**Univerzita Karlova**

Lékařská fakulta v Plzni

Disertační práce

Plzeň 2023 Štěpán Mareš

# Univerzita Karlova

Lékařská fakulta v Plzni


Studijní program: Vnitřní lékařství

# Role epiteliálního sodíkového kanálu a jeho genetických poruch u Liddleova syndromu a esenciální hypertenze

The role of the epithelial sodium channel and its genetic disorders in Liddle syndrome and essential hypertension

Disertační práce

Školitel: prof. MUDr. Jan Filipovský, CSc.


Plzeň, 2023 MUDr. Štěpán Mareš

## Abstrakt

Arteriální hypertenze je nejčastějším kardiovaskulárním onemocněním zodpovědným za řadu orgánových komplikací. Etiologicky se nejčastěji jedná o esenciální hypertenzi, u které je patogeneze multifaktoriální a v rozvoji onemocnění se uplatňuje kombinace genetické výbavy jedince s vnějšími vlivy. Její výskyt strmě narůstá s věkem. Naopak u relativně vzácných monogenně podmíněných chorob, projevujících se arteriální hypertenzí, stačí bodová mutace konkrétního genu a výsledkem může být těžké onemocnění manifestující se od dětství. Jednou z takových nemocí je Liddleův syndrom. Jde o dědičnou formu hypertenze způsobenou mutací genu pro epiteliální sodíkový kanál. Tento kanál je zodpovědný za resorpci sodných iontů v distální části nefronu. Vlivem mutace dochází k nadměrné aktivitě kanálů, zvýšené resorpci sodíku a potažmo vody, což vede k expanzi intravaskulární tekutiny rezultující v hypertenzi. Spolu s vysokým krevním tlakem jsou u pacientů s Liddleovo syndromem přítomny variabilně také odchylky vnitřního prostředí jako hypokalémie a nízká hladina aldosteronu v séru. Mohou být tak cennými vodítky při diagnostice, neboť spolu s pozitivní rodinnou anamnézou hypertenze mohou lékaře navést k úvaze o možné sekundární či dědičné formě hypertenze u pacienta. Správná diagnóza umožní zvolit cílenou terapii, což je v případě Liddleova syndromu blokátor epiteliálního sodíkového kanálu.

Práce shrnuje dosavadní poznatky o funkci epiteliálního sodíkového kanálu v organismu za fyziologických podmínek a jeho úlohu v rozvoji arteriální hypertenze. Dále se zabývá vlastním vyšetřováním a pozorováním rodiny, u které byla objevena nová dosud nepopsaná mutace epiteliálního sodíkového kanálu způsobující Liddleův syndrom. Na jednotlivých členech demonstruje variabilitu projevů tohoto onemocnění a zasazuje ji do kontextu současného poznání.



**Klíčová slova**: aldosteron, amilorid, arteriální hypertenze, epiteliální sodíkový kanál, hypokalémie, Liddleův syndrom

## Abstract

Arterial hypertension is the most prevalent cardiovascular dissease which can lead to various end organ damage. It is most commonly a primary diagnosis or so called essential hypertension with a multifactorial pathogenesis combining genetic and enviromental factors. Its prevalence is increasing with age. On the other hand there are some relatively rare monogenic forms of arterial hypertension, which are caused by a single point mutation of particular gene. These diseases can manifest in childhood and one of them is Liddle syndrome. It is a heritable form of arterial hypertension caused by mutation in gene coding of a epithelial sodium channel. This channel is responsible for sodium reabsorption in distal parts of nephrone in kidney. Mutated channel is overactive which leads to increased retention of sodium and therefore water, resulting in exapansion of intravascular volume and hypertension. Along with high blood pressure hypokalaemia and low serum aldosteron occurs is some patients as well. These disturbances can be useful leads in work-up and together with positive family history of high blood pressure may guide a physician to start thinking about more rare forms of hypertension. Correct diagnosis enables to chose the right treatment which, in case of Liddle syndrome, is epithelial channel blocker.

This work summarizes existing knowledge about epithelial sodium channel in organism under physiological conditions and its role in developement of arterial hypertension. Furthermore it elaborates own examination of a family with Liddle syndrome in which new mutation of epithelial sodium channel was discovered. There is great variability in disease phenotype between the family members which is further analyzed.

**Key words**: aldosterone, amiloride, arterial hypertension, epithelial sodium channel, hypokalaemia, Liddle syndrome

## Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Plzni 25.9.2023 Štěpán Mareš

# Obsah

**SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK ..... 7**

**1 ÚVOD DO PROBLEMATIKY ..... 9**

1.1 REGULACE KREVNÍHO TLAKU ..... 9

1.2 ARTERIÁLNÍ HYPERTENZE ..... 12

1.3 ETIOPATOGENEZE HYPERTENZE ..... 14

1.4 EPITELIÁLNÍ SODÍKOVÝ KANÁL ..... 19

Struktura a distribuce ..... 19

Funkce a řízení ..... 21

1.5 ONEMOCNĚNÍ SPOJENÁ S MUTACÍ EPITELIÁLNÍHO SODÍKOVÉHO KANÁLU ..... 24

Pseudohypoaldosteronismus 1. typu (PHA1) ..... 24

Liddleův syndrom ..... 25

Esenciální hypertenze ..... 28

**2 PRAKTICKÁ ČÁST ..... 30**

2.1 CÍLE A VÝCHODISKA ..... 30

2.2 METODIKA ..... 30

2.3 VÝSLEDKY ..... 31

Genetika ..... 31

Popis rodiny ..... 33

2.4 DISKUZE ..... 36

Fenotypová variabilita ..... 36

Arteriální hypertenze ..... 36

Hypoaldosteronémie a hypokalémie ..... 37

**3 ZÁVĚR ..... 39**

**4 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY ..... 41**

**5 PŘÍLOHY ..... 47**

**6 PODĚKOVÁNÍ ..... 62**

## Seznam použitých zkratek

| | |
|---|---|
| 11β-HSD2 | 11β- hydroxysteroid dehydrogenáza typu 2 |
| ACEI | Inhibitory angiotensin konvertujícího enzymu |
| ACTH | Adrenokortikotropní hormon |
| ADH | Antidiuretický hormon |
| ADHD | Attention deficit hyperactivity disorder |
| AME | Apparent mineralocorticoid excess |
| AMK | Aminokyselina |
| AMTK | Ambulantní monitorace tlaku krve |
| BB | Beta-blocker |
| CCB | Calcium channel blocker |
| CMP | Cévní mozková příhoda |
| CNT | Connecting tubule |
| CD | Connecting duct |
| ČSH | Česká společnost pro hypertenzi |
| DCT | Distal convoluted tubule |
| ECL | Extracellular loop |
| ENaC | Epiteliální sodíkový kanál |
| GRA | Glucocorticoid remediable aldosteronism |
| GIT | Gastrointestinální trakt |
| HTNB | Hypertension and brachydactyly syndrome |
| ICHS | Ischemická choroba srdeční |
| IGF-1 | Insulin-like growth factor 1 |
| LDL-C | Low density lipoprotein cholesterol |
| LS | Liddleův syndrom |
| TK | Tlak krve |
| KV | Kardiovaskulární |

| | |
|---|---|
| MR | Mineralokortikoidní receptor |
| mTOR | Mammalian target of rapamