAP, TRIF, TRAM i SARM koji negativizira učinke TRIF (44-47) i tri transkripcijska faktora (48). Postoje dva puta pobude TLR. MyD88-ovisan (znači da je MyD88 adaptorska molekula), koji je zajednički svim TLR, osim TLR3. Dovodi do nastanka prouupalnih citokina i kemokina kao što su IL-1, IL-6, IL-12, TGF $\beta$ , TNF $\alpha$  i dr. Drugi put pobude TLR je MyD88-neovisan i svojstven je samo za TLR3 i TLR4 (46). U ovom slučaju adaptorska molekula je TRIF (49). Iz navedenog proizlazi specifičnost vezana za TLR4, a to je da je to jedini TLR koji se pobuđuje i MyD88-ovisnim i MyD88-neovisnim putem. U tom kontekstu bitno je spomenuti kako, primjerice, do hipertrofije lijeve klijetke može doći na bilo koji od ta dva načina: kao posljedica angiotenzina II MyD88-neovisnim putem (50), a nakon infarkta miokarda dolazi MyD88-ovisnim putem (51) koji se aktivira oslobađanjem različitih signala oštećenja/opasnosti (DAMP) kao što su fragmenti hijaluronske kiseline, HSP, HMGB1 ili mitohondrijska DNA. Poznato je kako je upravo hipertrofija lijeve klijetke jedan od glavnih čimbenika rizika kardiovaskularnog morbiditeta i mortaliteta.

MyD88-ovisni TLR4 signalni put započinje na način da adaptorski protein TIRAP (od engl. Toll interleukin 1 receptor (TIR) domain containing adaptor protein) premosti TLR4 i MyD88 (52). MyD88 dalje prenosi signal na IRAK-kinaze 4, 2 i 1 (od engl. IL-1 receptor associated kinase), TRAF6 (od engl. TNF receptor associated factor 6) te TAB2 i TAB3 (od engl. TAK1 binding protein), koji potom aktiviraju TAK1 (od engl. TGF- $\beta$ -activated kinase 1). To dovodi do aktivacije transkripcijskog faktora NF- $\kappa$ B, ali i još nekih transkripcijskih faktora putem MAP kinaze (od engl. mitogen-activated protein kinase). Njihovom aktivacijom dolazi do sekrecije različitih prouupalnih citokina. TLR4 se potom unosi u stanicu endocitozom nakon čega slijedi sinteza interferona  $\beta$  (53, 54).

Ostali površinski TLR koriste samo adaptorski protein MyD88 te aktiviraju samo NF- $\kappa$ B i MAP-kinaze. Aktivacija TLR3 preko TRIF-a također može aktivirati NF- $\kappa$ B. Ostali unutarstanični TLR-i, TLR7, TLR8 i TLR9, koriste MyD88 i TRAF6 za aktivaciju NF- $\kappa$ B i sekreciju prouupalnih citokina, no ujedno i TRAF3, IRF7 i IRF8 (Slika 1.2) (55, 56).



Slika 1.2. Shematski prikaz (vlastita izrada sheme - prilagođeno prema (57)) MyD88-ovisnog i MyD88-neovisnog puta signalizacije.

\*IFN- $\beta$ : interferon  $\beta$ , †IKK  $\alpha, \beta, \gamma, \epsilon$ : kinaza inhibitora NF- $\kappa$ B  $\alpha, \beta, \gamma, \epsilon$ , ‡IRAK-1: kinaza vezana uz IL-1 receptor (od engl. IL-1 receptor-associated kinase), §IRF3: čimbenik regulacije interferona 3 (od engl. interferon regulatory factor 3), ||MD-2: koreceptor TLR4 (od engl. myeloid differentiation 2), ¶MyD88: protein primarno odgovoran za mijeloidno razlikovanje (od engl. myeloid differentiation primary response protein), \*\*NEMO: modulator NF $\kappa$ B (od engl. NF- $\kappa$ B essential modulator), ††NF $\kappa$ B: jezgryn čimbenik  $\kappa$ B (od engl. nuclear factor  $\kappa$ B), ‡‡TBK1: kinaza serin-treonin proteina (od engl. serine-threonine protein kinase), §§TIRAP/Mal: adaptorski protein koji sadrži TIR domenu (od engl. toll/interleukin-1 receptor domain-containing adapter protein/MyD88 adapter-like), ||TRAF: čimbenik vezan uz TNF (od engl. tumor necrosis factor (TNF) receptor associated factor), ¶¶TIRAP: adaptorski protein koji sadrži TIR domenu, (od engl. TIR domain-containing adaptor protein), \*\*\*TRIF: adaptorski protein koji sadrži TIR domenu i potiče interferon  $\beta$  (od engl. TIR domain-containing adaptor inducing interferon  $\beta$ ).

U biološkom i evolucijskom smislu način stanične signalizacije TLR je relativno jednostvan, čime je osigurana brza i učinkovita protuupalna reakcija organizma.

Već je ranije u tekstu spomenuto kako je arterijska hipertenzija primjer u kojem mogu nastati signali oštećenja/opasnosti tj. DAMPs (Tablica 1.2.). Tako nastali DAMPs predstavljaju tzv. signal opasnosti te kao agonisti TLR potiču imunosni odgovor (34, 35). Najviše istraživanja o ulozi TLR u hipertenziji se odnose na TLR4 (58-61).



Tablica 1.2. Neki od signala oštećenja/opasnosti (DAMP) koji su povišeni u hipertenziji i koji aktiviraju TLR2 i TLR4

| <b>DAMPs</b>        | <b>TLR</b> | <b>Referenca</b> |
|---------------------|------------|------------------|
| HSP 60              | 2, 4       | (62)             |
| Angiotenzin II      | 4          | (58)             |
| C-reaktivni protein | 4          | (63)             |
| Oksidirani LDL      | 4          | (64)             |
| HMGB-1              | 2, 4       | (65)             |
| Fibrinogen          | 4          | (66)             |
| Urična kiselina     | 2, 4       | (67)             |

\*HSP: protein toplinskog urušaja (od engl. heat shock protein), †LDL: lipoprotein velike gustoće (od engl. low-density lipoprotein), ‡HMBG1: skupina velike pokretljivosti (od engl. high-mobility group box 1)

Poznato je da glavni efektor reninskog sustava, angiotenzin II, ostvaruje svoj proupalni odgovor djelomično preko TLR4 (58). Angiotenzin II stimulira ekspresiju TLR4 i potiče sintezu TNF $\alpha$  u glatkim mišićnim stanicama krvnih žila štakora (58). Osim toga, Batista i suradnici su u svom istraživanju pokazali da angiotenzin II preko TLR4 pridonosi hipertenziji i disfunkciji endotela putem sinteze reaktivnih kisikovih spojeva (68). Na spontano hipertenzivnim štakorima, Bonfim i suradnici (59) dokazali su pojačanu ekspresiju TLR4 na stijenkama arterija te da anti-TLR4 antitijela već u roku 15 dana smanjuju tu ekspresiju. Nadalje, utvrđena je pojačana ekspresija TLR4 i na kardiomiocitima hipertenzivnih miševa (60). Također se pokazalo da TLR4 ima ulogu i u autonomnoj disfunkciji u uvjetima hipertenzije (69). Interesantno je također da renalna denervacija značajno smanjuje ekspresiju TLR4 u stanicama miokarda (70). Postoji još nekoliko novih studija koje povezuju TLR4 s hipertenzijom (71, 72).

Jedno od rijetkih kliničkih istraživanja dokazalo je pojačanu ekspresiju gena za TLR4 kod pacijenata sa hipertenzijom (73). U istom istraživanju je došlo do značajnog smanjenja ekspresije gena za TLR2 i TLR4, ali tek nakon intenzivnog snižavanja sistoličkog tlaka na

vrijednosti manje od 130 mmHg. Činjenica je da su dosadašnja istraživanja, vezano i za hipertenziju i za oštećenje ciljnih organa, pretežno ona na životinjskim modelima ili kulturama stanica što TLR čini posebno interesantnima.

#### **1.4. Stečeni imunološki sustav i hipertenzija**

Stečena imunost razvila se tek u kralježnjaka. Karakteritiza ju visoka specifičnost na određeni antigen, kao i sposobnost razvijanja memorije tako da pri ponovnom susretu s istim antigenom on biva znatno brže prepoznat i uklonjen. Specifični imunološki odgovor se ostvaruje preko T i B limfocita. Razlikujemo pet osnovnih podtipova limfocita: CD4<sup>+</sup> T limfociti, CD8<sup>+</sup> T limfociti,  $\gamma/\delta$  T limociti, B limfociti, NK-T stanice (od engl. natural killer). Limfocite koji su CD4<sup>+</sup> potom dijelimo na pomoćničke (od engl. helper) Th1, Th2 i Th17 limfocite i regulacijske T limfocite (Tregs). O svakima će biti nešto rečeno u nastavku teksta, kao i o njihovoj ulozi u AH.

Za prvi korak u pokretanju specifičnog imunosnog odgovora neophodne su imunopredočne stanice (APCs - antigen presenting cells), među kojima su najvažniji makrofagi, dendritičke stanice i B limfociti. One ujedno nazivaju i „profesionalnim“ imunopredočnim stanicama. Postoje još „neprofesionalne“ imunopredočne stanice, među kojima su i stanice endotela što je važno za kardiovaskularnu patologiju (74, 75). Imunopredočne stanice prerađuju strane proteine, npr. bakterija i virusa, u manje peptide i kao takve prezentiraju unutar glavnog kompleksa tkivne podudarnosti (MHC-major histocompatibility complex), točnije unutar razred II i I tkivne kompatibilnosti. Kompleks antigeničnog peptida i razreda MHC se nalazi na površini imunopredočne stanice i važan je za aktivaciju CD4<sup>+</sup> limfocita T. No, za potpunu aktivaciju limfocita T potrebne su još neke kostimulacijske molekule na antigenom aktiviranim imunopredočnim stanicama. Potom dolazi do klonskoga umnažanja limfocita T i posljedično do lučenja brojnih citokina koji određuju više obrazaca reagiranja Th1, Th2 i Th17 tip (Th, od engl. T helper cells). Razlikuju se po citokinima koje izlučuju, te tako ostvaruju različite izvršne imunosne reakcije. Suprotno CD4<sup>+</sup> limfocitima, CD8<sup>+</sup> limfociti koji se još nazivaju i citotoksičnim limfocitima, su aktivirani putem MHC I sustava i u konačnici dovode do stanične smrti.

Th-1 limfociti su glavni izvor interferona  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ), no u ovom tipu odgovora izlučuju se još i IL-2 i TNF $\alpha$ . Odgovorni su za imunost protiv virusa, bakterija i gljivica, te stvaranje „memorije” koja bitno skraćuje vrijeme reagiranja pri ponovnom susretu sa istim antigenom, kako je već ranije bilo spomenuto. Pretjerana aktivacija Th-1 limfocita na autoantigene u podlozi je alergijskih reakcija tip 4. To je tzv. odgođena ili kasna preosjetljivost. U bolesti kojima je u osnovi reakcija tipa IV ubrajamo kontaktni dermatitis, hipersenzitivni pneumonitis, odbacivanje alotransplantata, tuberkulozu te mnoge oblike preosjetljivosti na lijekove. Uloga Th1 limfocita u hipertenziji nije do kraja definirana, no zamijećeno je da su važni u kontekstu oštećenja bubrega u eksperimentalnim modelima AH (76).

Th-2 tip odgovora najvažniji je u borbi protiv parazita. Ovi limfociti izlučuju IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 i IL-13. Th-2 stanice dovode do pobude limfocita B, mastocita i eozinofila, te nastaju IgE protutijela, hipereozinofilija, luče se histamin, serotonin i leukotrieni. Pretjerana aktivacija ovih limfocita u podlozi je tipa I alergijskih reakcija, kao primjerice u atopijskim bolestima. Za sada nema čvrstih dokaza o povezanosti primarne AH i Th2 limfocita.

Interesantno je da IFN $\gamma$ , citokin Th1 odgovora, koči Th2 tip odgovora, dok IL-4, specifičan za Th2 tip odgovora, koči Th1 tip odgovora. Zanimljivo je reći da će, ukoliko nema podražaja za Th1 odgovor, prevladat Th2 odgovor koji je svojstven djeci, ali i „modernom“ načinu života i znači manju izloženost patogenima iz okoliša i pojačanu sklonost atopijskim bolestima.

Još su 1986. godine Mosmann i Coffman uveli koncept T helper limfocita tip 1 i tip 2, ovisno o tipu citokina koje su proizvodili u diferencijaciji nakon što bi bili stimulirani (77). Potom je došlo do otkrića citokina koji ne pripadaju ni Th1 niti Th2 limfocitima. Među njima je bio i IL-17 (78). Stanice koje proizvode IL-17, ali ne i IFN $\gamma$  ili IL4 su tada nazvane Th17 limfociti. To je bilo 2005.godine (79, 80). Od tada uvijek govorimo da imamo tri tipa pomoćničkih limfocita: Th1, Th2 i Th17 limfocite. O Th17 limfocitima će biti detaljnije govora u idućem poglavlju.

Suprotno od Th1, Th2 i Th17 limfocita koji imaju u najvećoj mjeri imaju proupalno djelovanje, Tregs suprimiraju imunološki odgovor. Citokini pomoću kojih ostvaruju svoje djelovanje su IL-10, IL-35, TGF $\beta$  (transformirajući čimbenik rasta  $\beta$ , od engl. transforming growth factor  $\beta$ ), te mehanizama kao što su direktna citoliza efektorskih T limfocita. Postoje brojni dokazi o preventivnom učinku Tregs na porast arterijskoga tlaka, oštećenja na ciljnim organima te na

infiltraciju ciljnih organa upalnim stanicama (20, 21, 81, 82). Također je ustanovljeno da angiotenzin II smanjuje učinkovitost i pomaže apoptozu Tregs (83).

$\gamma/\delta$  T limociti su posebna podskupina T limfocita koji imaju funkcionalno drugačije,  $\gamma/\delta$ , receptore u odnosu na  $CD4^+$  limfocite koji imaju  $\alpha/\beta$  receptore (84, 85). Ovi T limfociti u prepoznavanju antigena nisu ograničeni samo na MHC razred. Ove stanice mogu obavljati funkciju antigen-predočnih stanica i istovremeno lučiti  $IFN\gamma$  (86). Osim toga, imaju i sposobnost brzog lučenja proupalnih citokina među kojima i IL-17A (87). U jednom istraživanju na životinjskim modelima se pokazalo da angiotenzin II potiče sekreciju IL-17A porijekla iz  $\gamma/\delta$  T limocita (88) te da je prisutnost ovih limfocita neophodna za negativne učinke hipertenzije na srce.

$CD8^+$  T limfociti se kao efektorske stanice dalje mogu diferencirati u citotoksične limfocite koji luče perforin i granzim B i izravno vode u smrt stanice (89, 90) ili se diferenciraju prema limfocitima koji pomažu upalu preko citokina kao što su  $IFN\gamma$  i  $TNF\alpha$  (91). Nađeno je da je njihova razina povišena u bolesnika s arterijskom hipertenzijom te da imaju ulogu u oštećenju ciljnih organa (92), a na životinjskim modelima su se pokazali važnima odgovoru na angiotenzin II (93).

NK-T stanice su polimorfna grupa stanica koje imaju sposobnost lučenja  $IFN-\gamma$ ,  $TNF-\alpha$ , IL-4, IL-2, IL-13 i IL-21. One imaju svoje mjesto u razvoju autoimunih bolesti, no za sada nema dokaza za njihovu ulogu u AH.

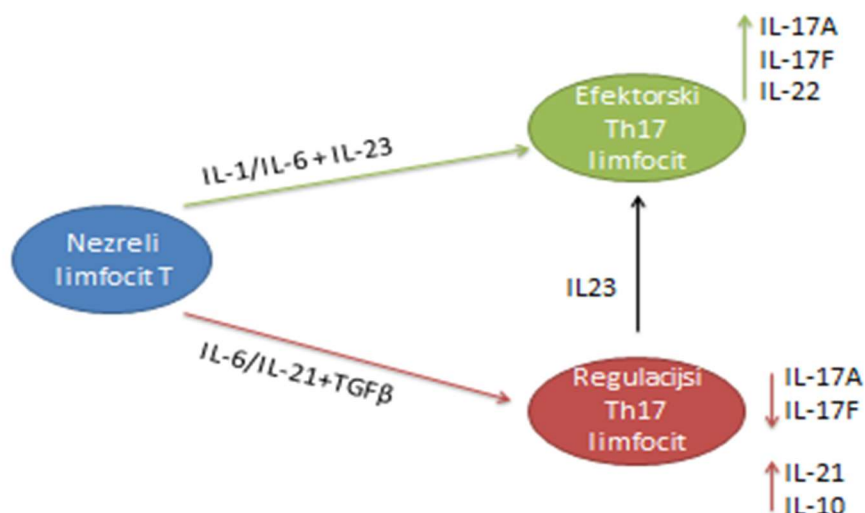
B-limfociti svojim antitijelima čine osnovu humoralne imunosti i bitni su u obrani od različitih ekstracelularnih antigena. Dokazi o njihovoj ulozi u hipertenziji su proturječni. Jedno od prvih istraživanja kojima se dokazao povišeni titar IgG antitijela u hipertenzivnih bolesnika datira još iz 1970. godine (94). Nakon toga bilo je još nekoliko sličnih istraživanja (95, 96). No, isto tako postoje rezultati koji dokazuju da su T limfociti, a ne B-limfociti, neophodni za hipertenzivnu reakciju na angiotenzin II (97). No, limfociti B su važni jer mogu biti izvor antitijela na angiotenzinski receptor tip I (AT1R), koji se ponašaju kao agonisti tog receptora i na taj način pridonose porastu tlaka (98, 99).

#### **1.4.1. Th17 limfociti i interleukin-17A**

Interleukin 17 i Th17 limfociti se ubrajaju u novija otkrića u imunologiji. Danas znamo za šest razreda IL-17 (A-F), a najbolje je istražen IL-17A, te kada se govori o IL-17, danas se podrazumijeva da se misli na IL-17A. Najvećim dijelom je porijeklom iz Th17 limfocita, no može se stvarati i u neutrofilima (100), CD8<sup>+</sup> stanicama (101),  $\gamma/\lambda$  T limociti (87), NK stanicama (102) i dendritičkim stanicama (103). Osim s arterijskom hipertenzijom, povezuje ga se također s bolestima kao što su reumatoidni artritis (104), psorijaza (105), astma (106, 107), upalne bolest crijeva (108), a povišen je i kardiovaskularnim bolestima (109-111). Također treba napomenuti da su bolesti poput reumatoidnog artritisa ili psorijaze jako često udružene s visokim tlakom (112, 113). Poznato je i da monoklonalna IL-17A antitijela i antitijela na receptor za IL-17A imaju svoje mjesto u liječenju psorijaze (114, 115).

Th17 limfociti dozrijevaju uz pomoć TGF $\beta$  + IL-6/21 te IL-23 + IL6/IL-1, a suprotan učinak imaju IFN $\gamma$ , IL12 i IL18 (116-118). Važni su na mukoznim i epitelnim površinama (119-121) te u obrani od gram pozitivnih i gram negativnih bakterija, borelija, tuberkuloze, gljivičnih infekcija (122-126) te u HIV pozitivnih bolesnika (127). Osim IL-17A, izvor su još i IL-17F, IL-21 i IL-22. IFN $\gamma$  i IL-4, IL-12 imaju negativnu ulogu u regulaciji ovog načina reagiranja (128). Zanimljivo je za spomenuti da signali koji potiču dozrijevanje Th17 limfocita istovremeno koče sintezu Tregs i obrnuto (129).

Ovisno o tome dozrijevaju li ovi limfociti uz pomoć TGF $\beta$  + IL-6/21 ili IL-23 + IL6, Th17 limfociti se mogu dalje diferencirati prema efektorsim (proupalnim) ili regulacijskim (protuupalnim) stanicama (130) (Slika 1.4.). Smatra se da u diferencijaciji prema efektorskim Th stanicama presudnu ulogu ima IL-23 (131). Tregs17 između ostalog, kontroliraju proupalne procese koji se događaju upravo preko efektorskih Th17 (132).



Slika 1.4. Shematski prikaz diferencijacije limfocita T prema regulacijskim i efektorskim Th17 limfocitima (vlastita izrada sheme - prilagođeno prema (133))

Od kada su otkriveni (79, 80), 2005.g godine, Th17 limfociti i IL-17 ubrzo su pobudili interes istraživača u smjeru arterijske hipertenzije. Jedno od najznačajnijih istraživanja napravili su Madhur i suradnici (134). Oni su dokazali da angiotenzin II stimulira sintezu IL-17 u Th17 limfocitima, da je IL-17 neophodan za održavanje stanja povišenoga tlaka, da pridonosi vaskularnoj disfunkciji te da mijenja ekspresiju adhezijskih molekula i pridonosi infiltraciji T limfocita u tkivo adventicije i periadventicije aorte. Na kraju navedenog istraživanja, provedena je i analiza razine IL-17 u serumu bolesnika sa šećernom bolesti tip 2 koji imaju/ili nemaju i pridruženu hipertenziju. Pokazalo se da je hipertenzija snažno povezana s povišenom serumskom razinom IL17. Rezultati ovog istraživanja smatraju se za prvi „pravi“ dokaz o važnosti Th17 limfocita i IL-17 u AH. Nedavno je nađeno da je IL-17A značajno povišen čak i u grupi bolesnika s prehipertenzijom u odnosu na ispitanike s urednim vrijednostima AT (135) te također i u hipertenzivnih bolesnika sa asimptomatskim oštećenjem ciljnih organa (136). Interleukin 17A i angiotenzin II povezani su i sa refraktornom hipertenzijom u bolesnika na hemodijalizi, te su IL-17A i AII u istom istraživanju bili u pozitivnoj korelaciji (137). Na životinjskim modelima pokazalo se da anti-IL-17 antitijela u značajnoj mjeri pridonose padu AT te smanjuju odlaganje kolagena na ciljnim organima (138).

No, uloga Th17 limocita i IL-17 nije sasvim jednoznačna. Pokazalo se da IL-17 i IL-23 mogu imati i protektivni učinak na oštećenje bubrega i proteinuriju koji su se razvili kao rezultat hipertenzije (139), te da IL-17A može smanjivati oksidativni stres u endotelnim stanicama (140). Ovakvi se oprečni rezultati za sada ne mogu u potpunosti objasniti, ali je moguće da broj, vrsta i lokalizacija stanica koje su izvor IL-17 u određenom trenutku usmjeravaju njegove učinke u pro/antiupalnom smjeru.

## **1.5. Neuroimunologija i hipertenzija**

Uzimajući u obzir kompleksnost kardiovaskularnih bolesti, istraživanja su s vremenom neminovno vodila prema središnjem i perifernom živčanom sustavu. Središnji živčani sustav (SŽS) može utjecati na imunološki status na periferiji putem neurohumoralnih mehanizama, uključujući i autonomni živčani sustav (141), a do danas je i više nego dobro poznata važna uloga simpatičkog živčanog sustava u patofiziologiji AH (142-145).

U mozgu nalazimo receptore renin-angiotenzinskog sustava koji upravo preko simpatikusa, koji inervira primarne i sekundarne limfoidne organe, može sudjelovati u imunološkoj kaskadi (146). Suprotno tome, parasimpatikus suprimira imunološku reakciju preko nikotinskih  $\alpha 7$  (acetilkolinskih) receptora (141). Potrebno je naglasiti da angiotenzin II zapravo ne može proći krvno-moždanu barijeru. Ipak, na jednom mjestu te barijere nema – a to je subfornikalni organ koji je povezan s paraventrikularnom jezgrom (PVN) (147). Ova jezgra je jedno od najvažnijih mjesta u mozgu za regulaciju kardiovaskularnog sustava, te angiotenzin II (AII) na taj način ostvaruje svoje učinke.

Zbog svoje važne uloge u kontroli kardiovaskularnog sustava, PVN je bila predmet dodatnih istraživanja. U eksperimentalnim modelima hipertenzije dokazana je u više navrata povezanost AH i povišene razine proupalnih citokina upravo u toj jezgri (148, 149). Suprotno tome, blokada TNF $\alpha$  i inhibicija NF- $\kappa$ B na istom jestu vode snižavanju AT, smanjenju hipertrofije srca i aktivnosti simpatikusa unutar bubrega (148, 150, 151).

Proučavani su također i TLR4 u mozgu, za koje je još 2007. godine ustanovljeno da su eksprimirani u SŽS (152). Nađeno je da AII povećava ekspresiju TLR4 u PVN (153) te da

TLR4 signalni put u PVN ima ulogu u patofiziologiji AH, ali isto tako i remodelaciji srca kao njene posljedice (153). Blokada TLR4 u PVN smanjuje razinu proupalnih citokina u SŽS ( $\text{TNF}\alpha$ ,  $\text{NF-}\kappa\text{B}$ ,  $\text{IL-1}\beta$ ), u plazmi smanjuje noradrenalin i HMGB1, a povećava razinu IL-10 (69, 153). Nadalje, blokada TLR4 u PVN snižava arterijski tlak, a povoljno djeluje na hipertrofiju srca kao posljedicu AH (69, 153). To možemo smatrati važnim s obzirom da takva remodelacija srca s vremenom vodi ka srčanom zatajenju (154). Za PVN je još dokazano da se preko njenih mineralokortikoidnih i AT1 receptora također diže aktivnost simpatikusa te ostvaruje negativan učinak na funkciju srca (155).

Dodatno su još istraživane i mikroglija stanice koje također imaju svoju ulogu u aktivaciji prirođene imunosti i simpatikusa (156), odnosno njihovom inhibicijom smanjuje se aktivnost simpatikusa, periferna upala i AT (157, 158).

Svi navedeni podaci govore da se i središnji i periferni živčani sustav preko imunskog odgovora nalaze u podlozi AH. Međutim, sve navedeno su eksperimentalni modeli hipertenzije. Preostaje nam tek da sačekamo u budućnosti i vidimo koliko će navedene spoznaje pomoći u iznalaženju mogućih novih lijekova koji bi pomogli našim pacijentima.

## **1.6. Sažetak dosadašnjih spoznaja**

Dosadašnje spoznaje o arterijskoj hipertenziji i imunosti trenutno su sažete na slijedeći način (Slika 1.5.). Prvo dolazi do blagog porasta arterijskoga tlaka. Do toga može doći primjerice djelovanjem angiotenzina II, aldosterona, endotelina, zbog prevelikog unosa soli, genetske predispozicije ili podražaja simpatikusa. Taj blagi porast tlaka, koji bi se mogao svrstati u prehipertenziju, dovodi do prvih oštećenja na endotelu krvnih žila i u bubrezima. Na taj način stvaraju se DAMPs. Oni aktiviraju prirođeni imunološki sustav prvenstveno TLR, M1 makrofage i B-limfocite. Aktivirane stanice prirođene imunosti mogu potom same lučiti čitav niz proupalnih citokina i istovremeno mogu aktivirati stanice specifične imunosti. Također, B-limfociti su izvor autoantitijela na angiotenzinski receptor tip 1, te na taj način pridonose porastu AT. U daljnjem tijeku događaja, aktivirani T-limfociti predstavljaju glavni izvor IL-17A te nekih drugih proupalnih citokina i na taj način održavaju i pojačavaju stanje upale. Treba



spomenuti da oni prvi hipertenzivni podražaji (angiotenzin II, aldosteron, endotelin, simpatikus itd) mogu i sami aktivirati T-limfocite. Ukoliko ovo stanje oksidativnog stresa i upale traje dovoljno dugo, nastat će i morfološke i funkcionalne promjene na ciljnim organima (krvožilni sustav i bubrezi) što će samo pogodovati daljnjem rastu arterijskoga tlaka zbog čega se stvaraju DAMPs. Na taj način zatvara se “začarani krug” upale i hipertenzije.

Naravno da organizam ima i različite upalostatičke mehanizme. Oni se ostvaruju putem, primjerice, M2 makrofaga i dendritičkih stanica tip 2, te uz pomoć proteaznih inhibitora, upalostatički citokini kao IL-10 i TGFβ, protucitokina, protuendotoksina, antioksidativnog sustava unutar same stanice, aktiviranjem programirane smrti stanice ili kočenjem ključnih staničnih biokemijskih točaka.

Svrha imunološkog procesa je “izlječenje” ili bolje rečeno uklanjanje uzročnika koji je doveo do oštećenja tkiva. Ukoliko do toga ne dođe, upalni će proces poprimiti oblik kronične upale koju na neki način možemo smatrati neodgovarajućim odgovorom imunološkog sustava.



imaju nereguliranu primarnu AH, u odnosu na one pacijente čija je AH dobro regulirana. Takvih podataka u literaturi do sada nema. Poznato je da je AT adekvatno reguliran tek u manjeg dijela hipertenzivnih pacijenata. Ta činjenica i novi dokazi o vezi imunosti i AH, ukazuje nam na mogućnost novih vrsta terapije u budućnosti. Očekujemo se će ovo istraživanje donijeti nove spoznaje o pobudi imunosti u hipertoničara, te dati vrijedne podatke o međuodnosu prirođenog i stečenog imunološkog sustava s arterijskom hipertenzijom, njezinom kontrolom i utjecaju koji na imunološki status može imati izbor antihipertenzivne terapije.

## **2. HIPOTEZA**

Hipoteza je ovog istraživanja bila da su ekspresija TLR4 na monocitima i razina IL-17A povišene su u pacijenata sa arterijskom hipertenzijom. Antihipertenzivna terapija modulira aktivnost imunološkog sustava.

### **3. CILJ ISTRAŽIVANJA**

Specifični ciljevi istraživanja:

1. kvantificirati ekspresiju TLR4 na monocitima iz periferne krvi te razinu IL-17A u serumu kod svih ispitanika
2. odrediti postoji li povezanost između ekspresije TLR4 i razine IL-17A
3. odrediti utječe li antihipertenzivna terapija, tj. vrsta korištenog razreda antihipertenziva na ekspresiju TLR4 i razinu IL-17A
4. odrediti postoji li povezanost ekspresije TLR4 ili razine IL-17A i čimbenika ateroskleroze (dob, spol, tjelesna težina, pušenje, lipidogram) kod ispitanika
5. odrediti postoji li povezanost ekspresije TLR4 ili razine IL-17A sa dužinom trajanja hipertenzije.

#### **4. ISPITANICI I METODE**

## **4.1. Ustroj studije**

Istraživanje je bilo koncipirano kao presječna usporedna studija (observational cross-sectional case control study). Provedeno je na Zavodu za nefrologiju, Klinike za internu medicinu, Kliničkoga bolničkoga centra Osijek u razdoblju od svibnja 2012. godine do studenog 2015. godine.

## **4.2. Ispitanici**

Ukupan broj ispitanika bio je 105, dobi 20-60 godina. Ispitanici su podijeljeni u dvije skupine. Prvu skupinu činila su 52 ispitanika s nereguliranom arterijskom hipertenzijom, a drugu, kontrolnu, skupinu su činila su 53 ispitanika s dobro reguliranim vrijednostima arterijskoga tlaka. Povišenim tlakom smatrao se tlak veći od 140/90 mmHg.

Kriteriji za uključivanje ispitanika u istraživanje: u istraživanje su mogli biti uključeni pacijenti s novootkrivenom ili nereguliranom arterijskom hipertenzijom. Povišenim, odnosno nereguliranim arterijskim tlakom smatrao se tlak veći od 140/90 mmHg. Isključni kriteriji: kronična bubrežna bolest (eGFR -CKD-Epi < 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>), sekundarna hipertenzija, bolesnici s hipertenzijom na terapiji statinima ili bilo kakvim imunosupresivima, diureticima Henleove petlje, spironolaktonom, nestaroidnim antireumaticima te oni koji boluju ili se liječe od kroničnih upalnih bolesti kao što su šećerna bolest, reumatoidni artritis, psorijaza, upalne bolesti probavnog trakta ili autoimunih bolesti, trudnoća, maligna bolest, preboljeli infarkt miokarda ili moždani udar, febrilno stanje bilo koje etiologije te prisustvo kliničkih ili laboratorijskih znakova koji govore za akutno upalno zbivanje. Kontrolni su ispitanici bili: bolesnici sa dobro reguliranom arterijskom hipertenzijom, a koji su zadovoljili sve isključne kriterije. Svi ispitanici potpisali su informirani pristanak za sudjelovanje u studiji.

## **4.3. Metode**

Svim ispitanicima uzeli su se kompletni anamnestički podaci te im je učinjen fizikalni pregled.

Uzeti su podaci o:

1. osnovnim obilježjima bolesnika: dob, spol, tjelesna masa, tjelesna visina, opseg struka i bokova
2. komorbiditetima
3. navikama: pušenje, alkohol
4. vrsti, dozi i načinu primjene lijekova koje ispitanik uzima
5. osnovnim laboratorijskim nalazima: crvene krvne slike, leukocitima, kolesterolu, lipoproteinu velike gustoće (HDL), lipoproteinu male gustoće (LDL), trigliceridima, glukozu u plazmi, urei, kreatininu, CRP-u, uratima i pregled urina,
6. nalazima kojima se isključuje sekundarna arterijska hipertenzija: aldosteronu u plazmi, reninskoj aktivnosti plazme, adrenokortikotropnom hormonu (ACTH), kortizolu, kortizolu u 24 satnom urinu, metanefrinu i normetanefrinu u 24 satnom urinu.

Prilikom isključivanja bolesnika sa sekundarnom arterijskom hipertenzijom korištene su i slikovne metode (UZV, CT, MRI, dinamička scintigrafija bubrega). Bubrežna funkcija se procjenjivala iz nalaza klirensa endogenog kreatinina i proteinurije, te korištenjem CKD-Epi formule za izračun glomerularne filtracije.

Mjerenje tlaka provodilo se ambulantno na obje ruke, 3 puta, u sjedećem položaju. Kao relevantna vrijednost uzeta je srednja vrijednost na ruci gdje su bile izmjerene više vrijednosti tlaka. Anamnezom se morao utvrditi višekratno izmjeren povišen tlak, odnosno u kontrolnoj grupi uredne vrijednosti arterijskog tlaka. Povišenim tlakom smatrao se onaj veći od 140/90mmHg. Mjerenja tlaka obavljala su se Omron M6 Comfort nadlaktičnim tlakomjerom.

Svakom se ispitaniku uzeo uzorak venske krvi za laboratorijsku dijagnostiku iz koje se određivala razina IL-17A ELISA metodom i ekspresija TLR4 na monocitima iz periferne krvi protočnom citometrijom. Protočna citometrija radila se isti dan, dok su uzorci krvi za određivanje razine IL-17 A centrifugirani i pohranjeni na -20° C sve do trenutka kada se radio ELISA test. Rezultati za TLR4 su izraženi kao postotak (udio monocita CD14+ koji su pozitivni na TLR4) i kao intenzitet izražaja biljega – MFI (od engl. mean fluorescence intensity). Rezultati za arzinu IL-17A u serumu su izraženi kao pg/ml. Laboratorijska dijagnostika učinjena je na Zavodu za kliničku laboratorijsku dijagnostiku, Kliničkog bolničkog

centra Osijek, te jednom dijelom na Kliničkom zavodu za nuklearnu medicinu i zaštitu od zračenja, Kliničkog bolničkog centra Osijek.

Za analiza razine interleukina 17A korišten je komercijalni test tvrtke eBioscience. Rezultati su dobiveni mjerenjem na dijagnostičkom uređaju MRX, DYNATECH LABORETORIES. Testni filter bio je na 450nm.

Uzorak za protočnu citometriju bio je puna krv, vađena s antikoagulansom (EDTA). Uzorci su pripremljeni za analizu na protočnom citometru metodom izravne imunofluorescencije uz reagens za liziranje eritrocita. Koristila su se monoklonska antitijela tvrtke eBioscience i BD Biosciences Pharmingen gama1/gama2, TLR4/CD14, konjugirana sa fluorescein isotiocijanatom (FITC), odnosno fikoeritriinom (PE). U postupak se uzimalo 10 µl konjugiranog monoklonskog antitijela i 100 µl pune krvi. Nakon 20 min. inkubacije, na sobnoj temperaturi u mraku, lizirani su eritrociti i suvišak antitijela ispran fosfatnim puferom.

Intenzitet fluorescencije membranskih biljega mjeren je na protočnom citometru FACSCalibur. Kroz stroj se propušta 10000 stanica po uzorku, a rezultati su analizirani programom CELLQuest. U klasičnom grafičkom prikazu veličine u odnosu na zrnatost stanica (točkasti dijagram, od engl. dot plot ) postavljena je ograda (gate) na populaciju monocita. Daljnjom analizom potvrđeno je da se radi o monocitima na osnovu njihove pozitivnosti na CD14 u rasponu od 95-100 %. Rezultati su izraženi u postotku (udio monocita (CD14+) pozitivnih na TLR4 ) i kao srednji intenzitet ekspresije biljega MFI ( od engl. mean fluorescence intensity). Točnost mjerenja stroja provjerena je pomoću standardnih optičkih kuglica-CALIBRITE 3 (BD Biosciences, SAD), a uz svaki uzorak korištena je negativna izotipska kontrola.

#### **4.4. Statističke metode**

Kategorijski podatci predstavljeni su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Numerički podaci opisani su medijanom i granicama interkvartilnog raspona. Razlike kategorijskih varijabli



testirane su Hi-kvadrat testom, a po potrebi Fisherovim egzaktnim testom. Normalnost raspodjele numeričkih varijabli testirana je Shapiro-Wilkovim testom. Razlike normalno raspodijeljenih numeričkih varijabli između dviju nezavisnih skupina testirane su Mann-Whitneyevim U testom. Razlike normalno raspodijeljenih numeričkih varijabli između 3 i više nezavisnih skupina testirane su, zbog odstupanja od normalne raspodjele, Kruskal-Wallisovim testom. Povezanost numeričkih varijabli ocijenjena je Spearmanovim koeficijentom korelacije  $\rho$  (rho).

Sve P vrijednosti su dvostrane. Razina značajnosti postavljena je na  $\alpha = 0,05$ . Za statističku analizu korišten je statistički program MedCalc (inačica 16.2.0, MedCalc Software bvba, Ostend, Belgija).

## **5. REZULTATI**

### **5.1. Osnovna obilježja ispitanika**

Istraživanje je provedeno na 105 ispitanika, od kojih je 53 (50,2 %) sa reguliranim, a 52 (49,5 %) s nereguliranim Arterijskim tlakom. Zastupljenije su žene, njih 63 (60 %) u odnosu na muškarce, od kojih značajno više, njih 37 (69,8 %) iz skupine sa dobro reguliranim AT (Fisherov egzakti test,  $p=0,04$ ). (Tablica 5.1).

Tablica 5.1. Raspodjela ispitanika prema spolu i regulaciji tlaka

|          | Broj (%) ispitanika prema regulaciji arterijskoga tlaka |                   |           | P*          |
|----------|---------------------------------------------------------|-------------------|-----------|-------------|
|          | Regulirani tlak                                         | Neregulirani tlak | Ukupno    |             |
| Muškarci | 16 (30,2)                                               | 26 (50)           | 42 (40)   | <b>0,04</b> |
| Žene     | 37 (69,8)                                               | 26 (50)           | 63 (60)   |             |
| Ukupno   | 53 (100)                                                | 52 (100)          | 105 (100) |             |

\*Fisherov egzakti test

S obzirom na dob značajno su stariji ispitanici s nereguliranim AT, srednje dobi 51 godinu (interkvartilnog raspona 42 do 58,8 godina) (Mann Whitney U test,  $P = 0,01$ ). U visini, težini i indeksu tjelesne mase (ITM) nema značajnih razlika prema skupinama, srednja visina (TV) je 169 cm (interkvartilnog raspon 162 cm do 176 cm), srednja tjelesna masa (TM) 82 kg (interkvartilnog raspona 70 kg do 95 kg), a srednja vrijednost ITM je 28,96 kg/m<sup>2</sup> (interkvartilnog raspona 25,08 kg/m<sup>2</sup> do 32,66 kg/m<sup>2</sup>).

Značajno je veći opseg struka kod ispitanika nereguliranoga AT, srednje vrijednosti 97 cm (interkvartilnog raspona 86,3 cm do 110 cm) (Mann Whitney U test,  $P = 0,03$ ), ali kod opsega bokova i omjera struk/ bokovi nema značajne razlike.

Srednje trajanje bolesti je 2 godine (interkvartilnog raspona 0,3 do 5,7 godina) podjednako u obje skupine (Tablica 5.2).

Tablica 5.2. Osnovne mjere sredine i raspršenja parametara po skupinama ispitanika

|                                                  | Medijan (interkvartilni raspon) |                       |                          | P*          |
|--------------------------------------------------|---------------------------------|-----------------------|--------------------------|-------------|
|                                                  | Regulirani<br>tlak              | Neregulirani<br>tlak  | Ukupno                   |             |
| Dob ispitanika                                   | 45<br>(40,5 - 51)               | 51<br>(42 - 58,8)     | 48<br>(41 - 54,5)        | <b>0,01</b> |
| Trajanje bolesti (godine)                        | 2<br>(1 - 5)                    | 1<br>(0,16 - 7)       | 2<br>(0,33 - 5,7)        | 0,16        |
| Tjelesna visina (cm)                             | 167<br>(161 - 175)              | 170<br>(163 - 178)    | 169<br>(162 - 176)       | 0,11        |
| Tjelesna masa (kg)                               | 79<br>(68 - 91)                 | 86<br>(75,13 - 98,75) | 82<br>(70 - 95)          | 0,11        |
| Indeks tjelesne mase<br>ITM (kg/m <sup>2</sup> ) | 28,96<br>(25,39 - 31,64)        | 29<br>(24,89 - 33,63) | 28,96<br>(25,08 - 32,66) | 0,54        |
| Opseg struka (cm)                                | 93<br>(81 - 100,5)              | 97<br>(86,25 - 110)   | 94<br>(85,5 - 105)       | <b>0,03</b> |
| Opseg bokova (cm)                                | 104<br>(99 - 113)               | 105<br>(100 - 116)    | 105<br>(99 - 113)        | 0,23        |
| Omjer struk/ bokovi                              | 0,89<br>(0,81 - 0,94)           | 0,9<br>(0,84 - 0,97)  | 0,89<br>(0,82 - 0,96)    | 0,13        |

\*Mann Whitney U test

U procjeni rizika koristi i omjer opsega struka i bokova, koji se za muškarce treba kretati oko 0,9, a za žene oko 0,7. Povišene vrijednosti (0,95 za muškarce, a 0,85 za žene) ukazuju na povećan rizik od kardiovaskularnih bolesti.

U skupini ispitanika s reguliranim AT žene imaju srednji omjer struk/bokovi 0,83 (interkvartilnog raspona 0,79 do 0,90) u rasponu od 0,68 do 1,04. Muškarci reguliranoga AT imaju srednji omjer struk/bokovi 0,94 (interkvartilnog raspona 0,89 do 1,01) u rasponu od 0,75

do 1,10. Žene u skupini s nereguliranim AT imaju srednji omjer struk/bokovi 0,87 (interkvartilnog raspona 0,82 do 0,91) u rasponu od 0,68 do 1, a muškarcima je srednji omjer struk/bokovi ove skupine 0,95 (interkvartilnog raspona 0,89 do 1) u rasponu od najmanje 0,68 do najviše 1.

Prema vrijednostima indeksa tjelesne mase, 24 (22,9 %) ispitanika je normalne TM, prekomjernu TM imaju 42 (40 %) ispitanika, dok je pretilih 37 (35,2 %) ispitanika (Tablica 5.3).

Tablica 5.3. Raspodjela ispitanika prema tjelesnoj masi i skupinama

| Indeks tjelesne mase (ITM)                     | Broj (%) ispitanika |                   |           | P*   |
|------------------------------------------------|---------------------|-------------------|-----------|------|
|                                                | Regulirani tlak     | Neregulirani tlak | Ukupno    |      |
| Normalna tjelesna masa<br>[18,5 ≤ ITM ≤ 24,9]  | 10 (19,6)           | 14 (26,9)         | 24 (23,3) | 0,59 |
| Prekomjerna tjelesna masa<br>[25 ≤ ITM ≤ 29,9] | 23 (45,1)           | 19 (36,5)         | 42 (40,8) |      |
| Pretili [ITM ≥ 30]                             | 18 (35,3)           | 19 (36,5)         | 37 (35,9) |      |
| Ukupno                                         | 51 (100)            | 52 (100)          | 103 (100) |      |

\* $\chi^2$  test

Od rizičnih čimbenika, puši cigarete 26 (49,5 %) ispitanika, 15 (28,3 %) iz skupine s reguliranim i 11 (21,2 %) ispitanika iz skupine s nereguliranim AT. Alkohol konzumira 2 (3,8 %) ispitanika iz skupine nereguliranoga AT.

U skupini s reguliranim AT srednja vrijednost tlaka desne ruke je 130/85 mmHg, lijevog 125/84 mmHg dok su u skupini s nereguliranim AT vrijednosti značajno više (Mann Whitney U test,  $P < 0,001$ ) (Tablica 5.4).

Tablica 5.4. Vrijednosti sistoličkoga i dijastoličkoga tlaka prema ruci i skupinama

|                   | Medijan (interkvartilni raspon) |                       |                     | P*     |
|-------------------|---------------------------------|-----------------------|---------------------|--------|
|                   | Regulirani<br>tlak              | Neregulirani<br>tlak  | Ukupno              |        |
| Desna ruka        |                                 |                       |                     |        |
| sistolički tlak   | 130<br>(120 - 134,5)            | 155,5<br>(150 - 165)  | 115<br>(100 - 130)  | <0,001 |
| dijastolički tlak | 85<br>(80 - 90)                 | 100<br>(95 - 108,5)   | 100<br>(85 - 155,5) | <0,001 |
| Lijeva ruka       |                                 |                       |                     |        |
| sistolički tlak   | 125<br>(120 - 131,5)            | 155<br>(148,25 - 165) | 140<br>(125 - 155)  | <0,001 |
| dijastolički tlak | 84<br>(79 - 90)                 | 100<br>(91,3 - 109,8) | 90<br>(83,5 - 100)  | <0,001 |

\*Mann Whitney U test

Svi ispitanici imaju normalan nalaz upalnih parametara, sedimentacije i leukocita, i ostalih vrijednosti crvene krvne slike.

Uredan nalaz urina je kod 97 (91,5 %) ispitanika, njih 3 (2,8 %) u nalazu ima eritrocite i leukocite, a jedan (0,9 %) ispitanik ima samo leukocite. Ispitanici s nereguliranim AT imaju značajno više vrijednosti kolesterola, 5,8 mmol/L (interkvartilnog raspona 5 mmol/L do 6,6 mmol/L) (Mann Whitney U test,  $P = 0,006$ ), i lipoproteina visoke gustoće (HDL) 3,8 mmol/L (interkvartilnog raspona 3,01 mmol/L do 4,34 mmol/L). Srednja vrijednost glukoze u krvi je 5,1 mol/L (interkvartilnog raspona 4,8 mol/L do 5,58 mol/L) podjednako u obje skupine.

Jetreni enzim alanin aminotransferaza (ALT) značajno je viši u skupini ispitanika sa nereguliranim AT sa srednjom vrijednosti 22 U/L (interkvartilnog raspona 19 U/L do 26,5 U/L) (Mann Whitney U test,  $P = 0,008$ ), no to je još uvijek unutar referentnih laboratorijskih vrijednosti. Vrijednosti kreatinina značajno su više u skupini ispitanika sa nereguliranim AT,

77  $\mu\text{mol/L}$  (Mann Whitney U test,  $P = 0,003$ ), dok je klirens kreatinina značajno viši kod ispitanika s reguliranim AT (Mann Whitney U test,  $P = 0,01$ ) (Tablica 5.5).

Tablica 5.5. Vrijednosti lipidograma, GUK-a, jetrenih enzima i parametara bubrežne funkcije prema skupinama

|  | Medijan (interkvartilni raspon) |                      |        | P* |
|--|---------------------------------|----------------------|--------|----|
|  | Regulirani<br>tlak              | Neregulirani<br>tlak | Ukupno |    |
|  |                                 |                      |        |    |

| <b>Lipidni status</b>                          |                      |                       |                       |              |
|------------------------------------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|--------------|
| Kolesterol [mmol/ L]                           | 5,2<br>(4,52 - 5,92) | 5,8<br>(5 - 6,6)      | 5,55<br>(4,78 - 6,18) | <b>0,006</b> |
| HDL [mmol/ L]                                  | 3,5<br>(2,86 - 3,9)  | 3,8<br>(3,01 - 4,34)  | 3,6<br>(2,99 - 4,04)  | <b>0,03</b>  |
| LDL [mmol/ L]                                  | 1,3<br>(1,1 - 1,4)   | 1,29<br>(1,09 - 1,44) | 1,3<br>(1,1 - 1,41)   | 0,71         |
| Trigliceridi [mmol/ L]                         | 1,3<br>(0,95 - 2,09) | 1,73<br>(1,29 - 2,5)  | 1,6<br>(1,02 - 2,13)  | 0,07         |
| <b>GUK</b> - glukoza u krvi [mol/L]            | 5,1<br>(4,8 - 5,5)   | 5,1<br>(4,8 - 5,7)    | 5,1<br>(4,8 - 5,58)   | 0,56         |
| <b>Jetreni enzimi</b>                          |                      |                       |                       |              |
| <b>AST</b> - Aspartat<br>aminotrasferaza [U/L] | 20<br>(18 - 27)      | 22<br>(19 - 26,5)     | 21<br>(18 - 26,75)    | 0,23         |
| <b>ALT</b> - Alanin<br>aminotransferaza [U/L]  | 19<br>(15 - 28)      | 24,5<br>(20 - 30,75)  | 22<br>(17 - 28)       | <b>0,008</b> |
| <b>GGT</b>                                     | 20<br>(14 - 30)      | 25<br>(18,25 - 42)    | 22<br>(18 - 39)       | 0,27         |
| <b>Bubrežna funkcija</b>                       |                      |                       |                       |              |
| Kreatinin [μmol/ L]                            | 66<br>(60 - 74)      | 77<br>(66 - 81,5)     | 70<br>(62 - 80)       | <b>0,003</b> |
| Klirens kreatinina                             | 103<br>(94 - 111)    | 96<br>(86,5 - 106,5)  | 100<br>(90 - 109)     | <b>0,01</b>  |

\*Mann Whitney U test

Inhibitore angiotenzin konvertirajućeg enzima (ACE inhibitore) koristi 66 (63,5 %) ispitanika, tiazidski diuretik 33 (31,7 %), kalcijске antagoniste 58 (55,8 %) ispitanika, beta blokatore 23 (22,1 %) ispitanika, blokatore angiotenzinskih receptora (ARB) 10 (9,6%) ispitanika, a centralne antiadrenergike 11 (10,6 %) ispitanika, bez značajne razlike u broju ispitanika prema skupinama (Tablica 5.6).

Tablica 5.6. Raspodjela ispitanika prema terapiji koju koriste i skupinama

| Terapija                 | Broj (%) ispitanika |                      |           | P*   |
|--------------------------|---------------------|----------------------|-----------|------|
|                          | Regulirani<br>tlak  | Neregulirani<br>tlak | Ukupno    |      |
| ACE inhibitori           | 38 (71,7)           | 28 (54,9)            | 66 (63,5) | 0,10 |
| Tiazidski diuretik       | 20 (37,7)           | 13 (25,5)            | 33 (31,7) | 0,21 |
| Kalcijski antagonisti    | 29 (54,7)           | 29 (56,9)            | 58 (55,8) | 0,85 |
| Beta blokatori           | 15 (28,3)           | 8 (15,7)             | 23 (22,1) | 0,16 |
| ARB                      | 4 (7,5)             | 6 (11,8)             | 10 (9,6)  | 0,52 |
| Centralni antiadrenergik | 3 (5,7)             | 8 (15,7)             | 11 (10,6) | 0,12 |

\*Fisherov egzaktni test

Vrijednosti Toll-like receptora 4 (TLR 4) značajno su više kod u skupini bolesnika sa nereguliranim tlakom, središnje vrijednosti 25,6 (interkvartilnog raspona 20,6 do 30,1) (Mann Whitney U test,  $p=0,011$ ), kao i vrijednosti srednjeg intenziteta fluorescencije (MFI), koje su kod ispitanika s nereguliranim AT značajno više i iznose 95,9 (interkvartilnog raspona od 83,5 do 101,8) (Mann Whitney U test,  $P = 0,02$ ).

Vrijednosti interleukina 17A (IL – 17A), iako su nešto više u grupi sa nereguliranim AT značajno se ne razlikuju u odnosu na ispitanike s reguliranim AT (Tablica 5.7).

Tablica 5.7. Srednje vrijednosti Toll-like receptora 4, MFI i interleukina 17A prema skupinama



|                                        | Medijan<br>(interkvartilni raspon) |                           |                          | P*          |
|----------------------------------------|------------------------------------|---------------------------|--------------------------|-------------|
|                                        | Regulirani<br>tlak                 | Neregulirani<br>tlak      | Ukupno                   |             |
| <b>TLR-4</b><br>(Toll-like receptor 4) | 21,99<br>(18,9 - 25,01)            | 25,60<br>(20,6 - 30,1)    | 22,86<br>(19,3 - 28,9)   | <b>0,01</b> |
| <b>MFI</b>                             | 88,01<br>(79,39 - 94,57)           | 95,95<br>(83,46 - 101,78) | 90,69<br>(81,42 - 99,96) | <b>0,02</b> |
| <b>IL-17A</b><br>(Interleukin 17A)     | 1,60<br>(0,939 - 1,951)            | 1,80<br>(1,242 - 2,114)   | 1,73<br>(1,21 - 2,024)   | 0,19        |

\*Mann Whitney U test, †MFI: srednji intenzitet fluorescencije biljega (od engl. mean fluorescence intensity)

## 5.2. Povezanost TLR4 i IL-17A s drugim parametrima

Kod svih ispitanika, dulje trajanje bolesti uzrokuje povećanje IL-17A (Spearmanov koeficijent korelacije  $\rho=0,224$   $P = 0,02$ ). Nema značajnih povezanosti dobi i trajanja bolesti s ostalim parametrima.

U skupini ispitanika s reguliranim AT, dulje trajanje bolesti uzrokuje povećanje TLR4 (Spearmanov koeficijent korelacije  $\rho=0,322$   $P = 0,02$ ) i MFI (Spearmanov koeficijent korelacije  $\rho=0,290$   $P = 0,03$ ).

U grupi ispitanika sa nereguliranim AT značajno se povećava IL-17A s trajanjem bolesti (Spearmanov koeficijent korelacije  $\rho=0,566$   $P < 0,001$ ) (Tablica 5.8).

Tablica 5.8. Ocjene povezanosti trajanja bolesti, dobi, TLR4, MFI i IL-17A

| Spearmanov koeficijent korelacije Rho (P vrijednost) |     |      |     |
|------------------------------------------------------|-----|------|-----|
| Trajanje bolesti                                     | Dob | TLR4 | MFI |

|                          |                          |               |                |               |
|--------------------------|--------------------------|---------------|----------------|---------------|
| <b>Svi ispitanici</b>    |                          |               |                |               |
| Trajanje bolesti         | 1                        |               |                |               |
| Dob ispitanika           | 0,241 (0,08)             | 1             |                |               |
| TLR4                     | 0,045 (0,65)             | 0,109 (0,27)  | 1              |               |
| MFI                      | 0,051 (0,61)             | 0,107 (0,28)  | 0,969(<0,001)  | 1             |
| IL-17A                   | <b>0,224 (0,02)</b>      | 0,090 (0,38)  | -0,136 (0,19)  | -0,083 (0,42) |
| <b>Regulirani tlak</b>   |                          |               |                |               |
| Trajanje bolesti         | 1                        |               |                |               |
| Dob ispitanika           | 0,241 (0,08)             | 1             |                |               |
| TLR4                     | <b>0,322 (0,02)</b>      | 0,171 (0,22)  | 1              |               |
| MFI                      | <b>0,290 (0,03)</b>      | 0,177 (0,20)  | 0,963 (<0,001) | 1             |
| IL-17A                   | -0,147 (0,31)            | 0,071 (0,63)  | -0,138 (0,35)  | -0,088 (0,55) |
| <b>Neregulirani tlak</b> |                          |               |                |               |
| Trajanje bolesti         | 1                        |               |                |               |
| Dob ispitanika           | 0,278 (0,04)             | 1             |                |               |
| TLR4                     | -0,105 (0,46)            | -0,043 (0,76) | 1              |               |
| MFI                      | -0,112 (0,43)            | -0,074 (0,60) | 0,962 (<0,001) | 1             |
| IL-17A                   | <b>0,566 (&lt;0,001)</b> | 0,119 (0,42)  | -0,142 (0,33)  | -0,116 (0,43) |

\*MFI: srednji intenzitet fluorescencije biljega (od engl. mean fluorescence intensity)

Nema značajnih razlika u srednjoj vrijednosti TLR4, MFI i IL-17A prema tome jesu li ispitanici pušači ili ne (Tablica 5.9).

Tablica 5.9. Srednje vrijednosti TLR4, MFI i IL-17A prema pušenju

| Medijan (interkvartilni raspon) | P* |
|---------------------------------|----|
|---------------------------------|----|

|                                        | Nisu pušači            | Pušači                   | Ukupno                   |      |
|----------------------------------------|------------------------|--------------------------|--------------------------|------|
| <b>TLR-4</b><br>(Toll-like receptor 4) | 22,6<br>(19,0 - 28,9)  | 24,16<br>(20,55 - 27,54) | 22,86<br>(19,32 - 28,88) | 0,58 |
| <b>MFI</b>                             | 89,5<br>(80,4 - 100,7) | 93,52<br>(84,31 - 97,44) | 90,69<br>(81,42 - 99,96) | 0,44 |
| <b>IL-17A</b><br>(Interleukin 17A)     | 1,710<br>(1,13 - 1,99) | 1,770<br>(1,22 - 2,20)   | 1,730<br>(1,21 - 2,024)  | 0,52 |

\*Mann Whitney U test, †MFI: srednji intenzitet fluorescencije biljega (od engl. mean fluorescence intensity)

Značajnih razlika u srednjoj vrijednosti TLR4, MFI i IL-17A prema pušenju nema niti prema tome imaju li reguliran ili nereguliran AT (Tablica 5.10).

Tablica 5.10. Srednje vrijednosti TLR4, MFI i IL17A prema skupinama i pušenju

| Medijan (interkvartilni raspon) | P* |
|---------------------------------|----|
|---------------------------------|----|

|                                        | Nisu pušači               | Pušači                   | Ukupno                    |      |
|----------------------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|------|
| <b>Regulirani tlak</b>                 |                           |                          |                           |      |
| <b>TLR-4</b><br>(Toll-like receptor 4) | 21,03<br>(18,91 - 25,21)  | 22,6<br>(18,31 - 25,17)  | 21,99<br>(18,89 - 25,01)  | 0,55 |
| <b>MFI</b>                             | 86,89<br>(78,53 - 93,07)  | 92,43<br>(80,58 - 95,91) | 88,01<br>(79,39 - 94,57)  | 0,36 |
| <b>IL-17A</b><br>(Interleukin 17A)     | 1,69<br>(0,92 - 1,89)     | 1,27<br>(0,89 - 2,09)    | 1,596<br>(0,939 - 1,951)  | 0,91 |
| <b>Neregulirani tlak</b>               |                           |                          |                           |      |
| <b>TLR-4</b><br>(Toll-like receptor 4) | 25,5<br>(20,46 - 30,37)   | 25,93<br>(20,67 - 29,6)  | 25,60<br>(20,57 - 30,12)  | 0,64 |
| <b>MFI</b>                             | 90,91<br>(82,68 - 102,09) | 95,99<br>(84,5 - 101,86) | 95,95<br>(83,46 - 101,78) | 0,67 |
| <b>IL-17A</b><br>(Interleukin 17A)     | 1,8<br>(1,18 - 2,06)      | 1,88<br>(1,38 - 2,3)     | 1,796<br>(1,242 - 2,114)  | 0,34 |

\*Mann Whitney U test, †MFI: srednji intenzitet fluorescencije biljega (od engl. mean fluorescence intensity)

Ispitanici oba spola imaju podjednake vrijednosti parametara (Tablica 5.11).

Tablica 5.11. Srednje vrijednosti TLR4, MFI i IL-17A prema spolu

| Medijan (interkvartilni raspon) |      |        | p* |
|---------------------------------|------|--------|----|
| Muškarci                        | Žene | Ukupno |    |

|                                       |                         |                          |                         |      |
|---------------------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|------|
| <b>TLR4</b><br>(Toll-like receptor 4) | 25,55<br>(20,34 - 28,1) | 22,74<br>(18,94 - 28,96) | 22,86<br>(19,32 - 28,9) | 0,51 |
| <b>MFI</b>                            | 90,03<br>(83,3 - 99,7)  | 91,73<br>(79,8 - 100,2)  | 90,69<br>(81,4 - 99,9)  | 0,87 |
| <b>IL-17A</b><br>(Interleukin 17A)    | 1,41<br>(1,22 - 2,04)   | 1,78<br>(1,17 - 1,99)    | 1,73<br>(1,21 - 2,02)   | 0,96 |

\*Mann Whitney U test, †MFI: srednji intenzitet fluorescencije biljega (od engl. mean fluorescence intensity)

Nema razlike po spolu unutar pojedine skupine ispitanika prema regulaciji AT (Tablica 5.12).

Tablica 5.12. Srednje vrijednosti TLR4, MFI i IL-17A prema skupinama i spolu

| Medijan (interkvartilni raspon) |                         |                         |                          | p*   |
|---------------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|------|
| Muškarci                        | Žene                    | Ukupno                  |                          |      |
| Regulirani tlak                 |                         |                         |                          |      |
| TLR-4<br>(Toll-like receptor 4) | 20,67<br>(18,4 - 23,9)  | 22,37<br>(18,9 - 25,8)  | 21,99<br>(18,9 - 25,0)   | 0,35 |
| MFI                             | 84,36<br>(73,6 - 90,8)  | 89,9<br>(80,55 - 95,69) | 88,01<br>(79,4 - 94,6)   | 0,21 |
| IL-17A<br>(Interleukin 17A)     | 1,320<br>(0,8 - 2,1)    | 1,690<br>(1,03 - 1,87)  | 1,596<br>(0,939 - 1,951) | 0,97 |
| Neregulirani tlak               |                         |                         |                          |      |
| TLR-4<br>(Toll-like receptor 4) | 25,76<br>(21,1 - 29,8)  | 25,45<br>(18,03 - 32,1) | 25,60<br>(20,6 - 30,1)   | 0,74 |
| MFI                             | 94,97<br>(86,5 - 102,1) | 97,53<br>(76,5 - 101,7) | 95,9<br>(83,5 - 101,8)   | 0,72 |
| IL-17A<br>(Interleukin 17A)     | 1,46<br>(1,31 - 2,02)   | 1,87<br>(1,21 - 2,18)   | 1,796<br>(1,242 - 2,114) | 0,62 |

\*Mann Whitney U test, †MFI: srednji intenzitet fluorescencije biljega (od engl. mean fluorescence intensity)

Ispitanici koji po vrijednostima indeksa tjelesne mase pripadaju pretilima imaju nešto više vrijednosti TLR4 i IL17-A, no bez statistički značajne razlike u odnosu na ispitanike s prekomjernom ili normalnom TM (Tablica 5.13).

Tablica 5.13. Srednje vrijednosti TLR4, MFI i IL-17A prema indeksu tjelesne mase

|                                           | Medijan (interkvartilni raspon) |                        |                           |                        | P*   |
|-------------------------------------------|---------------------------------|------------------------|---------------------------|------------------------|------|
|                                           | Normalna<br>TM                  | Prekomjerna<br>TM      | Pretili                   | Ukupno                 |      |
| <b>TLR-4</b><br>(Toll-like<br>receptor 4) | 22,93<br>(20,5 - 28,9)          | 22,5<br>(18,9 - 27,8)  | 23,2<br>(18,9 - 29,4)     | 22,9<br>(19,3 - 28,9)  | 0,52 |
| <b>MFI</b>                                | 92,9<br>(85,1 - 101,1)          | 90,03<br>(81,6 - 97,9) | 88,3<br>(76,5 -<br>100,3) | 90,7<br>(81,4 - 99,9)  | 0,88 |
| <b>IL17A</b><br>(Interleukin<br>17A)      | 1,75<br>(1,27 - 2,01)           | 1,61<br>(1,22 - 1,99)  | 1,78<br>(0,94 - 2,14)     | 1,73<br>(1,21 - 2,024) | 0,96 |

\*Mann Whitney U test, †MFI: srednji intenzitet fluorescencije biljega (od engl. mean fluorescence intensity)

Unutar skupina ispitanika prema regulaciji AT, nema značajnih razlika u parametrima prema TM (Tablica 5.14).

Tablica 5.14. Srednje vrijednosti TLR4, MFI i IL17A prema indeksu tjelesne mase i skupinama

|                                        | Medijan (interkvartilni raspon) |                        |                        |                          | P*   |
|----------------------------------------|---------------------------------|------------------------|------------------------|--------------------------|------|
|                                        | Normalna<br>TM                  | Prekomjerna<br>TM      | Pretili                | Ukupno                   |      |
| <b>Regulirani tlak</b>                 |                                 |                        |                        |                          |      |
| <b>TLR-4</b> (Toll-like<br>receptor 4) | 22,0<br>(20,0 - 26,0)           | 22,4<br>(18,9 - 29,2)  | 19,1<br>(17,3 - 22,1)  | 21,9<br>(18,9 - 25,0)    | 0,67 |
| <b>MFI</b>                             | 90,8<br>(83,4 - 96,9)           | 91,3<br>(81,9 - 103,2) | 80<br>(71,9 - 86,7)    | 88,0<br>(79,4 - 94,6)    | 0,94 |
| <b>IL-17A</b><br>(Interleukin 17A)     | 1,79<br>(1,36 - 2,2)            | 1,27<br>(0,7 - 1,8)    | 1,8<br>(0,9 - 2,2)     | 1,596<br>(0,939 - 1,951) | 0,09 |
| <b>Neregulirani tlak</b>               |                                 |                        |                        |                          |      |
| <b>TLR-4</b> (Toll-like<br>receptor 4) | 26,2<br>(20,4 - 29,1)           | 24,9<br>(18,1 - 27,4)  | 29,1<br>(23,6 - 35,3)  | 25,6<br>(20,6- 30,1)     | 0,40 |
| <b>MFI</b>                             | 96,2<br>(84,0 - 101,9)          | 89,5<br>(78,9 - 96,8)  | 99,3<br>(88,5 - 105,4) | 95,9<br>(83,5 - 101,8)   | 0,22 |
| <b>IL-17A</b><br>(Interleukin 17A)     | 1,75<br>(1,21 - 1,99)           | 1,94<br>(1,31 - 2,22)  | 1,6<br>(0,94 - 2,24)   | 1,79<br>(1,242 - 2,14)   | 0,44 |

\*Mann Whitney U test, †MFI: srednji intenzitet fluorescencije biljega (od engl. mean fluorescence intensity)

Nema značajnih povezanosti lipidograma s TLR4, IL-17A i MFI, kako kod svih ispitanika tako i u skupinama (Tablica 5.15).

Tablica 5.15. Ocjena povezanosti lipidograma s TLR4 , MFI i IL-17A

|                       | Spearmanov koeficijent korelacije Rho (p-vrijednost) |     |     |              |      |     |
|-----------------------|------------------------------------------------------|-----|-----|--------------|------|-----|
|                       | Kolesterol                                           | LDL | HDL | Trigliceridi | TLR4 | MFI |
| <b>Svi ispitanici</b> |                                                      |     |     |              |      |     |
| Kolesterol            | 1                                                    |     |     |              |      |     |
| LDL                   | 0,874                                                | 1   |     |              |      |     |



|                          |                    |                    |                  |                  |                    |                  |
|--------------------------|--------------------|--------------------|------------------|------------------|--------------------|------------------|
|                          | (< 0,001)          |                    |                  |                  |                    |                  |
| HDL                      | 0,202<br>(0,07)    | 0,077<br>(0,49)    | 1                |                  |                    |                  |
| Trigliceridi             | 0,539<br>(< 0,001) | 0,427<br>(< 0,001) | -0,250<br>(0,02) | 1                |                    |                  |
| TLR4                     | -0,078<br>(0,44)   | -0,149<br>(0,16)   | 0,041<br>(0,71)  | -0,050<br>(0,62) | 1                  |                  |
| MFI                      | -0,061<br>(0,54)   | -0,098<br>(0,36)   | 0,058<br>(0,60)  | -0,053<br>(0,60) | 0,969<br>(< 0,001) | 1                |
| IL-17A                   | 0,137<br>(0,18)    | 0,177<br>(0,11)    | -0,124<br>(0,28) | 0,205<br>(0,05)  | -0,136<br>(0,19)   | -0,083<br>(0,43) |
| <b>Regulirani tlak</b>   |                    |                    |                  |                  |                    |                  |
| Kolesterol               | 1                  |                    |                  |                  |                    |                  |
| LDL                      | 0,824<br>(< 0,001) | 1                  |                  |                  |                    |                  |
| HDL                      | 0,029<br>(0,86)    | -0,134<br>(0,41)   | 1                |                  |                    |                  |
| Trigliceridi             | 0,367<br>(0,008)   | 0,213<br>(0,16)    | -0,340<br>(0,03) | 1                |                    |                  |
| TLR4                     | -0,147<br>(0,29)   | -0,131<br>(0,39)   | 0,096<br>(0,55)  | -0,124<br>(0,39) | 1                  |                  |
| MFI                      | -0,102<br>(0,47)   | -0,027<br>(0,86)   | 0,159<br>(0,33)  | -0,172<br>(0,23) | 0,963<br>(< 0,001) | 1                |
| IL-17A                   | 0,056<br>(0,71)    | 0,047<br>(0,76)    | -0,134<br>(0,43) | 0,029<br>(0,84)  | -0,138<br>(0,36)   | -0,088<br>(0,56) |
| <b>Neregulirani tlak</b> |                    |                    |                  |                  |                    |                  |
| Kolesterol               | 1                  |                    |                  |                  |                    |                  |
| LDL                      | 0,912<br>(< 0,001) | 1                  |                  |                  |                    |                  |
| HDL                      | 0,324<br>(0,03)    | 0,223<br>(0,15)    | 1                |                  |                    |                  |
| Trigliceridi             | 0,604<br>(< 0,001) | 0,550<br>(< 0,001) | -0,210<br>(0,18) | 1                |                    |                  |
| TLR4                     | -0,181<br>(0,20)   | -0,258<br>(0,09)   | -0,067<br>(0,67) | -0,044<br>(0,77) | 1                  |                  |
| MFI                      | -0,194<br>(0,17)   | -0,263<br>(0,08)   | -0,049<br>(0,75) | -0,038<br>(0,79) | 0,962<br>(< 0,001) | 1                |
| IL-17A                   | 0,153<br>(0,29)    | 0,225<br>(0,16)    | -0,100<br>(0,53) | 0,253<br>(0,09)  | -0,142<br>(0,34)   | -0,116<br>(0,43) |

\*MFI: srednji intenzitet fluorescencije biljega (od engl. mean fluorescence intensity)

Značajno su niže vrijednosti TLR4 (Mann Whitney U test,  $P = 0,001$ ) kod svih bolesnika koji uzimaju beta blokatore, kao i MFI (Mann Whitney U test,  $P = 0,001$ ). Vrijednosti IL-17A su značajno više kod ispitanika koji uzimaju diuretik (Mann Whitney U test,  $P < 0,001$ ) i centralni antiadrenergik (Mann Whitney U test,  $P = 0,01$ ) (Tablica 5.16).

U skupini ispitanika sa reguliranim AT značajno su niže vrijednosti TLR4 (Mann Whitney U test,  $P = 0,005$ ) kod bolesnika koji uzimaju beta blokatore, kao i MFI (Mann Whitney U test,

P = 0,009). Vrijednosti IL-17A su značajno više kod ispitanika koji uzimaju diuretik (Mann Whitney U test, P = 0,02) (Tablica 5.17).

U skupini ispitanika sa nereguliranim AT značajno su niže vrijednosti TLR4 (Mann Whitney U test, P = 0,04) kod bolesnika koji uzimaju beta blokatore. Vrijednosti IL-17A su značajno više kod ispitanika s nereguliranim AT koji uzimaju diuretik (Mann Whitney U test, P = 0,001) (Tablica 5.18).

Tablica 5.16. Srednje vrijednosti TLR4, IL-17A i MFI prema uzimanju terapije kod svih ispitanika

|                | Medijan (interkvartilni raspon) prema<br>uzimanju terapije |                    | p*   |
|----------------|------------------------------------------------------------|--------------------|------|
|                | Ne                                                         | da                 |      |
| <b>TLR-4</b>   |                                                            |                    |      |
| ACE inhibitori | 23,6 (18,9 – 29,1)                                         | 22,7 (19,5 – 28,2) | 0,76 |
| ARB            | 22,9 (19,7 – 28,8)                                         | 22,5 (18,6 – 29,7) | 0,76 |

|                          |                     |                      |                  |
|--------------------------|---------------------|----------------------|------------------|
| Tiazidski diuretik       | 22,6 (19,7 – 28,8)  | 22,9 (18,9 – 29,6)   | 0,95             |
| Kalcijski antagonisti    | 22,6 (20,5 – 29,02) | 22,9 (18,6 – 27,8)   | 0,32             |
| Beta blokatori           | 24,1 (20,6 – 29,2)  | 18,9 (18,1 – 24,3)   | <b>0,001</b>     |
| Centralni antiadrenergik | 22,6 (19,5 – 27,7)  | 29,3 (17,5 – 32,1)   | 0,25             |
| <b>IL-17A</b>            |                     |                      |                  |
| ACE inhibitori           | 1,78 (1,3 – 1,9)    | 1,7 (1,03 – 2,04)    | 0,87             |
| ARB                      | 1,75 (1,2 – 1,98)   | 1,71 (0,84 – 2,25)   | 0,94             |
| Tiazidski diuretik       | 1,41 (0,93 – 1,9)   | 2,01 (1,5 – 2,4)     | <b>&lt;0,001</b> |
| Kalcijski antagonisti    | 1,5 (1,1 – 1,9)     | 1,78 (1,2 – 2,03)    | 0,35             |
| Beta blokatori           | 1,7 (1,1 – 2,1)     | 1,8 (1,2 – 1,98)     | 0,69             |
| Centralni antiadrenergik | 1,69 (1,1 – 1,98)   | 2,1 (1,7 – 2,3)      | <b>0,01</b>      |
| <b>MFI</b>               |                     |                      |                  |
| ACE inhibitori           | 92,8 (81,6 – 101,5) | 89,6 (80,6 – 98,7)   | 0,53             |
| ARB                      | 90,6 (81,4 – 100,2) | 92,2 (80,7 – 100,1)  | 0,95             |
| Tiazidski diuretik       | 90,6 (82,2 – 99,6)  | 91,3 (80,5 – 101,9)  | 0,90             |
| Kalcijski antagonisti    | 90,8 (83,7 – 100,9) | 89,6 (76,3 – 98,7)   | 0,32             |
| Beta blokatori           | 92,8 (83,9 – 101,3) | 80,3 (74,8 – 87,7)   | <b>0,001</b>     |
| Centralni antiadrenergik | 90,1 (81,6 – 98,6)  | 100,6 (77,7 – 103,7) | 0,20             |

\*Mann Whitney U test, †MFI: srednji intenzitet fluorescencije biljega (od engl. mean fluorescence intensity)

Tablica 5.17. Srednje vrijednosti TLR-4, IL17A i MFI prema uzimanju terapije u grupi ispitanika s dobro reguliranim AT

| Regulirani tlak | Medijan (interkvartilni raspon) prema uzimanju terapije |                    | P*   |
|-----------------|---------------------------------------------------------|--------------------|------|
|                 | ne                                                      | da                 |      |
| TLR4            |                                                         |                    |      |
| ACE inhibitori  | 21 (19 - 22,9)                                          | 22,3 (18,8 - 26,1) | 0,32 |

|                          |                    |                     |              |
|--------------------------|--------------------|---------------------|--------------|
| ARB                      | 22 (18,8 - 25,7)   | 20,6 (19 - 22,7)    | 0,65         |
| Tiazidski diuretik       | 21,3 (18,8 - 24,5) | 22,6 (19 - 28,7)    | 0,47         |
| Kalcijski antagonisti    | 22,4 (20,1 - 27,6) | 20,6 (18,4 - 25)    | 0,09         |
| Beta blokatori           | 22,6 (20,2 - 25,9) | 18,9 (18,1 - 20,1)  | <b>0,005</b> |
| Centralni antiadrenergik | 22,1 (19 - 24,9)   | 17,3 (12,7 - 37,6)  | 0,38         |
| <b>IL-17A</b>            |                    |                     |              |
| ACE inhibitori           | 1,8 (1,3 - 1,9)    | 1,4 (0,8 - 2)       | 0,44         |
| ARB                      | 1,5 (0,9 - 1,9)    | 1,8 (1,7 - 2,3)     | 0,28         |
| Tiazidski diuretik       | 1,3 (0,8 - 1,8)    | 1,8 (1,4 - 2,3)     | <b>0,02</b>  |
| Kalcijski antagonisti    | 1,2 (0,8 - 1,9)    | 1,8 (1,3 - 2)       | 0,12         |
| Beta blokatori           | 1,5 (0,9 - 1,9)    | 1,8 (1,2 - 2)       | 0,41         |
| Centralni antiadrenergik | 1,5 (0,9 - 1,9)    | 1,9 (1,8 - 2,1)     | 0,13         |
| <b>MFI</b>               |                    |                     |              |
| ACE inhibitori           | 83 (80 - 92,6)     | 88,1 (78,5 - 95,7)  | 0,47         |
| ARB                      | 88 (78,2 - 95,4)   | 87,1 (81,7 - 92,6)  | 0,98         |
| Tiazidski diuretik       | 87,9 (77,2 - 94,1) | 88,1 (80,5 - 100,7) | 0,64         |
| Kalcijski antagonisti    | 89,9 (84 - 99)     | 83 (74,3 - 92,8)    | 0,07         |
| Beta blokatori           | 91,3 (83 - 95,5)   | 80 (72,6 - 84,1)    | <b>0,009</b> |
| Centralni antiadrenergik | 88,1 (80,3 - 94,1) | 74 (64,8 - 111,1)   | 0,50         |

\*Mann Whitney U test, †MFI: srednji intenzitet fluorescencije biljega (od engl. mean fluorescence intensity)

Tablica 5.18. Srednje vrijednosti TLR4, IL-17A i MFI prema uzimanju terapije u grupi ispitanika s nereguliranim AT

| Neregulirani tlak | Medijan (interkvartilni raspon) prema uzimanju terapije |    | P* |
|-------------------|---------------------------------------------------------|----|----|
|                   | ne                                                      | da |    |
| <b>TLR4</b>       |                                                         |    |    |

|                          |                     |                      |              |
|--------------------------|---------------------|----------------------|--------------|
| ACE inhibitori           | 27,6 (21,1 - 32)    | 24,9 (20,3 - 29,3)   | 0,22         |
| ARB                      | 25,5 (20,6 - 29,8)  | 28,2 (16,7 - 31,8)   | 0,92         |
| Tiazidski diuretik       | 25,5 (20,8 - 30,2)  | 27,2 (18,3 - 30,1)   | 0,82         |
| Kalcijski antagonisti    | 25,5 (21,1 - 30,4)  | 25,6 (19,9 - 29,9)   | 0,83         |
| Beta blokatori           | 25,9 (21,1 - 30,5)  | 20,5 (18 - 27,4)     | 0,09         |
| Centralni antiadrenergik | 25,3 (20,5 - 29,8)  | 29,4 (27 - 30,3)     | 0,16         |
| <b>IL-17A</b>            |                     |                      |              |
| ACE inhibitori           | 1,8 (1,3 - 2)       | 1,8 (1,2 - 2,3)      | 0,37         |
| ARB                      | 1,8 (1,3 - 2,1)     | 1,4 (0,2 - 2,5)      | 0,55         |
| Tiazidski diuretik       | 1,6 (1,2 - 2)       | 2,3 (1,9 - 2,6)      | <b>0,001</b> |
| Kalcijski antagonisti    | 1,8 (1,3 - 2,1)     | 1,8 (1,2 - 2,3)      | 0,87         |
| Beta blokatori           | 1,8 (1,3 - 2,1)     | 1,8 (1,2 - 2,3)      | 0,97         |
| Centralni antiadrenergik | 1,8 (1,2 - 2)       | 2,3 (1,4 - 2,6)      | 0,06         |
| <b>MFI</b>               |                     |                      |              |
| ACE inhibitori           | 99,3 (82,8 - 102,6) | 90,6 (83,6 - 100,4)  | 0,20         |
| ARB                      | 95 (83,6 - 101,6)   | 98 (76,1 - 103,4)    | 0,90         |
| Tiazidski diuretik       | 95 (83,6 - 101,5)   | 97,5 (80,2 - 102,8)  | 0,95         |
| Kalcijski antagonisti    | 90,8 (83,7 - 101,5) | 96 (81,2 - 102,9)    | 0,64         |
| Beta blokatori           | 96,8 (85,4 - 102,4) | 83,4 (74,9 - 90,5)   | <b>0,04</b>  |
| Centralni antiadrenergik | 90,9 (83,1 - 101,5) | 101,9 (96,8 - 103,2) | 0,10         |

\*Mann Whitney U test, †MFI: srednji intenzitet fluorescencije biljega (od engl. mean fluorescence intensity)

### 5.3. Utjecaj CRP i urata

Nema značajne razlike u vrijednostima urata i CRP prema reguliranosti AT (Tablica 5.19).

Tablica 5.19. Središnje vrijednosti urata i CRP-a prema reguliranosti arterijskoga tlaka

|       | Medijan (interkvartilni raspon) |                       |                       | P*   |
|-------|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|------|
|       | Reguliran<br>tlak               | Nereguliran<br>tlak   | Ukupno                |      |
| Urati | 302,5<br>(251,75 - 377,75)      | 318,5<br>(271 - 356)  | 311<br>(263,5 - 368)  | 0,70 |
| CRP   | 3,69<br>(2,43 - 5,49)           | 3,16<br>(2,19 - 4,75) | 3,48<br>(2,29 - 5,19) | 0,33 |

\*Mann Whitney U test

Vrijednosti urata značajno su više kod muškaraca, medijana 341,5 (interkvartilnog raspona 305,3 do 394,5) u odnosu na žene (Mann Whitney U test,  $P < 0,001$ ) (Tablica 5.20).

Tablica 5.20. Središnje vrijednosti urata i CRP-a prema spolu

|       | Medijan (interkvartilni raspon) |                       |                       | P*                |
|-------|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------|
|       | Muškarci                        | Žene                  | Ukupno                |                   |
| Urati | 341,5<br>(305,3 - 394,5)        | 276<br>(238,5 - 327)  | 311<br>(263,5 - 368)  | <b>&lt; 0,001</b> |
| CRP   | 2,96<br>(1,89 - 4,68)           | 3,68<br>(2,51 - 5,38) | 3,48<br>(2,29 - 5,19) | 0,18              |

\*Mann Whitney U test

Kod pretilih ispitanika značajno su više vrijednosti urata, medijana 343 (interkvartilnog raspona od 324 do 386) (Kruskal Wallis test,  $P = 0,003$ ), kao i vrijednosti CRP-a (Kruskal Wallis test,  $P = 0,03$ ) (Tablica 5.21).

Tablica 5.21. Središnje vrijednosti urata i CRP-a prema indeksu tjelesne mase

|       | Medijan (interkvartilni raspon) |                             |                       | P*           |
|-------|---------------------------------|-----------------------------|-----------------------|--------------|
|       | Normalna<br>TT 18,5 - 24,9      | Prekomjerna<br>TT 25 - 29,9 | Pretili<br>30 i više  |              |
| Urati | 254<br>(233,75 - 288,75)        | 303<br>(273,5 - 383,5)      | 343<br>(324 - 386)    | <b>0,003</b> |
| CRP   | 2,38<br>(1,89 - 3,48)           | 3,47<br>(2,35 - 5,05)       | 4,66<br>(2,87 - 8,02) | <b>0,03</b>  |

\*Kruskal Wallis test

Nema značajnih razlika u vrijednostima urata i CRP-a prema reguliranosti AT u skupinama prema spolu (Tablica 5.22).

Tablica 5.22. Središnje vrijednosti urata i CRP-a prema reguliranosti AT i spolu

|          | Medijan (interkvartilni raspon) |                       |                           | P*   |
|----------|---------------------------------|-----------------------|---------------------------|------|
|          | Reguliran<br>tlak               | Nereguliran<br>tlak   | Ukupno                    |      |
| Muškarci |                                 |                       |                           |      |
| Urat     | 368<br>(310,5 - 409,5)          | 339<br>(300 - 395)    | 341,5<br>(305,25 - 394,5) | 0,51 |
| CRP      | 3,62<br>(2,19 - 5,2)            | 2,43<br>(1,71 - 4,28) | 2,96<br>(1,89 - 4,68)     | 0,37 |
| Žene     |                                 |                       |                           |      |
| Urat     | 274<br>(242,5 - 346)            | 278<br>(234 - 321,5)  | 276<br>(238,5 - 327)      | 0,96 |
| CRP      | 3,71<br>(2,41 - 5,58)           | 3,49<br>(2,92 - 5,12) | 3,68<br>(2,51 - 5,38)     | 0,81 |

\*Mann Whitney U test

Unutar dobnih skupina nema značajnih razlika u uratima i CRP-u prema reguliranosti AT (Tablica 5.23)

Tablica 5.23. Osnovne mjere sredine i raspršenja urata i CRP po dobnim skupinama ispitanika



| Dob ispitanika  |      | Medijan (interkvartilni raspon) |                         |                        | P*   |
|-----------------|------|---------------------------------|-------------------------|------------------------|------|
|                 |      | Reguliran<br>tlak               | Nereguliran<br>tlak     | Ukupno                 |      |
| do 30<br>godina | Urat | 283 <sup>†</sup>                | 353<br>(229,5 - 300,56) | 306<br>(283 - 400)     | -    |
|                 | CRP  | 1,8 <sup>†</sup>                | 3,55<br>(2,4 - 3,48)    | 3,2<br>(1,8 - 3,89)    | -    |
| 31-40           | Urat | 347<br>(288,3 - 407,3)          | 297<br>(212 - 356,25)   | 325<br>(235,5 - 384,5) | 0,34 |
|                 | CRP  | 5,41<br>(3,13 - 6,34)           | 2,38<br>(1,82 - 6,57)   | 4,17<br>(2,03 - 6,07)  | 0,26 |
| 41-50           | Urat | 274<br>(230 - 368)              | 273<br>(239,5 - 335)    | 274<br>(240 - 343)     | 0,85 |
|                 | CRP  | 3,32<br>(2,43 - 6,03)           | 2,97<br>(0,48 - 3,68)   | 3,24<br>(2,07 - 5,43)  | 0,19 |
| 51-60           | Urat | 344<br>(276,7 - 420,7)          | 323<br>(292,3 - 349,8)  | 328<br>(282,3 - 392,8) | 0,82 |
|                 | CRP  | 3,72<br>(2,41 - 4,71)           | 3,12<br>(2,21 - 4,21)   | 3,3<br>(2,25 - 4,61)   | 0,64 |
| 61 i<br>više    | Urat | 347,2 <sup>†</sup>              | 328<br>(279,5 - 424,5)  | 326<br>(274 - 412,25)  | -    |
|                 | CRP  | 5,23 <sup>†</sup>               | 5,01<br>(2,87 - 8,39)   | 5<br>(2,87 - 8,2)      | -    |

\*Mann Whitney U test; <sup>†</sup>Jedan ispitanik

Unutar skupina po indeksu tjelesne masee, nema značajnih razlika u uratima i CRP-u prema reguliranosti AT (Tablica 5.24).

Tablica 5.24. Osnovne mjere sredine i raspršenja urata i CRP po indeksu tjelesne mase

|                             |       | Medijan (interkvartilni raspon) |                        |                          | P*     |
|-----------------------------|-------|---------------------------------|------------------------|--------------------------|--------|
|                             |       | Reguliran<br>tlak               | Nereguliran<br>tlak    | Ukupno                   |        |
| Normalna<br>TM 18,5 - 24,9  | Urati | 263<br>(240 - 283)              | 245<br>(233 - 306)     | 254<br>(233,75 - 288,75) | 0,79   |
|                             | CRP   | 2,37<br>(1,8 - 3,67)            | 2,38<br>(1,92 - 3,48)  | 2,38<br>(1,89 - 3,48)    | > 0,99 |
| prekomjerna<br>TM 25 - 29,9 | Urati | 299<br>(250 - 379,75)           | 335<br>(293 - 400)     | 303<br>(273,5 - 383,5)   | 0,18   |
|                             | CRP   | 3,51<br>(2,06 - 5,23)           | 3,47<br>(2,43 - 5,01)  | 3,47<br>(2,35 - 5,05)    | 0,86   |
| Pretili<br>30 i više        | Urati | 368<br>(327 - 390)              | 329<br>(297 - 372,25)  | 343<br>(324 - 386)       | 0,32   |
|                             | CRP   | 4,99<br>(3 - 7,13)              | 4,32<br>(1,63 - 10,76) | 4,66<br>(2,87 - 8,02)    | 0,56   |

\*Mann Whitney U test

U skupini svih ispitanika najveća povezanost je između ITM i CRP-a (Spearmanov koeficijent korelacije  $\rho = 0,513$ ;  $P < 0,001$ ), i ITM i urata (Spearmanov koeficijent korelacije  $\rho = 0,438$ ;  $P < 0,001$ ).

U skupni ispitanika sa reguliranim AT, urati i IL-17A su obrnuto proporcionalne veličine (Spearmanov koeficijent korelacije  $\rho = -0,341$ ;  $P = 0,03$ ).

U skupni ispitanika sa nereguliranim AT, ispitanici s većim ITM, imaju veće vrijednosti CRP-a (Spearmanov koeficijent korelacije  $\rho = 0,457$ ;  $P = 0,004$ ) i urate (Spearmanov koeficijent korelacije  $\rho = 0,386$ ;  $P = 0,02$ ), dok ispitanici s većim vrijednostima triglicerida imaju veće vrijednosti CRP (Spearmanov koeficijent korelacije  $\rho = 0,386$ ;  $P = 0,02$ ), a uz niže vrijednosti

urata HDL pokazuje više vrijednosti (Spearmanov koeficijent korelacije  $\rho = -0,416$ ;  $P = 0,01$ ) (Tablica 5.25).

Tablica 5.25. Ocjena povezanosti CRP-a i urata s ostalim parametrima

| Spearmanov koeficijent<br>korelacije (P vrijednost) |       |
|-----------------------------------------------------|-------|
| CRP                                                 | Urati |

| <b>Svi ispitanici</b>    |                           |                           |
|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
| ITM                      | <b>0,513 (&lt; 0,001)</b> | <b>0,438 (&lt; 0,001)</b> |
| Kolesterol               | 0,138 (0,22)              | -0,050 (0,66)             |
| LDL                      | 0,101 (0,39)              | 0,055 (0,65)              |
| HDL                      | <b>-0,288 (0,02)</b>      | <b>-0,412 (0,001)</b>     |
| Trigliceridi             | <b>0,353 (0,002)</b>      | 0,025 (0,83)              |
| TLR4                     | -0,003 (0,97)             | -0,099 (0,39)             |
| MFI                      | 0,065 (0,56)              | -0,030 (0,79)             |
| IL-17A                   | -0,071 (0,53)             | -0,090 (0,43)             |
| eGFR                     | -0,083 (0,48)             | 0,034 (0,77)              |
| <b>Regulirani tlak</b>   |                           |                           |
| ITM                      | <b>0,565 (&lt; 0,001)</b> | <b>0,473 (0,002)</b>      |
| Kolesterol               | 0,078 (0,62)              | 0,077 (0,63)              |
| LDL                      | 0,088 (0,59)              | 0,160 (0,33)              |
| HDL                      | -0,260 (0,15)             | <b>-0,387 (0,03)</b>      |
| Trigliceridi             | <b>0,375 (0,02)</b>       | 0,058 (0,72)              |
| TLR4                     | -0,219 (0,17)             | -0,302 (0,06)             |
| MFI                      | 0,229 (0,15)              | 0,068 (0,66)              |
| IL-17A                   | -0,304 (0,05)             | <b>-0,341 (0,03)</b>      |
| eGFR                     | -0,191 (0,24)             | -0,042 (0,80)             |
| <b>Neregulirani tlak</b> |                           |                           |
| ITM                      | <b>0,457 (0,004)</b>      | <b>0,386 (0,02)</b>       |
| Kolesterol               | 0,190 (0,25)              | -0,065 (0,70)             |
| LDL                      | 0,085 (0,63)              | -0,013 (0,94)             |
| HDL                      | -0,321 (0,06)             | <b>-0,416 (0,01)</b>      |
| Trigliceridi             | <b>0,367 (0,03)</b>       | 0,012 (0,94)              |
| TLR4                     | 0,248 (0,13)              | 0,110 (0,51)              |
| MFI                      | -0,134 (0,42)             | -0,126 (0,45)             |
| IL-17A                   | 0,202 (0,22)              | 0,158 (0,34)              |
| eGFR                     | 0,020 (0,91)              | 0,051 (0,77)              |

\*MFI: srednji intenzitet fluorescencije biljega (od engl. mean fluorescence intensity)

Nema značajnih razlika u vrijednosti urata i CRP-a prema uzimanju terapije kod svih ispitanika (Tablica 5.26).

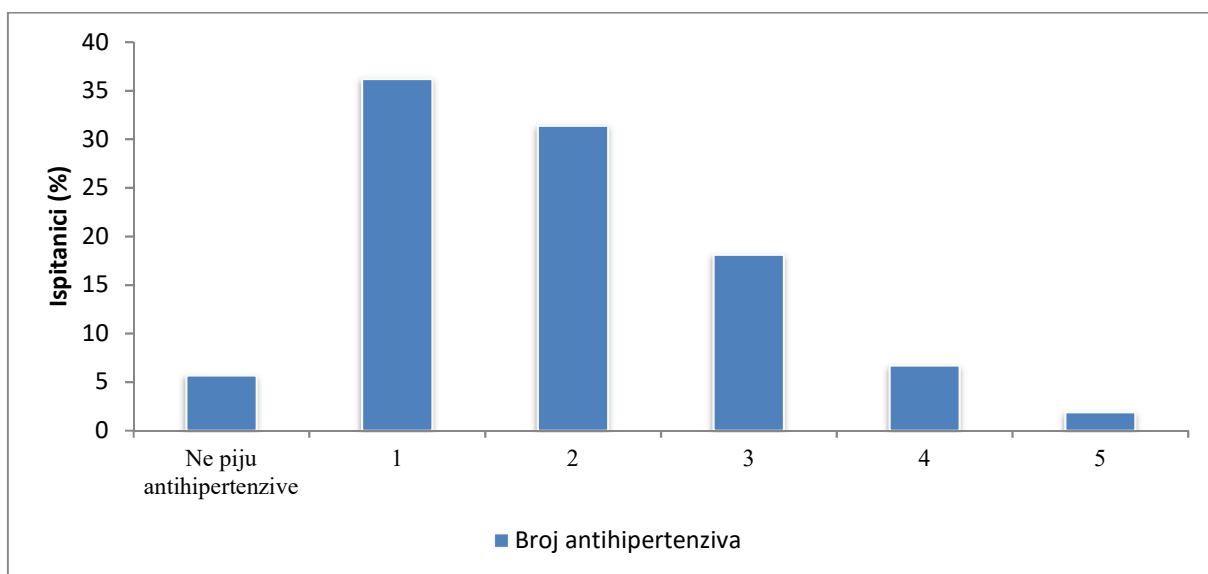
Tablica 5.26. Srednje vrijednosti urata i CRP-a prema uzimanju terapije kod svih ispitanika

|                          | Medijan (interkvartilni raspon) prema<br>uzimanju terapije |                       | P*   |
|--------------------------|------------------------------------------------------------|-----------------------|------|
|                          | ne                                                         | da                    |      |
| URATI                    |                                                            |                       |      |
| ACE inhibitori           | 302 (242,5 - 354)                                          | 318 (272 - 376)       | 0,45 |
| ARB                      | 304,5 (262,8 - 370)                                        | 330,5 (287,7 - 369,8) | 0,46 |
| Tiazidski diuretik       | 311 (241,3 - 368)                                          | 310,5 (274,5 - 378,5) | 0,32 |
| Kalcijski antagonisti    | 296,5 (248 - 367)                                          | 325,5 (275 - 379,3)   | 0,24 |
| Beta blokatori           | 311 (259,5 - 370)                                          | 313 (274 - 373,5)     | 0,64 |
| Centralni antiadrenergik | 311 (262,3 - 368)                                          | 315 (272,3 - 378,3)   | 0,74 |
| CRP                      |                                                            |                       |      |
| ACE inhibitori           | 3,1 (1,9 - 6,7)                                            | 3,5 (2,4 - 4,9)       | 0,87 |
| ARB                      | 3,6 (2,3 - 5,3)                                            | 2,4 (2,1 - 5,2)       | 0,33 |
| Tiazidski diuretik       | 3,7 (2,4 - 5,6)                                            | 2,9 (1,6 - 5,0)       | 0,16 |
| Kalcijski antagonisti    | 3,4 (2,3 - 4,2)                                            | 3,7 (2,2 - 6,1)       | 0,47 |
| Beta blokatori           | 3,5 (2,3 - 5,1)                                            | 3,3 (2,2 - 6,1)       | 0,81 |
| Centralni antiadrenergik | 3,4 (2,3 - 5,1)                                            | 3,5 (1,7 - 12,1)      | 0,59 |

\*Mann Whitney U test

## 5.4. Farmakoterapija

Po jedan antihipertenziv u terapiji ima 38 (36,2 %) ispitanika, njih 33 (31,4 %) dva, a 19 (18,1 %) ispitanika tri antihipertenziva. Četiri antihipertenziva uzima 7 (6,7 %), a pet samo 5 (1,9 %) ispitanika. Antihipertenzive ne uzima 6 (5,7 %) ispitanika (Slika 5.1).



Slika 5.1. Ispitanici prema broju antihipertenziva koje koriste

Središnji broj antihipertenziva koji koriste je 2 (interkvartilnog raspona od 1 do 3), u rasponu od 0 do 5.

Nema značajnih razlika u broju antihipertenziva prema spolu. Prema dobi, stariji ispitanici češće imaju po dva antihipertenziva u odnosu na mlađe ispitanike, bez značajne razlike.

Ispitanici normalne tjelesne mase [ $18,5 \leq \text{ITM} \leq 24,9$ ] koriste najčešće samo jedan antihipertenziv (interkvartilnog raspona od 0 do 3) dok ispitanici prekomjerne tjelesne mase i oni koji su pretili nešto više, no razlika između njih nije statistički značajna (Tablica 5.27).

Tablica 5.27. Broj antihipertenziva prema spolu, dobi ispitanika i indeksu tjelesne mase

|                                                | Medijan<br>(interkvartilni raspon)<br>broja antihipertenziva | Minimum -<br>maksimum | p*                |
|------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|-----------------------|-------------------|
| <b>Spol</b>                                    |                                                              |                       |                   |
| Muškarci                                       | 2 (1 - 3)                                                    | 0 - 5                 | 0,99              |
| Žene                                           | 2 (1 - 3)                                                    | 0 - 5                 |                   |
| <b>Dob ispitanika</b>                          |                                                              |                       |                   |
| do 29 godina                                   | 1 (1 - 2)                                                    | 1 - 2                 | 0,06 <sup>†</sup> |
| 30 - 39                                        | 1 (1 - 2)                                                    | 0 - 3                 |                   |
| 40 - 49                                        | 2 (1 - 3)                                                    | 0 - 5                 |                   |
| 50 - 59                                        | 2 (2 - 3)                                                    | 1 - 5                 |                   |
| 60 i više                                      | 2 (1 - 3)                                                    | 0 - 4                 |                   |
| <b>Indeks tjelesne mase (ITM)</b>              |                                                              |                       |                   |
| Normalna tjelesna masa<br>[18,5 ≤ ITM ≤ 24.9]  | 1 (1 - 2)                                                    | 0 - 3                 | 0,06 <sup>†</sup> |
| Prekomjerna tjelesna masa<br>[25 ≤ ITM ≤ 29.9] | 2 (1 - 3)                                                    | 0 - 5                 |                   |
| Pretili [ITM ≥ 30]                             | 2 (2 - 3)                                                    | 0 - 5                 |                   |
| Ukupno                                         | 2 (1 - 3)                                                    | 0 - 5                 |                   |

\*Mann Whitney U test; <sup>†</sup>Kruskal Wallis test

Prema reguliranosti hipertenzije obje skupine ispitanika (regulirana i neregulirana hipertenzija) koriste podjednak broj antihipertenziva. S obzirom na trajanje bolesti, pacijenti s duljinom bolesti više od godine dana, koriste značajno više antihipertenziva u odnosu na novootkrivene slučajeve, medijana 2 antihipertenziva (interkvartilnog raspona od 1 do 3) u rasponu od 1 do 5 antihipertenziva (Mann Whitney U test,  $P < 0,001$ ) (Tablica 5.28).

Tablica 5.28. Broj antihipertenziva prema reguliranosti hipertenzije i trajanju bolesti

|                      | Medijan<br>(interkvartilni raspon)<br>broja antihipertenziva | Minimum -<br>maksimum | P*     |
|----------------------|--------------------------------------------------------------|-----------------------|--------|
| Hipertenzija         |                                                              |                       |        |
| Regulirana           | 2 (1 - 3)                                                    | 1 - 5                 | 0,14   |
| Neregulirana         | 2 (1 - 3)                                                    | 0 - 5                 |        |
| Trajanje bolesti     |                                                              |                       |        |
| Kraće od godinu dana | 1 (1 - 2)                                                    | 0 - 3                 | <0,001 |
| Duže od godinu dana  | 2 (1 - 3)                                                    | 1 - 5                 |        |

\*Mann Whitney U test

## 6. RASPRAVA



Naše istraživanje je pokazalo da ispitanici sa nereguliranom arterijskom hipertenzijom imaju značajno veću ekspresiju TLR4 na perifernim monocitima u odnosu na ispitanike sadobro reguliranim vrijednostima AT. To bi značilo da neregulirani AT neposredno djeluje kao poticaj za aktivaciju prirodnog imunološkog odgovora. Posljedica toga može biti oštećenje ciljnih organa te daljnja progresija bolesti, njenih komplikacija, a samim tim i lošiji ishod takvih bolesnika. Nadalje, ispitanici s nereguliranim AT također su imali i nešto veću razinu IL-17A, no ipak ne do ranga statističke značajnosti. Ovdje treba uzeti u obzir mogućnost da za aktivaciju specifičnog imunološkog odgovora ipak nije dovoljna sama AH, nego i duljina njenog trajanja. Rezultati o povezanosti trajanja AH sa TLR4 i IL-17A su izneseni u nastavku rasprave.

Sama povezanost upale i hipertenzije, s fokusom na TLR4, dokazana je i u nekim ranijim istraživanjima. Tako je još 2005. godine na životinjskim modelima dokazana uloga TLR4 u razvoju hipertrofije miokarda kao posljedice AH (160). To je kasnije i potvrđeno (60, 61), a ujedno se pokazalo da ACE inhibitor (ramipril) smanjuje ekspresiju TLR4 tek u dozama koje su veće od terapijskih. Na kulturama glatkih mišićnih stanica dokazano je da AII svoje proupalne učinke ostvaruje upravo putem TLR4 (58) te da stanice koje su prethodno bile tretirane losartanom (blokator angiotenzinskih receptora tip 1) imaju nešto slabiju reakciju na angiotenzin II i ekspresiju TLR4. Anti-TLR4 antitijela su se pokazala učinkovitima u snižavanju tlaka i ekspresije TLR4 (59).

Jedno od rijetkih kliničkih istraživanja vezano za TLR4 i AH provela je Marketou sa suradnicima (73) te je dokazala da ispitanici s AH imaju višu razinu TLR4 mRNA u odnosu normotenzivne ispitanike, ali da tek intenzivno snižavanje tlaka na vrijednosti < 130/80 mmHg značajno smanjuje ekspresiju TLR2 i TLR4. Iz navedanog je razvidna važnost TLR4 u hipertenziji, ali je isto tako jasan manjak dokaza prikupljenih iz kliničke prakse.

Ukoliko je podražaj prirodnog imunološkog sustava dovoljno snažan i traje dovoljno dugo, u konačnici će dovesti i do aktivacije specifične imunosti. To se u kontekstu AH posebice odnosi na Th17 limfocite i njihov glavni citokin IL-17. Nadalje, IL-17, osim što i sam ima proupalno djelovanje, može putem NF $\kappa$ B poticati sintezu različitih proupalnih citokina i kemokina (161, 162). O važnosti IL-17 u nastanku hipertenzije, te u održavanju stanja povišenoga tlaka, osobito važnim se smatra istraživanje koje su napravili Madhur i sur. (163) Osim što su dokazali ulogu IL-17 na životinjskom modelu, u drugom dijelu istraživanja određivali su razinu ovog

interleukina u pacijenta sa šećernom bolešću tip 2 koji imaju/nemaju pridruženu i AH. Grupa ispitanika koji su imali uz šećernu bolest tip 2 još pridruženu i hipertenziju, imali su značajno višu razinu IL-17 u serumu. U istom istraživanju, kao u još nekima (164), IL-17 se pokazao bitan i za razvoj endotelne disfunkcije.

No, danas se također zna da IL-17A, osim proupalne, može imati i protektivnu ulogu. Prvi dokazi o tome iznešeni su 2009. godine na primjeru eksperimentalnog kolitisa (165). Potom je 2012. godine na životinjskim modelima dokazano da manjak IL-17A ubrzava nastanak ateroskleroze (166). Nakon toga se IL-17 pokazao protektivnim i u slučaju ozljede bubrega kao posljedicu arterijske hipertenzije: manjak IL-17A je povezan sa većom albuminurijom te sa promjenama na glomerulima (139). Osobito je interesantno istraživanje Odobasic i sur. koji su pokazali da tijekom razvoja glomerulonefritisa IL-17A ima dvojnu ulogu: u ranim fazama bolesti djeluje proupalno, no u kasnijim fazama djeluje protektivno (167). Jedno od rijetkih kliničkih istraživanja proveo je Simon sa sur. 2013. godine te su njihovi rezultati pokazali da je niža razina IL-17A nakon akutnog infarkta miokarda povezana sa lošijim ishodom (168). U ovom trenutku se sve navedeno ne može sa sigurnošću objasniti. Očito je da je uloga IL-17 kompleksnija no što se isprva smatralo.

Ono što je osobito važno za istaknuti vezano za naše istraživanje, je to da je po prvi puta dokazano da samo trajanje arterijske hipertenzije ima imunomodulacijski učinak. To vidimo iz rezultata za obje grupe ispitanika. U grupi sa dobro reguliranim AT zamijećeno je da je duže trajanje bolesti povezano sa većom ekspresijom TLR4. Nasuprot tome, u grupi sa nereguliranim AT, duže trajanje bolesti je povezano sa većom razinom IL-17A u serumu. Ovakvi rezultati govore da hipertenzija čak i kada je dobro regulirana, s vremenom ipak može biti podražaj za aktivaciju prirođene imunosti. To se vjerojatno događa jer je sama homeostaza arterijskog tlaka fino regulirani proces. Kod osoba koje boluju od AH, bez obzira na dobar uspjeh liječenja, ta homeostaza se očito ne može u potpunosti postići te s vremenom stanice prirođene imunosti ipak prepoznaju određene signale opasnosti i reagiraju na njih. Rezultat koji smo dobili za IL-17A, čija razina raste sa trajanjem neregulirane AH, u određenoj mjeri nadopunjuje rezultate nekih ranijih istraživanjima. U jednom od njih je dokazana povišena razina IL-17A u populaciji sa prehipertenzijom (135), dok je drugo istraživanje pokazalo povezanost IL-17A i asimptomatskog oštećenja ciljnih organa u bolesnika sa AH (136). Asimptomatska oštećenja ciljnih organa isključena su/potvrđena određivanjem: indeksa mase lijevog ventrikula,

retinopatije, mikroalbuminurije i debljine kompleksa karotidne intime-medije. No, do sada se niti u jednom istraživanju nije dovodilo u vezu samo trajanje neregulirane AH i IL-17A. Taj nam rezultat nedvojbeno govori o nereguliranom AT kao ozbiljnom signalu opasnosti/oštećenja.

Još jedan važan rezultat koji smo dobili je taj da odabir antihipertenzivne terapije mijenja imunološki status. To vidimo iz rezultata vezanih za beta-blokatore, diuretike i centralne antiadrenergike, koji do sada nisu nigdje drugdje objavljeni. Svi ispitanici koji su u terapiju imali uključen beta-blokator ujedno su imali i značajno nižu ekspresiju TLR4, u odnosu na one koji nisu uopće imali beta-blokatore. To razlika je bila više izražena u grupi ispitanika koji su imali dobro reguliran AT. Nadalje, svi ispitanici koji su u svojoj terapiji imali tiazidski diuretik imali su ujedno i značajno veću razinu IL-17A, a to je jače izraženo u grupi ispitanika sa nereguliranim AT. Od ukupnog broja ispitanika njih 11 su u terapiji imali centralni antiadrenergik. Oni su ujedno imali višu razinu IL-17A.

Sami beta-blokatori, odnosno blokatori beta adrenergičkih receptora, su grupa lijekova koju možemo podijeliti na selektivne i neselektivne ovisno o tome kako blokiraju beta-1 (nalaze se primarno u srcu) i beta-2 receptore (nalazimo ih u dišnim putevima, mišićima, arteriolama). U slučaju da blokiraju oba tipa beta adrenergičkih receptora, radi se o neselektivnim beta-blokatorima. Nasuprot tome, ako blokiraju pretežno beta-1 receptore, kažemo da su to selektivni beta-blokatori. Danas se u najvećoj mjeri propisuju upravo selektivni beta-blokatori, a takvu terapiju su imali i ispitanici uključeni u ovo istraživanje. Kod njih je, kako je i ranije navedeno, zabilježena značajno niža ekspresija TLR4 na perifernim monocitima u odnosu na ispitanike koji ih nemaju u svojoj terapiji.

Naime, uloga beta adrenergičkih receptora pojašnjena je u nekoliko studija, na eksperimentalnim modelima (169), ali i na humanim monocitima. Naime, Grisanti i sur. su postavili hipotezu da će povišena razina kateholamina aktivirati proupalne stanice preko beta-1 adrenergičkih receptora. Potvrdili su hipotezu i pokazali da je proupalni odgovor u ljudskim monocitima ovisan upravo o beta-1 adrenergičkim receptorima (170). Potrebno je svakako spomenuti studiju na 2340 pacijenata u kojoj se ispitivao utjecaj antihipertenzivne terapije na CRP. Rezultati su pokazali da pacijenti koji u terapiji imaju beta blokator imaju značajno niži CRP, i to bez obzira jesu li beta blokator imali kao monoterapiju ili u kombinaciji sa drugim

antihipertenzivima. U istoj studiji, ACE inhibitori i blokatori AT1 receptora su snižavali CRP samo ukoliko su bili uvedeni kao monoterapija (171).

Ovakav rezultat se uklapa u dosadašnje spoznaje o sprezi središnjeg živčanog sustava i imunosti. Već je dugo poznata činjenica da hipertenzivni pacijenti često imaju povišenu razinu noradrenalina u plazmi, u krvi koja se drenira iz SŽS te pojačanu postganglijsku simpatičku aktivnost (172-174). Zna se također da limfni čvorovi i slezena imaju bogatu simpatičku inervaciju koja završava u područjima koja obiluju T limfocitima. Nakon što oni budu aktivirani, T limfociti migriraju prema središnjem živčanom sustavu i pokreću mehanizam pozitivne povratne sprege sa pojačanom aktivnošću simpatikusa i proupalnom aktivnošću na periferiji (175, 176). Osim toga, u jednom interesantnom eksperimentalnom modelu hipertenzije se pokazalo da angiotenzin II utječe na imunološki status preko slezene, koja je kao što je rečeno bogato simpatički inervirana. Kao odgovor na AII, u slezeni dolazi do pojačane ekspresije gena za proupalne interleukine: IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-2 i IL-16 (177). S druge strane, inhibicija TLR4 u paraventrikularnoj jezgri dovodi do snižavanja AT i upalnog odgovora (69).

Naši su rezultati također pokazali da su tiazidski diuretici povezani sa značajno višom razinom IL-17A, što je jače izraženo u grupi ispitanika sa nerereguliranim AT. To je bilo evidentno bez obzira na preostalu antihipertenzivnu terapiju koju su bolesnici uzimali. Ovi diuretici imaju natriuretski učinak koji kompenzatorno može aktivirati renin-angiotenzinski sustav, kao i SŽS. Taj kompenzacijski učinak pogoduje vazokonstrikciji i retenciji natrija što umanjuje učinke samih tiazida (178). Također, aktivirani reninski sustav, primarno preko AII, i sam ima različite proupalne efekte. To uključuje diferencijaciju Th17 limfocita (179) kao i poticaj na lučenje IL-17 (163). Tiazidski diuretici imaju i različite negativne metaboličke učinke. Stoga bi se pokretanje imunološkog odgovora u pacijenata sa ovom grupom lijekova mogla isto tako dogoditi putem određenih mehanizama unutar tog negativnog metaboličkog učinka. U svakom slučaju, u ovom trenutku ne možemo dati konačni odgovor na ovo pitanje. Rezultat koji smo dobili mogao bi biti predmet dodatnih istraživanja.

Gledajući rezultate za lijekove iz grupe ACE inhibitora i blokatora AT1 receptora, nismo dobili značajnu razliku ekspresije TLR4 i IL-17A u pacijenata koji ih imaju u svojoj terapiji. To je naizgled čudno s obzirom da se smatra da upravo oni imaju različite protuupalne učinke (180,

181). No, postoje istraživanja sa drugačijim rezultatima. Navalkar i sur. su određivali TNF $\alpha$ , VCAM-1 i superoksid u bolesnika sa koronarnom bolešću kojima je u terapiju uveden blokator AT1 receptora. Unutar prvih 12 tjedana je došlo do značajnog pada sva tri proinflammatory markera, no nakon 24 tjedna terapije, njihove su vrijednosti bile jednake onima u kontrolnoj grupi (182). Uzevši u obzir tu činjenicu, može se reći da protuupalni učinci ove grupe lijekova nisu u potpunosti jednoznačni.

Nadalje, od ukupnog broja ispitanika u ovom istraživanju, njih svega 11 su u terapiji imali centralni antiadrenergik. No, kod njih je zamojećena značajno viša razina IL-17A. U ovom trenutku je to teško sa sigurnošću objasniti, osobito s obzirom da se radi o svega 11 ispitanika. Ipak, moguće je da se na ovom primjeru može raditi o protuupalnom učinku IL-17A. Ranije je već navedeno da postoje o tome dokazi, te da IL-17 ima i pro- i protuupalne efekte. To je još jedna činjenica koja će zahtijevati dodatna istraživanja.

U našoj smo se studiji pridržavali definicije AH sa graničnim vrijednostima tlaka 140/90 mmHg, kao što je i preporučeno u posljednjim ESH-ESC smjernicama (1). No to zapravo datira još sa početka 20. stoljeća jer je tada 5-10% odrasle populacije u Sjedinjenim američkim državama imalo vrijednosti tlaka takvih vrijednosti (183). No, sada je situacija ipak znatno drugačija. Procjenjuje se da će do 2025. godine od AH bolovati oko 1,56 milijardi ljudi (413 milijuna iz razvijenih i 1,15 milijardi iz zemalja u razvoju) (184). U tom kontekstu treba imati na umu točnost mjerenja tlaka jer razlika od 5 mmHg može promijeniti prosudbu o prevalenciji AH u općoj populaciji za više od 10% (185). Ovome treba pridodati da je prema nekim padacima tek nešto više od 50% oboljelih od hipertenzije svjesno svoje bolesti (186). Danas su na raspolaganju brojni i različiti tlakomjeri, a u liječničkim ordinacijama i bolnicama sve do nedavno još su se koristili i živini tlakomjeri koji su bili „zlatni standard“. Danas se to polako napušta. Međunarodna stručna društva umjesto živina tlakomjera priznaju automatske oscilometrijske uređaje, uz uvjet da su prošli i zadovoljili vrednovanje međunarodnih nezavisnih stručnih udruga (1, 187-189). Jedan od takvih je i Omron M6 Comfort korišten u ovom istraživanju.

Ako se pogledaju podaci o ispitanicima koji su bili uključeni u ovu studiju vidimo da su zastupljenije žene, njih 63 (60 %) u odnosu na muškarce, od kojih značajno više, njih 37 (69,8 %) iz skupine s reguliranim arterijskim tlakom. S obzirom na dob značajno su stariji

ispitanici s nereguliranim arterijskim tlakom, srednje dobi 51 godinu, značajno je veći opseg struka kod ispitanika nereguliranog AT, srednje vrijednosti 97 cm. Vrijednosti kreatinina također su značajno više u skupini ispitanika sa nereguliranim AT, a sukladno tome je klirens kreatinina značajno viši kod ispitanika s reguliranim AT. Ispitanici s nereguliranim AT imaju značajno više vrijednosti ukupnog kolesterola, ali i lipoproteina visoke gustoće (HDL) koji se smatra zaštitničkim s obzirom na KV incidente. Ovakav rezultat možemo objasniti upravo činjenicom da su u ovu studiju i bili uključeni samo oni pacijenti koji do trenutka uključivanja u studiju nisu imali nikakvih KV događaja. Veća zastupljenost žena, i to više u grupi sa reguliranim tlakom koja je i značajno mlađa grupa, se poklapa sa poznatim činjenicama da su faktori poput mlađe životne dobi i ženskog spola uglavnom povezani sa boljom suradljivošću i redovitijim uzimanjem terapije.

Kako je navedeno, stariji ispitanici u ovoj studiji su ujedno i lošije regulirani. O tome se često govori, a objašnjava se na nekoliko načina: prevladavajućom izoliranom sistoličkom hipertenzijom u toj dobi, a sistolički tlak je teže kontrolirati od dijastoličkog te ustaljenim i pogrešnim mišljenjem da su ciljne vrijednosti tlaka u starijih osoba više nego u mlađih. Sadašnje smjernice i studije govore drugačije, te upozoravaju da i u vrlo starih osoba dobra kontrola AH smanjuje i kardiovaskularnu i ukupnu smrtnost (1, 190). Ovo je jako važno jer osim što prevalencija AH raste s dobi u oba spola, sve je veći udio starije populacije. Prema kriterijima Svjetske zdravstvene organizacije, starija dobna skupna može se podijeliti na: raniju starost 65-74 godine, srednju starost 75–84 godine te duboku starost od 85 i više godina. Poput većine europskih zemalja, Republika Hrvatska pripada državama sa vrlo starim stanovništvom: 17,7% stanovnika je u dobi 65 i više godina (758.633 osoba 65 godina i više). U raspodjeli starijeg stanovništva izražene su spolne razlike. Prema popisu stanovništva iz 2011. godine broj muškaraca starijih od 65 godina iznosi 296.208, a žena ove dobi 462.425. Udio žena u ukupnom broju starijih osoba raste s dobi i kreće se od 57% u dobnoj skupini 65-74 do 75% u najstarijoj dobnoj skupini (5). To samo znači da već sada, a to će biti samo još više naglašeno u budućnosti, starija populacija čini veći dio našeg svakodnevnog kliničkog rada i moramo biti dovoljno senzibilizirani na tu činjenicu.

Treba podsjetiti da liječenje arterijske hipertenzije inače ima dva osnovna cilja: snižavanje AT per se, ali isto tako i smanjenje ukupnog kardiovaskularnog rizika. Nekoliko je osnovnih elemenata u liječenju AH: dijetetske mjere, promjena životnih navika, te farmakološka terapija.

Poznato je da mali broj bolesnika sa AH ima samo povišene vrijednosti tlaka, dok ih velika većina ima pridružene druge čimbenike KV rizika (dob, pušenje, dislipidemije, poremećaji metabolizma glukoze, pretilost, pozitivna obiteljska anamneza, prisutnost supkliničkih oštećenja organa te prisutna šećerna, KV ili bubrežna bolest). Zato odluka o liječenju osoba s visokim AT ne ovisi samo o vrijednosti tlaka nego i o ukupnom KV riziku (1). Bez obzira na veliki napredak i stalne inovacije u farmakoterapiji AH, dijetetske mjere i promjena životnih navika i dalje se smatraju osnovnom mjerom u liječenju AH. One podrazumijevaju prestanak pušenja, smanjenje i stabilizaciju tjelesne mase (održavati BMI  $<25\text{kg/m}^2$ ) (1) smanjenje prekomjernog unosa alkohola, tjelesna aktivnost (30-45 minuta dnevne aktivnosti) (1), smanjenje unosa kuhinjske soli (max do 5 g natrijevog klorida (1)), povećanje unosa voća i povrća i smanjenje unosa zasićenih i ukupnog unosa masti (191). Nažalost, ustrajnost u njihovoj primjeni izuzetno je niska (192). U Hrvatskoj od 2007. godine imamo inicijativnu za smanjenje prekomjernog unosa kuhinjske soli CRASH (Croatian Action on Salt and Health). Prvi rezultati pokazali su da je prosječni dnevni unos soli u našoj populaciji visoko iznad preporučenih (muškarci  $13,3 \pm 4,3$  g, žene  $10,2 \pm 4,2$  g) (193), čak je i u dječjoj populaciji unos soli veći od preporučenog (194).

Gledajući farmakoterapiju u ovom istraživanju, ispitanici su u terapiju imali uključene: 67 (63,8 %) ispitanika ACE inhibitore, 32 ispitanika (30,5%) tiazidski diuretik, 58 (55,2%) ispitanika kalcijске antagoniste, beta blokatore 21 (20 %) ispitanik, a centralne antiadrenergike 11 (9,5 %) ispitanika, bez značajne razlike u broju ispitanika prema skupinama. Paradoks s kojim se danas susrećemo je taj da na raspolaganju imamo sve veću paletu farmakoterapijskih pripravaka, a istovremeno je postotak dobro reguliranih pacijenata sa AH i dalje nedovoljan (6). Razlozi neuspjeha u postizanju ciljnih vrijednosti AT su najčešće: slaba suradljivost pacijenta radi potrebe za dugogodišnjim kontinuiranim uzimanjem lijekova, potreba za uzimanjem 2 ili više antihipertenziva, subdoziranje lijekova, inercija liječnika i dr. Među našim ispitanicima po jedan antihipertenziv u terapiji ima 38 (36,2 %) ispitanika, njih 33 (31,4 %) dva, a 19 (18,1 %) ispitanika tri antihipertenziva. Četiri antihipertenziva uzima 7 (6,7 %), a pet samo 5 (1,9 %) ispitanika. Također, više antihipertenziva u terapiji imaju stariji ispitanici te oni koji imaju prekomjernu tjelesnu masu i oni koji su pretili, iako ovi rezultati nisu u rangui statističke značajnosti. Značajno je da bolesnici sa hipertenzijom koja traje duže od godinu dana, uzimaju statistički značajno više antihipertenziva u odnosu na one čija AH traje kraće od godinu dana.

Ekspresija TLR4 i razina IL-17A u našem istraživanju nisu pokazali povezanost s obzirom na dob, spol, pušenje, lipidogram i tjelesnu masu, iako su ispitanici koji po vrijednostima indeksa tjelesne mase pripadaju pretilima imali nešto više vrijednosti TLR4 i IL-17A, no bez statistički značajne razlike u odnosu na ispitanike s prekomjernom ili normalnom tjelesnom masom. Usporedba navedenih parametara koji nisu pokazali povezanost sa TLR4 i IL-17A vjerojatno zahtijeva veći uzorak, detaljnije karakteristike/podatke o parametrima kako bi se ovi trendovi mogli do kraja razjasniti što možda može biti temelj nekih daljnjih istraživanja.

Također, ovo istraživanje nije dokazalo međusobnu povezanost ekspresije TLR4 i razine IL-17A. To bi se možda moglo objasniti pretpostavkom da su u kaskadi imunološke reakcije oni aktivirani u različitom vremenskom odmaku od primarnog podražaja, te da prirodna i specifična imunost ne mogu biti podjednako izražene u određenom trenutku imunološke reakcije. No, ovo je zasigurno još jedna tema koja bi zahtijevala dodatne studije.

Razlog zbog kojeg smo određivali CRP i urate je taj što su oni u pojedinim, premda ne u svim, studijama pokazali određenu povezanost sa arterijskom hipertenzijom. Od svog otkrića 1930. godine (195) CRP je poznat kao protein kojeg primarno sintetiziraju hepatociti na poticaj IL-6 i TNF $\alpha$  (196). On je jedan od glavnih proteina akutne faze upale, no dobro je poznata činjenica da postoje isto tako i značajne razlike njegove vrijednosti u serumu i kod potpuno zdravih pojedinaca (197). Treba reći kako je povišeni CRP nađen u osoba sa hipertenzijom (198, 199), u pretilih te u onih sa dislipidemijom (200-202). Posljednjih 15-ak godina pojavile su se spoznaje da on može biti i prediktor budućih KV događaja (203-209). U određenoj je mjeri prihvaćeno da se vrijednosti CRP-a  $\geq 3$  mg/L mogu interpretirati na način da uvećavaju KV rizik za 20% u periodu od narednih 10 godina (210), iako kod nekih autora postoji i nepovjerenje prema takvom tumačenju (211). Studije kojima se do sada pokušalo dovesti u vezu CRP i rizik od nastanka hipertenzije u promatranom periodu pokazuju bitno različite rezultate (202, 212-218).

Sve navedene studije su uključivale veliki broj ispitanika, ukupno više od 50,000. No, populacija je iznimno heterogena te je shodno tome bilo teško iznijeti jedan zajednički zaključak. Nedavno je istraživanje na 2,500 normotenzivnih mušaraca pokazalo značajniju prediktivnu ulogu fibrinogena u odnosu na CRP za razvoj hipertenzije, te da fizička aktivnost



smanjuje rizik za razvoj hipertenzije, neovisno o visokim vrijednostima CRP-a (219). Također imamo rezultate studija u koje su bili uključeni pacijenti koji već imaju hipertenziju ili su u grupi prehipertenzije, a u kojima se pokušalo dovesti u vezu vrijednosti CRP-a u tih pacijenata sa rizikom za cerebrovaskularne incidente u odnosu na normotenzivne ispitanike (220, 221). Rezultati su uglavnom ujednačeni te pokazuju da je kombinacija AH i uvećanog CRP-a bitna u prognostičkom smislu. No, ovdje treba nadodati da se u studiji provedenoj u Brazilu vrijednost CRP-a  $\geq 3$  mg/L (koja je ranije spomenuta kao „cutt-off“) nije pokazala kao prognostički bitna (204). Kako možemo vidjeti, CRP još uvijek izaziva određene kontroverze. Između ostalog, postavlja se pitanje, je li CRP samo jedan od sudionika u kaskadi upale i hipertenzije ili je jedan od pokretača? Za sada nema sigurnog odgovora. Zasigurno se ne možemo voditi CRP-om u svakodnevnom radu npr. prilikom uvođenja antihipertenzivne terapije, no može nam pomoći u razmišljanju o KV riziku. Rezultati za CRP koji su dobiveni u ovom istraživanju su u najvećoj mjeri u suglasnosti sa dosadašnjim spoznajama. CRP je u ovom istraživanju pokazao značajnu povezanost sa prekomjernom tjelesnom masom, odnosno sa ITM, i povišenim trigliceridima. Nismo našli značajnu razliku u vrijednostima CRP-a prema reguliranosti tlaka, TLR4, IL-17A, antihipertenzivnoj terapiji i dobi. Na prvi pogled bismo mogli očekivali da će ispitanici sa nereguliranom AH imati značajno veći CRP u odnosu na dobro regulirane hipertenzivne ispitanike. Postavlja se pitanje zašto nema te razlike? U obzir dolazi nekoliko objašnjenja. Kao prvo, populacija ispitanika je u ovoj studiji drugačija jer se u obje grupe nalaze pacijenti koji imaju hipertenziju, dok većina studija uspoređuje pacijente sa hipertenzijom i zdrave pojedince. Osim toga, broj ispitanika je u ovom istraživanju vjerojatno nije dovoljno velik. Može se pretpostaviti da će rezultati za neke nalaze koji nisu visoko specifični, a CRP nije visoko specifičan za hipertenziju, više ovisiti o što većem broju ispitanika (222).

Slični rezultati vrijede i za urate. Nismo našli značajnu razliku u vrijednostima urata prema reguliranosti tlaka, TLR4, IL-17A, prema antihipertenzivnoj terapiji niti dobi. Vrijednosti urata značajno su više kod muškaraca u odnosu na žene te kod pretilih ispitanika. U skupini svih ispitanika najveća povezanost je između indeksa tjelesne mase i urata. U skupini ispitanika sa reguliranim AT, urati i IL-17A su obrnuto proporcionalne veličine. U skupini ispitanika sa nereguliranim AT, ispitanici s većim indeksom tjelesne mase imaju veće vrijednosti urata, a uz niže vrijednosti urata HDL pokazuje više vrijednosti. Urati su krajnji produkt metabolizma purina i gotovo se u potpunosti filtriraju u glomerulima, te je za nastanak hiperuricemije u prvom redu odgovorna nedostatna ekskrecija bubrezima, a tek manjim dijelom povećana sinteza urata. Sama hiperuricemija se definira kao razina urata viša od dvije standardne

devijacije od prosjeka (420  $\mu\text{mol/l}$  u muškaraca, 360  $\mu\text{mol/l}$  u žena). To je koncentracija bliska granici topljivosti urata. Kad koncentracije prijeđe 380  $\mu\text{mol/l}$ , raste rizik ulaganja kristala mononatrijevog urata u tkiva. Hiperuricemija je povezana sa aterosklerozom (223, 224), endotelnom disfunkcijom (225), metaboličkim sindromom (226), može utjecati na ravnotežu renin-angiotenzinskog sustava (227), a također se smatra i prediktivnim čimbenikom za razvoj hipertenzije, osobito kod mlađih osoba (228, 229), a nešto manje u odrasloj populaciji (230).

No, postavlja se pitanje mogu li urati biti neovisni čimbenik rizika za KV bolesti ili ne? Postoje studije koje to potvrđuju (231, 232), ali isto tako i one koje to demantiraju (233, 234).

Ono što je od ranije poznato, a i u ovom istraživanju je potvrđeno, da su povišeni urati vezani za muški spol i pretilost (235-237). Također smo dobili povezanost nižih vrijednosti urata sa visokim HDL-om što je i za očekivati s obzirom da se upravo niži urati i povišen HDL smatraju protektivnima u smislu KV bolesti, što se također poklapa sa nekim prethodnim istraživanjima (238). U skupini ispitanika sa reguliranim AT, urati i IL-17A su obrnuto proporcionalne veličine što se u prvi trenutak čini nelogičnim. No, ako se vratimo na činjenicu da IL-17A može imati i pro- i protuupalno djelovanje, moguće je takav rezultat možda objasniti na taj način.

Uzevši u obzir sve navedeno u ovoj disertaciji i pretpostavku da će do 2025. godine od arterijske hipertenzije bolovati 1,5 milijarda ljudi (184) jasno je da se radi o velikom zdravstvenom problemu kako za pojedinca, tako i za čitavu zajednicu. Rješenje tog problema nije jednostavno, a svoj doprinos će u budućnosti zasigurno nastaviti pružati i znanstvenici i liječnici iz javnozdravstvenog i iz kliničkog područja. Arterijska hipertenzija je čimbenik rizika koji se može i mora modificirati.

## **7. ZAKLJUČCI**

1. izražaj TLR4 značajno je viši u ispitanika sa nereguliranom hipertenzijom
2. razina IL – 17A, iako je nešto viša u ispitanika sa nereguliranom hipertenzijom, značajno se ne razlikuje u odnosu na ispitanike sa dobro reguliranom hipertenzijom

3. kod svih ispitanika, dulje trajanje bolesti je povezano sa višom razinom IL-17A u serumu. To je značajnije izraženo u grupi sa nereguliranom hipertenzijom.
4. dulje trajanje bolesti u skupini ispitanika sa reguliranim arterijskim tlakom povezano je sa većom ekspresijom TLR4
5. nema značajne povezanosti dobi, spola, lipidograma ili pušenja s TLR4 i IL-17A, kako kod svih ispitanika kao i u skupinama
6. nismo našli povezanost između izražaja TLR4 i razine IL-17A u serumu
7. antihipertenzivna terapija ima imunomodulirajući učinak, i to na način:
  - a) ispitanici u skupini dobro regulirane hipertenzije imaju slabiji izražaj TLR4 ukoliko u terapiji imaju beta-blokator
  - b) razina IL-17A je povišena u svih ispitanika koji u terapiji imaju tiazidski diuretik, što je značajnije izraženo u grupi ispitanika sa nereguliranom arterijskom hipertenzijom
  - c) u grupi svih ispitanika bolesnici koji imaju centralni antiadrenergik imaju značajno veću razinu IL-17A
8. antihipertenzivi koji djeluju na RAAS ne mijenjaju u značajnoj mjeri ekspresiju TLR4 ili razinu IL-17A

## **8. SAŽETAK**

Cilj istraživanja: Ispitati povezanost ekspresije TLR4 na perifernim monocitima i razine interleukina 17A u serumu sa primarnom arterijskom hipertenzijom, istražiti povezanost duljine trajanja hipertenzije i vrste antihipertenzivne terapije sa ekspresijom TLR4 i razinom interleukina 17A.

Nacrt studije: Istraživanje je koncipirano kao presječna usporedna studija.

Ispitanici i metode: U studiju je bilo uključeno 105 ispitanika koji su bili podijeljeni u dvije skupine. U prvoj skupini bila su 52 ispitanika sa nereguliranom primarnom arterijskom hipertenzijom. U drugoj, kontrolnoj, skupini bila su 53 bolesnika sa dobro reguliranom AH. Svim ispitanicima je protočnom citometrijom određena ekspresija TLR4, a razinu IL-17A ELISA metodom. Povišenim tlakom smatrao se tlak veći od 140/90 mmHg, sukladno smjernicama ESH/ESC iz 2013. godine. Svim ispitanicima uzeta je kompletna anamneza, podaci o lijekovima, fizikalni status i laboratorijski nalazi. Laboratorijski i slikovno je isključena sekundarna arterijska hipertenzija. Bubrežna funkcija se procjenjivala iz nalaza klirensa endogenog kreatinina i proteinurije, te korištenjem CKD-Epi formule za izračun glomerularne filtracije.

Rezultati: izražaj TLR4 veći u grupi ispitanika sa nereguliranom hipertenzijom (25.60 vs. 21.99,  $P=0.011$ ). Duljina trajanja bolesti u toj istoj skupini povezana je sa višom razinom IL-17A ( $\rho=0.566$ ,  $P<0.001$ ). U grupi ispitanika sa dobro reguliranim tlakom duljina trajanja bolesti je povezana sa većom ekspresijom TLR4 ( $\rho=0.322$ ,  $P=0.020$ ). Kod svih ispitanika koji u terapiji imaju tiazidski diuretik značajno je viša razina IL-17A, a to je bilo nešto jače izraženo u grupi ispitanika sa nereguliranom hipertenzijom (1.41 vs. 2.01 pg/ml,  $P<0.001$ ; controlled 1.3 vs. 1.8 pg/ml,  $P=0.023$ ; non-controlled 1.6 vs. 2.3 pg/ml,  $P=0.001$ ). U grupi sa dobro reguliranom hipertenzijom slabiji izražaj TLR4 bio je povezan sa beta-blokatorima (18.9 vs. 24.1,  $P=0.001$ ). U grupi svih ispitanika, oni koji u terapiji imaju centralni antiadrenergik, razina IL-17A je značajno viša (1.69 vs. 2.1 pg/ml,  $P=0.01$ ). Lijekovi iz grupe ACE inhibitora i blokatora angiotenzinskih receptora nisu značajnije mijenjali ekspresiju TLR4 ili razinu IL-17A. Nismo našli povezanost izražaja TLR4 i IL-17A.

Zaključak: Možemo reći da sama arterijska hipertenzija, kao i njeno trajanje te odabir antihipertenzivne terapije moduliraju imunološki status čak i onda kada se smatra da su vrijednosti tlaka dobro regulirane.

Ključne riječi: arterijska hipertenzija, upala, Toll-like receptori, Interleukin 17, prirođena imunost, stečena imunost

## **9. SUMMARY**

### **Interleukin 17A and Toll-like receptor 4 in patients with arterial hypertension**

Objectives: We evaluated TLR4 expression on peripheral monocytes, IL-17A serum concentration in hypertensive patients. We also evaluated if the type of the used anti-hypertension drugs influenced TLR4 expression or IL-17A concentration and if hypertension duration contributed to TLR4 expression or IL-17A serum concentration.

Study design: observational cross-sectional case control study.

Material and methods: We enrolled 105 non-complicated otherwise healthy hypertensive patients: 53 controlled and 52 non-controlled. TLR4 peripheral monocyte expression and serum IL-17A levels were determined by flow cytometry and ELISA, respectively. Unregulated hypertensive patients were those with the blood pressure over 140/90 mmHg according to the „2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension“. Complete medical history was obtained from the patients and they received a complete clinical examination as well as routine laboratory analysis. Secondary hypertension was excluded using laboratory and radiological imaging methods.

Results: Non-controlled patients exhibited higher TLR4 expression than controlled (25.60 vs. 21.99,  $P=0.011$ ). TLR4 expression was lower in controlled patients who were prescribed beta blockers (18.9 vs. 24.1,  $P=0.001$ ) and IL-17A concentration was higher in patients using diuretics in either group (1.41 vs. 2.01 pg/ml,  $P<0.001$ ; controlled 1.3 vs. 1.8 pg/ml,  $P=0.023$ ; non-controlled 1.6 vs. 2.3 pg/ml,  $P=0.001$ ) or central antiadrenergics (1.69 vs. 2.1 pg/ml,  $P=0.01$ ). Correlation between IL-17A concentration and hypertension duration was observed in non-controlled patients (Spearman Coeff. Corr.  $\rho=0.566$ ,  $P<0.001$ ) whereas in controlled a correlation was found between hypertension duration and TLR4 expression ( $\rho=0.322$ ,  $P=0.020$ ). We found no correlation between IL17 level and TLR 4 expression. No significant differences were observed in TLR4 expression or IL-17A levels in the patients who received ACE inhibitors and AT1 receptor blockers.

Conclusion: Arterial hypertension stimulates the immune response regardless of regulation status. Prolonged hypertension influences peripheral monocyte TLR4 expression and IL-17A serum levels. Anti-hypertensive drugs have different immunomodulatory effects: diuretics are associated with higher IL-17A concentration and beta-blockers with lower TLR4 expression.

**Keywords** Arterial hypertension · Toll-like receptor 4 · Interleukin 17A · Innate immunity · Adaptive immunity

## **10. LITERATURA**

1. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redon J, Zanchetti A, Bohm M, et al. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Journal of hypertension*. 2013;31(7):1281-357.
2. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R. 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;360(9349):1903-13.
3. Collaborators GBDRE, Forouzanfar MH, Alexander L, Anderson HR, Bachman VF, Biryukov S, et al. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks in 188

- countries, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2015;386(10010):2287-323.
4. Townsend N, Wilson L, Bhatnagar P, Wickramasinghe K, Rayner M, Nichols M. Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update 2016. *European heart journal*. 2016;37(42):3232-45.
  5. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Hrvatski zdravstveno-statistički ljetopis za 2015. godinu. Zagreb. 2016.
  6. Jelakovic B, Zeljkovic-Vrkic T, Pecin I, Dika Z, Jovanovic A, Podobnik D, et al. [Arterial hypertension in Croatia. Results of EH-UH study]. *Acta Med Croatica*. 2007;61(3):287-92.
  7. James PA, Oparil S, Carter BL, Cushman WC, Dennison-Himmelfarb C, Handler J, et al. 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). *Jama*. 2014;311(5):507-20.
  8. Takamura Y, Shimokawa H, Zhao H, Igarashi H, Egashira K, Takeshita A. Important role of endothelium-derived hyperpolarizing factor in shear stress--induced endothelium-dependent relaxations in the rat mesenteric artery. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 1999;34(3):381-7.
  9. Davies PF. Hemodynamic shear stress and the endothelium in cardiovascular pathophysiology. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2009;6(1):16-26.
  10. Verlohren S, Muller DN, Luft FC, Dechend R. Immunology in hypertension, preeclampsia, and target-organ damage. *Hypertension*. 2009;54(3):439-43.
  11. Schiffrin EL. The flame that lights the fire: oxidative stress, inflammation, and renal damage in angiotensin II-induced hypertension. *Hypertension*. 2008;52(2):205-6.
  12. Harrison DG, Vinh A, Lob H, Madhur MS. Role of the adaptive immune system in hypertension. *Current opinion in pharmacology*. 2010;10(2):203-7.
  13. Schiffrin EL. T lymphocytes: a role in hypertension? *Current opinion in nephrology and hypertension*. 2010;19(2):181-6.
  14. White FN, Grollman A. Autoimmune Factors Associated with Infarction of the Kidney. *Nephron*. 1964;1:93-102.
  15. Olsen F. Type and course of the inflammatory cellular reaction in acute angiotensin-hypertensive vascular disease in rats. *Acta pathologica et microbiologica Scandinavica Section A, Pathology*. 1970;78(2):143-50.
  16. Dzielak DJ. Immune mechanisms in experimental and essential hypertension. *Am J Physiol*. 1991;260(3 Pt 2):R459-67.
  17. Purcell ES, Wood GW, Gattone VH, 2nd. Immune system of the spontaneously hypertensive rat: II. Morphology and function. *Anat Rec*. 1993;237(2):236-42.
  18. Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self. *Science*. 2002;296(5566):301-5.
  19. Murray PJ, Allen JE, Biswas SK, Fisher EA, Gilroy DW, Goerdts S, et al. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity*. 2014;41(1):14-20.
  20. Mian MO, Barhoumi T, Briet M, Paradis P, Schiffrin EL. Deficiency of T-regulatory cells exaggerates angiotensin II-induced microvascular injury by enhancing immune responses. *Journal of hypertension*. 2016;34(1):97-108.
  21. Barhoumi T, Kasal DA, Li MW, Shbat L, Laurant P, Neves MF, et al. T regulatory lymphocytes prevent angiotensin II-induced hypertension and vascular injury. *Hypertension*. 2011;57(3):469-76.



22. Anderson KV, Jurgens G, Nusslein-Volhard C. Establishment of dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: genetic studies on the role of the Toll gene product. *Cell*. 1985;42(3):779-89.
23. Connor S. Nobel prize given for work on fruit flies. *BMJ*. 1995;311(7012):1044.
24. Gay NJ, Keith FJ. *Drosophila* Toll and IL-1 receptor. *Nature*. 1991;351(6325):355-6.
25. Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, Reichhart JM, Hoffmann JA. The dorsoventral regulatory gene cassette *spatzle*/Toll/*cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell*. 1996;86(6):973-83.
26. Nomura N, Miyajima N, Sazuka T, Tanaka A, Kawarabayashi Y, Sato S, et al. Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. I. The coding sequences of 40 new genes (KIAA0001-KIAA0040) deduced by analysis of randomly sampled cDNA clones from human immature myeloid cell line KG-1 (supplement). *DNA Res*. 1994;1(1):47-56.
27. Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA, Jr. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature*. 1997;388(6640):394-7.
28. Volchenkov R, Sprater F, Vogelsang P, Appel S. The 2011 Nobel Prize in physiology or medicine. *Scandinavian journal of immunology*. 2012;75(1):1-4.
29. Janeway CA, Jr., Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annual review of immunology*. 2002;20:197-216.
30. Medzhitov R, Janeway C, Jr. Innate immunity. *N Engl J Med*. 2000;343(5):338-44.
31. Rifkin IR, Leadbetter EA, Busconi L, Viglianti G, Marshak-Rothstein A. Toll-like receptors, endogenous ligands, and systemic autoimmune disease. *Immunological reviews*. 2005;204:27-42.
32. Jin MS, Lee JO. Structures of the toll-like receptor family and its ligand complexes. *Immunity*. 2008;29(2):182-91.
33. Faure E, Equils O, Sieling PA, Thomas L, Zhang FX, Kirschning CJ, et al. Bacterial lipopolysaccharide activates NF-kappaB through toll-like receptor 4 (TLR-4) in cultured human dermal endothelial cells. Differential expression of TLR-4 and TLR-2 in endothelial cells. *The Journal of biological chemistry*. 2000;275(15):11058-63.
34. Frantz S, Ertl G, Bauersachs J. Mechanisms of disease: Toll-like receptors in cardiovascular disease. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2007;4(8):444-54.
35. Stoll LL, Denning GM, Weintraub NL. Potential role of endotoxin as a proinflammatory mediator of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24(12):2227-36.
36. Roach JC, Glusman G, Rowen L, Kaur A, Purcell MK, Smith KD, et al. The evolution of vertebrate Toll-like receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005;102(27):9577-82.
37. Kawai T, Akira S. The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition. *International immunology*. 2009;21(4):317-37.
38. O'Neill LA, Golenbock D, Bowie AG. The history of Toll-like receptors - redefining innate immunity. *Nat Rev Immunol*. 2013;13(6):453-60.
39. Kawasaki T, Kawai T. Toll-like receptor signaling pathways. *Front Immunol*. 2014;5:461.
40. Qureshi ST LL, Leveque G, et al. . Endotoxin-tolerant mice have mutations in Toll-like receptor 4 (Tlr4). *The Journal of experimental medicine*. 1999;189(4):615-25.
41. Poltorak A HX, Smirnova I, et al. . Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. *Science*. 1998;New York, NY 1998; 282(5396):2085-8.

42. Vabulas RM A-NP, da Costa C, et al. . Endocytosed HSP60s use toll-like receptor 2 (TLR2) and TLR4 to activate the toll/interleukin-1 receptor signaling pathway in innate immune cells. . *The Journal of biological chemistry*. 2001;276(33):31332-9.
43. Goulopoulou S, McCarthy CG, Webb RC. Toll-like Receptors in the Vascular System: Sensing the Dangers Within. *Pharmacological reviews*. 2016;68(1):142-67.
44. Edfeldt K, Swedenborg J, Hansson GK, Yan ZQ. Expression of toll-like receptors in human atherosclerotic lesions: a possible pathway for plaque activation. *Circulation*. 2002;105(10):1158-61.
45. Yamamoto M, Sato S, Hemmi H, Uematsu S, Hoshino K, Kaisho T, et al. TRAM is specifically involved in the Toll-like receptor 4-mediated MyD88-independent signaling pathway. *Nat Immunol*. 2003;4(11):1144-50.
46. Yamamoto M, Sato S, Hemmi H, Sanjo H, Uematsu S, Kaisho T, et al. Essential role for TIRAP in activation of the signalling cascade shared by TLR2 and TLR4. *Nature*. 2002;420(6913):324-9.
47. O'Neill LA, Bowie AG. The family of five: TIR-domain-containing adaptors in Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol*. 2007;7(5):353-64.
48. Beutler B. Inferences, questions and possibilities in Toll-like receptor signalling. *Nature*. 2004;430(6996):257-63.
49. Yamamoto M, Sato S, Mori K, Hoshino K, Takeuchi O, Takeda K, et al. Cutting edge: a novel Toll/IL-1 receptor domain-containing adapter that preferentially activates the IFN-beta promoter in the Toll-like receptor signaling. *Journal of immunology*. 2002;169(12):6668-72.
50. Singh MV CM, Chapleau MW, Abboud FM. Selective pathways of innate immune responses of heart and kidney during angiotensin II hypertension. In: *Experimental Biology 2014*. San Diego, CA: 2014, p. A54–A857.851) (100-29).
51. Singh MV, Swaminathan PD, Luczak ED, Kutschke W, Weiss RM, Anderson ME. MyD88 mediated inflammatory signaling leads to CaMKII oxidation, cardiac hypertrophy and death after myocardial infarction. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2012;52(5):1135-44.
52. Horng T, Barton GM, Medzhitov R. TIRAP: an adapter molecule in the Toll signaling pathway. *Nature immunology*. 2001;2(9):835-41.
53. Kagan JC, Su T, Horng T, Chow A, Akira S, Medzhitov R. TRAM couples endocytosis of Toll-like receptor 4 to the induction of interferon-beta. *Nature immunology*. 2008;9(4):361-8.
54. Husebye H, Aune MH, Stenvik J, Samstad E, Skjeldal F, Halaas O, et al. The Rab11a GTPase controls Toll-like receptor 4-induced activation of interferon regulatory factor-3 on phagosomes. *Immunity*. 2010;33(4):583-96.
55. Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nature immunology*. 2010;11(5):373-84.
56. Sasai M, Linehan MM, Iwasaki A. Bifurcation of Toll-like receptor 9 signaling by adaptor protein 3. *Science*. 2010;329(5998):1530-4.
57. McCarthy CG, Goulopoulou S, Wenceslau CF, Spitler K, Matsumoto T, Webb RC. Toll-like receptors and damage-associated molecular patterns: novel links between inflammation and hypertension. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2014;306(2):H184-96.
58. Ji Y, Liu J, Wang Z, Liu N. Angiotensin II induces inflammatory response partly via toll-like receptor 4-dependent signaling pathway in vascular smooth muscle cells. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*. 2009;23(4-6):265-76.

59. Bomfim GF, Dos Santos RA, Oliveira MA, Giachini FR, Akamine EH, Tostes RC, et al. Toll-like receptor 4 contributes to blood pressure regulation and vascular contraction in spontaneously hypertensive rats. *Clinical science*. 2012;122(11):535-43.
60. Eissler R, Schmaderer C, Rusai K, Kuhne L, Sollinger D, Lahmer T, et al. Hypertension augments cardiac Toll-like receptor 4 expression and activity. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension*. 2011;34(5):551-8.
61. Sollinger D, Eissler R, Lorenz S, Strand S, Chmielewski S, Aoqui C, et al. Damage-associated molecular pattern activated Toll-like receptor 4 signalling modulates blood pressure in L-NAME-induced hypertension. *Cardiovascular research*. 2014;101(3):464-72.
62. Kim SC, Stice JP, Chen L, Jung JS, Gupta S, Wang Y, et al. Extracellular heat shock protein 60, cardiac myocytes, and apoptosis. *Circulation research*. 2009;105(12):1186-95.
63. Liu N, Liu J, Ji Y, Lu P. Toll-like receptor 4 signaling mediates inflammatory activation induced by C-reactive protein in vascular smooth muscle cells. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*. 2010;25(4-5):467-76.
64. Miller YI, Chang MK, Binder CJ, Shaw PX, Witztum JL. Oxidized low density lipoprotein and innate immune receptors. *Curr Opin Lipidol*. 2003;14(5):437-45.
65. Park JS, Svetkauskaite D, He Q, Kim JY, Strassheim D, Ishizaka A, et al. Involvement of toll-like receptors 2 and 4 in cellular activation by high mobility group box 1 protein. *The Journal of biological chemistry*. 2004;279(9):7370-7.
66. Li T, Wang Y, Liu C, Hu Y, Wu M, Li J, et al. MyD88-dependent nuclear factor-kappaB activation is involved in fibrinogen-induced hypertrophic response of cardiomyocytes. *Journal of hypertension*. 2009;27(5):1084-93.
67. Liu-Bryan R, Scott P, Sydlaske A, Rose DM, Terkeltaub R. Innate immunity conferred by Toll-like receptors 2 and 4 and myeloid differentiation factor 88 expression is pivotal to monosodium urate monohydrate crystal-induced inflammation. *Arthritis Rheum*. 2005;52(9):2936-46.
68. De Batista PR, Palacios R, Martin A, Hernanz R, Medici CT, Silva MA, et al. Toll-like receptor 4 upregulation by angiotensin II contributes to hypertension and vascular dysfunction through reactive oxygen species production. *PloS one*. 2014;9(8):e104020.
69. Dange RB, Agarwal D, Teruyama R, Francis J. Toll-like receptor 4 inhibition within the paraventricular nucleus attenuates blood pressure and inflammatory response in a genetic model of hypertension. *Journal of neuroinflammation*. 2015;12:31.
70. Jiang W, Tan L, Guo Y, Li X, Tang X, Yang K. Effect of renal denervation procedure on left ventricular hypertrophy of hypertensive rats and its mechanisms. *Acta Cir Bras*. 2012;27(11):815-20.
71. Bomfim GF, Echem C, Martins CB, Costa TJ, Sartoretto SM, Dos Santos RA, et al. Toll-like receptor 4 inhibition reduces vascular inflammation in spontaneously hypertensive rats. *Life sciences*. 2015;122:1-7.
72. Hernanz R, Martinez-Revelles S, Palacios R, Martin A, Cachofeiro V, Aguado A, et al. Toll-like receptor 4 contributes to vascular remodelling and endothelial dysfunction in angiotensin II-induced hypertension. *Br J Pharmacol*. 2015;172(12):3159-76.
73. Marketou ME, Kontaraki JE, Zacharis EA, Kochiadakis GE, Giaouzaki A, Chlouverakis G, et al. TLR2 and TLR4 gene expression in peripheral monocytes in nondiabetic hypertensive patients: the effect of intensive blood pressure-lowering. *Journal of clinical hypertension*. 2012;14(5):330-5.
74. Gelin C, Sloma I, Charron D, Mooney N. Regulation of MHC II and CD1 antigen presentation: from ubiquity to security. *J Leukoc Biol*. 2009;85(2):215-24.
75. Pober JS, Kluger MS, Schechner JS. Human endothelial cell presentation of antigen and the homing of memory/effector T cells to skin. *Ann N Y Acad Sci*. 2001;941:12-25.

76. Zhang JD, Patel MB, Song YS, Griffiths R, Burchette J, Ruiz P, et al. A novel role for type 1 angiotensin receptors on T lymphocytes to limit target organ damage in hypertension. *Circulation research*. 2012;110(12):1604-17.
77. Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol*. 1989;7:145-73.
78. Yao Z, Fanslow WC, Seldin MF, Rousseau AM, Painter SL, Comeau MR, et al. Herpesvirus Saimiri encodes a new cytokine, IL-17, which binds to a novel cytokine receptor. *Immunity*. 1995;3(6):811-21.
79. Park H, Li Z, Yang XO, Chang SH, Nurieva R, Wang YH, et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol*. 2005;6(11):1133-41.
80. Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, Turner H, Murphy TL, Murphy KM, et al. Interleukin 17-producing CD4<sup>+</sup> effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nature immunology*. 2005;6(11):1123-32.
81. Kasal DA, Barhoumi T, Li MW, Yamamoto N, Zdanovich E, Rehman A, et al. T regulatory lymphocytes prevent aldosterone-induced vascular injury. *Hypertension*. 2012;59(2):324-30.
82. Galan M, Salaices M. T-regulatory cells and vascular function: the importance of their immunosuppressive action in hypertensive disease. *Journal of hypertension*. 2016;34(1):36-8.
83. Matrougui K, Abd Elmageed Z, Kassan M, Choi S, Nair D, Gonzalez-Villalobos RA, et al. Natural regulatory T cells control coronary arteriolar endothelial dysfunction in hypertensive mice. *The American journal of pathology*. 2011;178(1):434-41.
84. Serre K, Silva-Santos B. Molecular Mechanisms of Differentiation of Murine Pro-Inflammatory gammadelta T Cell Subsets. *Front Immunol*. 2013;4:431.
85. Hayday AC. [gamma][delta] cells: a right time and a right place for a conserved third way of protection. *Annual review of immunology*. 2000;18:975-1026.
86. Godfrey DI, Uldrich AP, McCluskey J, Rossjohn J, Moody DB. The burgeoning family of unconventional T cells. *Nature immunology*. 2015;16(11):1114-23.
87. Roark CL, Simonian PL, Fontenot AP, Born WK, O'Brien RL. gammadelta T cells: an important source of IL-17. *Curr Opin Immunol*. 2008;20(3):353-7.
88. Li Y, Wu Y, Zhang C, Li P, Cui W, Hao J, et al. gammadelta T Cell-derived interleukin-17A via an interleukin-1beta-dependent mechanism mediates cardiac injury and fibrosis in hypertension. *Hypertension*. 2014;64(2):305-14.
89. Russell JH, Ley TJ. Lymphocyte-mediated cytotoxicity. *Annual review of immunology*. 2002;20:323-70.
90. Lord SJ, Rajotte RV, Korbitt GS, Bleackley RC. Granzyme B: a natural born killer. *Immunological reviews*. 2003;193:31-8.
91. Fong TA, Mosmann TR. Alloreactive murine CD8<sup>+</sup> T cell clones secrete the Th1 pattern of cytokines. *Journal of immunology*. 1990;144(5):1744-52.
92. Youn JC, Yu HT, Lim BJ, Koh MJ, Lee J, Chang DY, et al. Immunosenescent CD8<sup>+</sup> T cells and C-X-C chemokine receptor type 3 chemokines are increased in human hypertension. *Hypertension*. 2013;62(1):126-33.
93. Trott DW, Thabet SR, Kirabo A, Saleh MA, Itani H, Norlander AE, et al. Oligoclonal CD8<sup>+</sup> T cells play a critical role in the development of hypertension. *Hypertension*. 2014;64(5):1108-15.
94. Ebringer A, Doyle AE. Raised serum IgG levels in hypertension. *Br Med J*. 1970;2(5702):146-8.
95. Hilme E, Herlitz H, Soderstrom T, Hansson L. Increased secretion of immunoglobulins in malignant hypertension. *Journal of hypertension*. 1989;7(2):91-5.

96. Chen CM, Schachter D. Elevation of plasma immunoglobulin A in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension*. 1993;21(5):731-8.
97. 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. *The Journal of experimental medicine*. 2007;204(10):2449-60.
98. Li W, Li Z, Chen Y, Li S, Lv Y, Zhou W, et al. Autoantibodies targeting AT1 receptor from patients with acute coronary syndrome upregulate proinflammatory cytokines expression in endothelial cells involving NF-kappaB pathway. *J Immunol Res*. 2014;2014:342693.
99. Liao YH, Wei YM, Wang M, Wang ZH, Yuan HT, Cheng LX. Autoantibodies against AT1-receptor and alpha1-adrenergic receptor in patients with hypertension. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension*. 2002;25(4):641-6.
100. Li L, Huang L, Vergis AL, Ye H, Bajwa A, Narayan V, et al. IL-17 produced by neutrophils regulates IFN-gamma-mediated neutrophil migration in mouse kidney ischemia-reperfusion injury. *The Journal of clinical investigation*. 2010;120(1):331-42.
101. Kondo T, Takata H, Matsuki F, Takiguchi M. Cutting edge: Phenotypic characterization and differentiation of human CD8+ T cells producing IL-17. *Journal of immunology*. 2009;182(4):1794-8.
102. Michel ML, Keller AC, Paget C, Fujio M, Trottein F, Savage PB, et al. Identification of an IL-17-producing NK1.1(neg) iNKT cell population involved in airway neutrophilia. *The Journal of experimental medicine*. 2007;204(5):995-1001.
103. Coury F, Annels N, Rivollier A, Olsson S, Santoro A, Speziani C, et al. Langerhans cell histiocytosis reveals a new IL-17A-dependent pathway of dendritic cell fusion. *Nature medicine*. 2008;14(1):81-7.
104. Chabaud M, Fossiez F, Taupin JL, Miossec P. Enhancing effect of IL-17 on IL-1-induced IL-6 and leukemia inhibitory factor production by rheumatoid arthritis synoviocytes and its regulation by Th2 cytokines. *Journal of immunology*. 1998;161(1):409-14.
105. Krueger GG, Langley RG, Leonardi C, Yeilding N, Guzzo C, Wang Y, et al. A human interleukin-12/23 monoclonal antibody for the treatment of psoriasis. *The New England journal of medicine*. 2007;356(6):580-92.
106. Barczyk A, Pierzchala W, Sozanska E. Interleukin-17 in sputum correlates with airway hyperresponsiveness to methacholine. *Respiratory medicine*. 2003;97(6):726-33.
107. Molet SHQ, Davoine F, et al. IL-17 is increased in asthmatic airways and induces human bronchial fibroblasts to produce cytokines. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:430-8.
108. Duerr RH, Taylor KD, Brant SR, Rioux JD, Silverberg MS, Daly MJ, et al. A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. *Science*. 2006;314(5804):1461-3.
109. Cheng X, Yu X, Ding YJ, Fu QQ, Xie JJ, Tang TT, et al. The Th17/Treg imbalance in patients with acute coronary syndrome. *Clinical immunology*. 2008;127(1):89-97.
110. Patel DN, King CA, Bailey SR, Holt JW, Venkatachalam K, Agrawal A, et al. Interleukin-17 stimulates C-reactive protein expression in hepatocytes and smooth muscle cells via p38 MAPK and ERK1/2-dependent NF-kappaB and C/EBPbeta activation. *The Journal of biological chemistry*. 2007;282(37):27229-38.
111. Eid RE, Rao DA, Zhou J, Lo SF, Ranjbaran H, Gallo A, et al. Interleukin-17 and interferon-gamma are produced concomitantly by human coronary artery-infiltrating T cells and act synergistically on vascular smooth muscle cells. *Circulation*. 2009;119(10):1424-32.
112. Panoulas VF, Douglas KM, Millionis HJ, Stavropoulos-Kalinglou A, Nightingale P, Kita MD, et al. Prevalence and associations of hypertension and its control in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2007;46(9):1477-82.

113. Neimann AL, Shin DB, Wang X, Margolis DJ, Troxel AB, Gelfand JM. Prevalence of cardiovascular risk factors in patients with psoriasis. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2006;55(5):829-35.
114. Langley RG, Elewski BE, Lebwohl M, Reich K, Griffiths CE, Papp K, et al. Secukinumab in plaque psoriasis--results of two phase 3 trials. *The New England journal of medicine*. 2014;371(4):326-38.
115. Mease PJ, Genovese MC, Greenwald MW, Ritchlin CT, Beaulieu AD, Deodhar A, et al. Brodalumab, an anti-IL17RA monoclonal antibody, in psoriatic arthritis. *The New England journal of medicine*. 2014;370(24):2295-306.
116. Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO, et al. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. *Nature*. 2006;441(7090):231-4.
117. Yang L, Anderson DE, Baecher-Allan C, Hastings WD, Bettelli E, Oukka M, et al. IL-21 and TGF-beta are required for differentiation of human T(H)17 cells. *Nature*. 2008;454(7202):350-2.
118. Manel N, Unutmaz D, Littman DR. The differentiation of human T(H)-17 cells requires transforming growth factor-beta and induction of the nuclear receptor RORgamma. *Nat Immunol*. 2008;9(6):641-9.
119. Aujla SJ, Chan YR, Zheng M, Fei M, Askew DJ, Pociask DA, et al. IL-22 mediates mucosal host defense against Gram-negative bacterial pneumonia. *Nat Med*. 2008;14(3):275-81.
120. Ouyang W, Kolls JK, Zheng Y. The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation. *Immunity*. 2008;28(4):454-67.
121. Khader SA, Gaffen SL, Kolls JK. Th17 cells at the crossroads of innate and adaptive immunity against infectious diseases at the mucosa. *Mucosal Immunol*. 2009;2(5):403-11.
122. Ye P, Rodriguez FH, Kanaly S, Stocking KL, Schurr J, Schwarzenberger P, et al. Requirement of interleukin 17 receptor signaling for lung CXC chemokine and granulocyte colony-stimulating factor expression, neutrophil recruitment, and host defense. *J Exp Med*. 2001;194(4):519-27.
123. Chung DR, Kasper DL, Panzo RJ, Chitnis T, Grusby MJ, Sayegh MH, et al. CD4+ T cells mediate abscess formation in intra-abdominal sepsis by an IL-17-dependent mechanism. *J Immunol*. 2003;170(4):1958-63.
124. Infante-Duarte C, Horton HF, Byrne MC, Kamradt T. Microbial lipopeptides induce the production of IL-17 in Th cells. *J Immunol*. 2000;165(11):6107-15.
125. Khader SA, Bell GK, Pearl JE, Fountain JJ, Rangel-Moreno J, Cilley GE, et al. IL-23 and IL-17 in the establishment of protective pulmonary CD4+ T cell responses after vaccination and during *Mycobacterium tuberculosis* challenge. *Nat Immunol*. 2007;8(4):369-77.
126. Huang W, Na L, Fidel PL, Schwarzenberger P. Requirement of interleukin-17A for systemic anti-*Candida albicans* host defense in mice. *J Infect Dis*. 2004;190(3):624-31.
127. Bixler SL, Mattapallil JJ. Loss and dysregulation of Th17 cells during HIV infection. *Clin Dev Immunol*. 2013;2013:852418.
128. McGeachy MJ, Cua DJ. Th17 cell differentiation: the long and winding road. *Immunity*. 2008;28(4):445-53.
129. Hartigan-O'Connor DJ, Hirao LA, McCune JM, Dandekar S. Th17 cells and regulatory T cells in elite control over HIV and SIV. *Curr Opin HIV AIDS*. 2011;6(3):221-7.
130. McGeachy MJ, Bak-Jensen KS, Chen Y, Tato CM, Blumenschein W, McClanahan T, et al. TGF-beta and IL-6 drive the production of IL-17 and IL-10 by T cells and restrain T(H)-17 cell-mediated pathology. *Nature immunology*. 2007;8(12):1390-7.

131. Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, Mattson J, Basham B, Sedgwick JD, et al. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *The Journal of experimental medicine*. 2005;201(2):233-40.
132. Esplugues E, Huber S, Gagliani N, Hauser AE, Town T, Wan YY, et al. Control of TH17 cells occurs in the small intestine. *Nature*. 2011;475(7357):514-8.
133. Singh B, Schwartz JA, Sandrock C, Bellemore SM, Nikoopour E. Modulation of autoimmune diseases by interleukin (IL)-17 producing regulatory T helper (Th17) cells. *Indian J Med Res*. 2013;138(5):591-4.
134. Madhur M GT, McCann L, Harisson D. . Interleukin 17 is critical to angiotensin II-induced hypertension and vascular dysfunction in vivo. Abstract 030,. 63rd High blood pressure research conference 2009, American Heart Association, p69.
135. Yao W, Sun Y, Wang X, Niu K. Elevated Serum Level of Interleukin 17 in a Population With Prehypertension. *Journal of clinical hypertension*. 2015;17(10):770-4.
136. Ates I, Ozkayar N, Akyel F, Topcuoglu C, Akyel S, Barca AN, et al. The relationship between asymptomatic organ damage, and serum soluble tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (sTWEAK) and Interleukin-17A (IL-17A) levels in non-diabetic hypertensive patients. *BMC nephrology*. 2014;15:159.
137. Wang Z, Shi W, Liang X, Wang W, Liang J. Association of interleukin 17 / angiotensin II with refractory hypertension risk in hemodialysis patients. *Afr Health Sci*. 2016;16(3):766-71.
138. Amador CA, Barrientos V, Pena J, Herrada AA, Gonzalez M, Valdes S, et al. Spironolactone decreases DOCA-salt-induced organ damage by blocking the activation of T helper 17 and the downregulation of regulatory T lymphocytes. *Hypertension*. 2014;63(4):797-803.
139. Krebs CF, Lange S, Niemann G, Rosendahl A, Lehnert A, Meyer-Schwesinger C, et al. Deficiency of the interleukin 17/23 axis accelerates renal injury in mice with deoxycorticosterone acetate+angiotensin ii-induced hypertension. *Hypertension*. 2014;63(3):565-71.
140. Liu AC, Lee M, McManus BM, Choy JC. Induction of endothelial nitric oxide synthase expression by IL-17 in human vascular endothelial cells: implications for vascular remodeling in transplant vasculopathy. *Journal of immunology*. 2012;188(3):1544-50.
141. Abboud FM, Harwani SC, Chapleau MW. Autonomic neural regulation of the immune system: implications for hypertension and cardiovascular disease. *Hypertension*. 2012;59(4):755-62.
142. Abboud FM. The sympathetic system in hypertension. State-of-the-art review. *Hypertension*. 1982;4(3 Pt 2):208-25.
143. Esler M. The sympathetic nervous system through the ages: from Thomas Willis to resistant hypertension. *Experimental physiology*. 2011;96(7):611-22.
144. Guyenet PG. The sympathetic control of blood pressure. *Nat Rev Neurosci*. 2006;7(5):335-46.
145. Mancina G, Grassi G, Giannattasio C, Seravalle G. Sympathetic activation in the pathogenesis of hypertension and progression of organ damage. *Hypertension*. 1999;34(4 Pt 2):724-8.
146. Elenkov IJ, Wilder RL, Chrousos GP, Vizi ES. The sympathetic nerve--an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system. *Pharmacological reviews*. 2000;52(4):595-638.
147. Lob HE, Schultz D, Marvar PJ, Davisson RL, Harrison DG. Role of the NADPH oxidases in the subfornical organ in angiotensin II-induced hypertension. *Hypertension*. 2013;61(2):382-7.

148. Cardinale JP, Sriramula S, Mariappan N, Agarwal D, Francis J. Angiotensin II-induced hypertension is modulated by nuclear factor-kappaB in the paraventricular nucleus. *Hypertension*. 2012;59(1):113-21.
149. Shi P, Diez-Freire C, Jun JY, Qi Y, Katovich MJ, Li Q, et al. Brain microglial cytokines in neurogenic hypertension. *Hypertension*. 2010;56(2):297-303.
150. Sriramula S, Cardinale JP, Francis J. Inhibition of TNF in the brain reverses alterations in RAS components and attenuates angiotensin II-induced hypertension. *PloS one*. 2013;8(5):e63847.
151. Kang YM, He RL, Yang LM, Qin DN, Guggilam A, Elks C, et al. Brain tumour necrosis factor-alpha modulates neurotransmitters in hypothalamic paraventricular nucleus in heart failure. *Cardiovascular research*. 2009;83(4):737-46.
152. Tang SC, Arumugam TV, Xu X, Cheng A, Mughal MR, Jo DG, et al. Pivotal role for neuronal Toll-like receptors in ischemic brain injury and functional deficits. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007;104(34):13798-803.
153. Dange RB, Agarwal D, Masson GS, Vila J, Wilson B, Nair A, et al. Central blockade of TLR4 improves cardiac function and attenuates myocardial inflammation in angiotensin II-induced hypertension. *Cardiovascular research*. 2014;103(1):17-27.
154. Rysa J, Leskinen H, Ilves M, Ruskoaho H. Distinct upregulation of extracellular matrix genes in transition from hypertrophy to hypertensive heart failure. *Hypertension*. 2005;45(5):927-33.
155. Huang BS, Chen A, Ahmad M, Wang HW, Leenen FH. Mineralocorticoid and AT1 receptors in the paraventricular nucleus contribute to sympathetic hyperactivity and cardiac dysfunction in rats post myocardial infarct. *The Journal of physiology*. 2014;592(15):3273-86.
156. Masson GS, Nair AR, Silva Soares PP, Michelini LC, Francis J. Aerobic training normalizes autonomic dysfunction, HMGB1 content, microglia activation and inflammation in hypothalamic paraventricular nucleus of SHR. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2015;309(7):H1115-22.
157. Santisteban MM, Ahmari N, Carvajal JM, Zingler MB, Qi Y, Kim S, et al. Involvement of bone marrow cells and neuroinflammation in hypertension. *Circulation research*. 2015;117(2):178-91.
158. Shi P, Grobe JL, Desland FA, Zhou G, Shen XZ, Shan Z, et al. Direct pro-inflammatory effects of prorenin on microglia. *PloS one*. 2014;9(10):e92937.
159. Caillon A, Schiffrin EL. Role of Inflammation and Immunity in Hypertension: Recent Epidemiological, Laboratory, and Clinical Evidence. *Curr Hypertens Rep*. 2016;18(3):21.
160. Ha T, Li Y, Hua F, Ma J, Gao X, Kelley J, et al. Reduced cardiac hypertrophy in toll-like receptor 4-deficient mice following pressure overload. *Cardiovascular research*. 2005;68(2):224-34.
161. Kao CY, Huang F, Chen Y, Thai P, Wachi S, Kim C, et al. Up-regulation of CC chemokine ligand 20 expression in human airway epithelium by IL-17 through a JAK-independent but MEK/NF-kappaB-dependent signaling pathway. *Journal of immunology*. 2005;175(10):6676-85.
162. Hartupée J, Liu C, Novotny M, Li X, Hamilton T. IL-17 enhances chemokine gene expression through mRNA stabilization. *Journal of immunology*. 2007;179(6):4135-41.
163. Madhur MS, Lob HE, McCann LA, Iwakura Y, Blinder Y, Guzik TJ, et al. Interleukin 17 promotes angiotensin II-induced hypertension and vascular dysfunction. *Hypertension*. 2010;55(2):500-7.
164. Nguyen H, Chiasson VL, Chatterjee P, Kopriva SE, Young KJ, Mitchell BM. Interleukin-17 causes Rho-kinase-mediated endothelial dysfunction and hypertension. *Cardiovascular research*. 2013;97(4):696-704.



165. O'Connor W, Jr., Kamanaka M, Booth CJ, Town T, Nakae S, Iwakura Y, et al. A protective function for interleukin 17A in T cell-mediated intestinal inflammation. *Nature immunology*. 2009;10(6):603-9.
166. Danzaki K, Matsui Y, Ikesue M, Ohta D, Ito K, Kanayama M, et al. Interleukin-17A deficiency accelerates unstable atherosclerotic plaque formation in apolipoprotein E-deficient mice. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2012;32(2):273-80.
167. Odobasic D, Gan PY, Summers SA, Semple TJ, Muljadi RC, Iwakura Y, et al. Interleukin-17A promotes early but attenuates established disease in crescentic glomerulonephritis in mice. *The American journal of pathology*. 2011;179(3):1188-98.
168. Simon T, Taleb S, Danchin N, Laurans L, Rousseau B, Cattan S, et al. Circulating levels of interleukin-17 and cardiovascular outcomes in patients with acute myocardial infarction. *European heart journal*. 2013;34(8):570-7.
169. Farmer P, Pugin J. beta-adrenergic agonists exert their "anti-inflammatory" effects in monocytic cells through the IkappaB/NF-kappaB pathway. *American journal of physiology Lung cellular and molecular physiology*. 2000;279(4):L675-82.
170. Grisanti LA, Evanson J, Marchus E, Jorissen H, Woster AP, DeKrey W, et al. Pro-inflammatory responses in human monocytes are beta1-adrenergic receptor subtype dependent. *Molecular immunology*. 2010;47(6):1244-54.
171. Palmas W, Ma S, Psaty B, Goff DC, Jr., Darwin C, Barr RG. Antihypertensive medications and C-reactive protein in the multi-ethnic study of atherosclerosis. *American journal of hypertension*. 2007;20(3):233-41.
172. Esler M, Jennings G, Lambert G. Noradrenaline release and the pathophysiology of primary human hypertension. *American journal of hypertension*. 1989;2(3 Pt 2):140S-6S.
173. Ferrier C, Esler MD, Eisenhofer G, Wallin BG, Horne M, Cox HS, et al. Increased norepinephrine spillover into the jugular veins in essential hypertension. *Hypertension*. 1992;19(1):62-9.
174. Grassi G. Role of the sympathetic nervous system in human hypertension. *Journal of hypertension*. 1998;16(12 Pt 2):1979-87.
175. Zubcevic J, Waki H, Raizada MK, Paton JF. Autonomic-immune-vascular interaction: an emerging concept for neurogenic hypertension. *Hypertension*. 2011;57(6):1026-33.
176. Ader R, Felten D, Cohen N. Interactions between the brain and the immune system. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 1990;30:561-602.
177. Ganta CK, Lu N, Helwig BG, Blecha F, Ganta RR, Zheng L, et al. Central angiotensin II-enhanced splenic cytokine gene expression is mediated by the sympathetic nervous system. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2005;289(4):H1683-91.
178. Nash DT. Rationale for combination therapy in hypertension management: focus on angiotensin receptor blockers and thiazide diuretics. *Southern medical journal*. 2007;100(4):386-92.
179. Zhao H, Li M, Wang L, Su Y, Fang H, Lin J, et al. Angiotensin II induces TSLP via an AT1 receptor/NF-KappaB pathway, promoting Th17 differentiation. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*. 2012;30(6):1383-97.
180. Schieffer B, Bunte C, Witte J, Hoeper K, Boger RH, Schwedhelm E, et al. Comparative effects of AT1-antagonism and angiotensin-converting enzyme inhibition on markers of inflammation and platelet aggregation in patients with coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology*. 2004;44(2):362-8.
181. Ridker PM, Danielson E, Rifai N, Glynn RJ, Val MI. Valsartan, blood pressure reduction, and C-reactive protein: primary report of the Val-MARC trial. *Hypertension*. 2006;48(1):73-9.

182. Navalkar S, Parthasarathy S, Santanam N, Khan BV. Irbesartan, an angiotensin type 1 receptor inhibitor, regulates markers of inflammation in patients with premature atherosclerosis. *Journal of the American College of Cardiology*. 2001;37(2):440-4.
183. Perera GA. Diagnosis and natural history of hypertensive vascular disease. *Am J Med*. 1948;4(3):416-22.
184. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet*. 2005;365(9455):217-23.
185. Macmahon S, Alderman MH, Lindholm LH, Liu L, Sanchez RA, Seedat YK. Blood-pressure-related disease is a global health priority. *J Hypertens*. 2008;26(10):2071-2.
186. Psaltopoulou T, Orfanos P, Naska A, Lenas D, Trichopoulos D, Trichopoulou A. Prevalence, awareness, treatment and control of hypertension in a general population sample of 26,913 adults in the Greek EPIC study. *Int J Epidemiol*. 2004;33(6):1345-52.
187. Pickering TG, Hall JE, Appel LJ, Falkner BE, Graves J, Hill MN, et al. Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals: part 1: blood pressure measurement in humans: a statement for professionals from the Subcommittee of Professional and Public Education of the American Heart Association Council on High Blood Pressure Research. *Circulation*. 2005;111(5):697-716.
188. Pickering TG. Measurement of blood pressure in and out of the office. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2005;7(2):123-9.
189. O'Brien E, Asmar R, Beilin L, Imai Y, Mallion JM, Mancia G, et al. European Society of Hypertension recommendations for conventional, ambulatory and home blood pressure measurement. *J Hypertens*. 2003;21(5):821-48.
190. Beckett NS, Peters R, Fletcher AE, Staessen JA, Liu L, Dumitrascu D, et al. Treatment of hypertension in patients 80 years of age or older. *N Engl J Med*. 2008;358(18):1887-98.
191. Dickinson HO, Mason JM, Nicolson DJ, Campbell F, Beyer FR, Cook JV, et al. Lifestyle interventions to reduce raised blood pressure: a systematic review of randomized controlled trials. *J Hypertens*. 2006;24(2):215-33.
192. Mitka M. DASH dietary plan could benefit many, but few hypertensive patients follow it. *JAMA*. 2007;298(2):164-5.
193. Jelaković B K-RA, Miličić D, Premužić V, Skupnjak B, Reiner Ž. . . Manje soli-više zdravlja. Hrvatska inicijativa za smanjenje prekomjernog unosa kuhinjske soli (CRASH). *Lijec Vjesn* 2009;131:87-92. 2009.
194. Kaić-Rak A P-CJ, Antonić-Degač K, Laido Z. Unos soli u prehrani školske djece u RH. *Hineka* 24:103. 2009.
195. Tillett WS, Francis T. Serological Reactions in Pneumonia with a Non-Protein Somatic Fraction of Pneumococcus. *The Journal of experimental medicine*. 1930;52(4):561-71.
196. Kushner I. The phenomenon of the acute phase response. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1982;389:39-48.
197. Macy EM, Hayes TE, Tracy RP. Variability in the measurement of C-reactive protein in healthy subjects: implications for reference intervals and epidemiological applications. *Clin Chem*. 1997;43(1):52-8.
198. Jekell A, Malmqvist K, Wallen NH, Mortzell D, Kahan T. Markers of inflammation, endothelial activation, and arterial stiffness in hypertensive heart disease and the effects of treatment: results from the SILVHIA study. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2013;62(6):559-66.
199. Ding Y WJ, Zhang P, Qu P. The relation of serum high-sensitive C-reactive protein to risk factors and target organ damage in hypertensive patients. *Heartjnl*-2012-302920r241.
200. Barinas-Mitchell E, Cushman M, Meilahn EN, Tracy RP, Kuller LH. Serum levels of C-reactive protein are associated with obesity, weight gain, and hormone replacement therapy

- in healthy postmenopausal women. *American journal of epidemiology*. 2001;153(11):1094-101.
201. Nazmi A, Gonzalez DC, Oliveira IO, Horta BL, Gigante DP, Victora CG. Life course weight gain and C-reactive protein levels in young adults: findings from a Brazilian birth cohort. *Am J Hum Biol*. 2009;21(2):192-9.
  202. Davey Smith G, Lawlor DA, Harbord R, Timpson N, Rumley A, Lowe GD, et al. Association of C-reactive protein with blood pressure and hypertension: life course confounding and mendelian randomization tests of causality. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2005;25(5):1051-6.
  203. Gilstrap LG, Wang TJ. Biomarkers and cardiovascular risk assessment for primary prevention: an update. *Clin Chem*. 2012;58(1):72-82.
  204. Cortez AF, Muxfeldt ES, Cardoso CR, Salles GF. Prognostic Value of C-Reactive Protein in Resistant Hypertension. *American journal of hypertension*. 2016;29(8):992-1000.
  205. James SK, Armstrong P, Barnathan E, Califf R, Lindahl B, Siegbahn A, et al. Troponin and C-reactive protein have different relations to subsequent mortality and myocardial infarction after acute coronary syndrome: a GUSTO-IV substudy. *Journal of the American College of Cardiology*. 2003;41(6):916-24.
  206. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *The New England journal of medicine*. 2000;342(12):836-43.
  207. Emerging Risk Factors C, Kaptoge S, Di Angelantonio E, Lowe G, Pepys MB, Thompson SG, et al. C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. *Lancet*. 2010;375(9709):132-40.
  208. Wilson PW, Pencina M, Jacques P, Selhub J, D'Agostino R, Sr., O'Donnell CJ. C-reactive protein and reclassification of cardiovascular risk in the Framingham Heart Study. *Circulation Cardiovascular quality and outcomes*. 2008;1(2):92-7.
  209. Halcox JP, Roy C, Tubach F, Banegas JR, Dallongeville J, De Backer G, et al. C-reactive protein levels in patients at cardiovascular risk: EURIKA study. *BMC Cardiovasc Disord*. 2014;14:25.
  210. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO, 3rd, Criqui M, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*. 2003;107(3):499-511.
  211. Charuruks N, Laohajinda B, Rujiwanitgun S, Chaiworaporn M. Reference value for C-reactive protein and its distribution pattern in thai adults. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society*. 2005;69(3):339-44.
  212. Blake GJ, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. Blood pressure, C-reactive protein, and risk of future cardiovascular events. *Circulation*. 2003;108(24):2993-9.
  213. Sesso HD, Buring JE, Rifai N, Blake GJ, Gaziano JM, Ridker PM. C-reactive protein and the risk of developing hypertension. *Jama*. 2003;290(22):2945-51.
  214. Sesso HD, Jimenez MC, Wang L, Ridker PM, Buring JE, Gaziano JM. Plasma Inflammatory Markers and the Risk of Developing Hypertension in Men. *J Am Heart Assoc*. 2015;4(9):e001802.
  215. Wang L, Manson JE, Gaziano JM, Liu S, Cochrane B, Cook NR, et al. Circulating inflammatory and endothelial markers and risk of hypertension in white and black postmenopausal women. *Clin Chem*. 2011;57(5):729-36.
  216. Wang TJ, Gona P, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Tofler GH, et al. Multiple biomarkers and the risk of incident hypertension. *Hypertension*. 2007;49(3):432-8.

217. Lakoski SG, Cushman M, Palmas W, Blumenthal R, D'Agostino RB, Jr., Herrington DM. The relationship between blood pressure and C-reactive protein in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Journal of the American College of Cardiology*. 2005;46(10):1869-74.
218. Lakoski SG, Herrington DM, Siscovick DM, Hulley SB. C-reactive protein concentration and incident hypertension in young adults: the CARDIA study. *Archives of internal medicine*. 2006;166(3):345-9.
219. Jae SY, Kurl S, Laukkanen JA, Lee CD, Choi YH, Fernhall B, et al. Relation of C-reactive protein, fibrinogen, and cardiorespiratory fitness to risk of systemic hypertension in men. *The American journal of cardiology*. 2015;115(12):1714-9.
220. de Souza F, Muxfeldt ES, Salles GF. Prognostic factors in resistant hypertension: implications for cardiovascular risk stratification and therapeutic management. *Expert review of cardiovascular therapy*. 2012;10(6):735-45.
221. Wang A, Xu T, Xu T, Zhang M, Li H, Tong W, et al. Hypertension and elevated C-reactive protein: future risk of ischemic stroke in a prospective cohort study among inner Mongolians in China. *International journal of cardiology*. 2014;174(2):455-6.
222. Kim KI, Lee JH, Chang HJ, Cho YS, Youn TJ, Chung WY, et al. Association between blood pressure variability and inflammatory marker in hypertensive patients. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society*. 2008;72(2):293-8.
223. Suarna C, Dean RT, May J, Stocker R. Human atherosclerotic plaque contains both oxidized lipids and relatively large amounts of alpha-tocopherol and ascorbate. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 1995;15(10):1616-24.
224. Doehner W, Landmesser U. Xanthine oxidase and uric acid in cardiovascular disease: clinical impact and therapeutic options. *Semin Nephrol*. 2011;31(5):433-40.
225. Sanchez-Lozada LG, Lanaspa MA, Cristobal-Garcia M, Garcia-Arroyo F, Soto V, Cruz-Robles D, et al. Uric acid-induced endothelial dysfunction is associated with mitochondrial alterations and decreased intracellular ATP concentrations. *Nephron Exp Nephrol*. 2012;121(3-4):e71-8.
226. Choi HK, Ford ES, Li C, Curhan G. Prevalence of the metabolic syndrome in patients with gout: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arthritis Rheum*. 2007;57(1):109-15.
227. Corry DB, Eslami P, Yamamoto K, Nyby MD, Makino H, Tuck ML. Uric acid stimulates vascular smooth muscle cell proliferation and oxidative stress via the vascular renin-angiotensin system. *Journal of hypertension*. 2008;26(2):269-75.
228. Feig DI, Soletsky B, Johnson RJ. Effect of allopurinol on blood pressure of adolescents with newly diagnosed essential hypertension: a randomized trial. *Jama*. 2008;300(8):924-32.
229. Soletsky B, Feig DI. Uric acid reduction rectifies prehypertension in obese adolescents. *Hypertension*. 2012;60(5):1148-56.
230. Kanbay M, Huddam B, Azak A, Solak Y, Kadioglu GK, Kirbas I, et al. A randomized study of allopurinol on endothelial function and estimated glomerular filtration rate in asymptomatic hyperuricemic subjects with normal renal function. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*. 2011;6(8):1887-94.
231. Stack AG, Hanley A, Casserly LF, Cronin CJ, Abdalla AA, Kiernan TJ, et al. Independent and conjoint associations of gout and hyperuricaemia with total and cardiovascular mortality. *QJM*. 2013;106(7):647-58.
232. Fang J, Alderman MH. Serum uric acid and cardiovascular mortality the NHANES I epidemiologic follow-up study, 1971-1992. *National Health and Nutrition Examination Survey. Jama*. 2000;283(18):2404-10.

233. Culleton BF, Larson MG, Kannel WB, Levy D. Serum uric acid and risk for cardiovascular disease and death: the Framingham Heart Study. *Annals of internal medicine*. 1999;131(1):7-13.
234. Wheeler JG, Juzwishin KD, Eiriksdottir G, Gudnason V, Danesh J. Serum uric acid and coronary heart disease in 9,458 incident cases and 155,084 controls: prospective study and meta-analysis. *PLoS Med*. 2005;2(3):e76.
235. Costa A, Iguale I, Bedini J, Quinto L, Conget I. Uric acid concentration in subjects at risk of type 2 diabetes mellitus: relationship to components of the metabolic syndrome. *Metabolism*. 2002;51(3):372-5.
236. Schmidt MI, Watson RL, Duncan BB, Metcalf P, Brancati FL, Sharrett AR, et al. Clustering of dyslipidemia, hyperuricemia, diabetes, and hypertension and its association with fasting insulin and central and overall obesity in a general population. *Atherosclerosis Risk in Communities Study Investigators. Metabolism*. 1996;45(6):699-706.
237. Sah SK, Khatiwada S, Pandey S, Kc R, Das BK, Baral N, et al. Association of high-sensitivity C-reactive protein and uric acid with the metabolic syndrome components. *Springerplus*. 2016;5:269.
238. Peng TC, Wang CC, Kao TW, Chan JY, Yang YH, Chang YW, et al. Relationship between hyperuricemia and lipid profiles in US adults. *Biomed Res Int*. 2015;2015:127596.

## 11. ŽIVOTOPIS

### OSOBNİ PODACI:

|                         |                             |
|-------------------------|-----------------------------|
| Ime i prezime:          | Tihana Šimundić             |
| Rođeno prezime:         | Šego (do 2009.)             |
| Datum i mjesto rođenja: | 05. srpnja, 1978.g., Osijek |
| Adresa:                 | Ružina ulica 57, Osijek     |
| Telefon:                | 031/ 358 078                |
| Mobitel:                | 091/ 526 4936               |

### OBRAZOVANJE:

1997-2003: Medicinski fakultet u Osijeku, Sveučilišta u Zagrebu  
2007-2011: specijalizacija iz interne medicine  
Od 2007: poslijediplomski doktorski studij na Medicinskom fakultetu u Osijeku

#### **AKADEMSKI NASLOV:**

2003: doktor medicine

#### **DOSADAŠNJA RADNA MJESTA:**

2003-2004: liječnik pripravnik u Zavodu za javno zdravstvo Osijek  
2005-2006: stručni suradnik u "Hoffmann-La Roche"  
2006-2007: rad u ambulanti obiteljske medicine  
2007-2011: specijalizant na Klinici za internu medicinu Kliničke bolnice Osijek  
Od 2011: liječnik na Zavodu za nefrologiju Kliničkog bolničkog centra Osijek

#### **INDEKSIRANI ČLANCI**

1. **Tihana Simundic**, Bojan Jelakovic, Andrea Dzumhur, Tajana Turk, Ines Sahinovic, Blazenka Dobrosevic, Boris Takac, Jerko Barbic. Interleukin 17A and Toll-like receptor 4 in patients with arterial hypertension. *Kidney blood Press Res* 2017;42:99-108.
2. Mikolasevic I, Zaputovic L, Zibar L, Begic I, Zutelija M, Klanac A, Majurec I, **Simundic T**, Minazek M, Orlic L. Renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors lower hemoglobin and hematocrit only in renal transplant recipients with initially higher levels. *Eur J Intern Med.* 2016 Apr;29:98-103.
3. Džumhur A, Zibar L, Wagner J, **Simundić T**, Dembić Z, Barbić J. Association studies of gene polymorphisms in toll-like receptors 2 and 4 in Croatian patients with acute myocardial infarction. *Scand J Immunol.* 2012;75(5):517-23.
4. Sego K, Dulić G, Ugljen R, Leksan I, Ivanović M, **Sego T**, Istvanić T. The outcome of surgical treatment in patients with penetrating chest wounds. *Coll Antropol.* 2009 Jun;33(2):593-7.

#### **AKTIVNO SUDJELOVANJE NA STRUČNIM SASTANCIMA:**

2009 8. Osječki urološki dani i 1. Osječki nefrološki dani, Osijek, Hrvatska  
2009 5. Srednjoeuropski kongres o hipertenziji, 2. Hrvatski kongres o hipertenziji, Zagreb, Hrvatska  
2009 1. Hrvatski kongres alergologije i kliničke imunologije s međunarodnim sudjelovanjem, Zagreb, Hrvatska  
2009 7. Hrvatski kongres o aterosklerozi s međunarodnim sudjelovanjem, Mali Lošinj, Hrvatska  
2010

|      |                                                                                       |
|------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 2010 | 4. Hrvatski kongres o debljini s međunarodnim sudjelovanjem, Umag, Hrvatska           |
|      | 6. Hrvatski internistički kongres s međunarodnim sudjelovanjem, Opatija, Hrvatska     |
| 2014 | 3. Međunarodni simpozij o hipertenziji, Osijek, Hrvatska                              |
| 2015 | 11. Osječki urološki dani i 4. Osječki nefrološki dani, Osijek, Hrvatska              |
| 2015 | 12. BANTAO kongres, Opatija, Hrvatska                                                 |
| 2016 | 26. Europski kongres o hipertenziji, Pariz, Francuska                                 |
| 2016 | 7. memorijalni međunarodni simpozij „Prof.dr. Miljenko Marinković“, Vis, Hrvatska     |
| 2016 | Simpozij „Autosomalno dominantna policistična bubrežna bolest“, Osijek, Hrvatska      |
| 2016 | 3. Hrvatska transplantacijska škola s međunarodnim Sudjelovanjem, Dubrovnik, Hrvatska |
| 2017 | 4. Hrvatski kongres o hipertenziji, Poreč, Hrvatska                                   |
| 2017 | 12. Osječki urološki dani i 4. Osječki nefrološki dani, Osijek, Hrvatska              |

## ORGANIZACIJE

Hrvatska liječnička komora  
Hrvatski liječnički zbor  
Hrvatsko društvo za hipertenziju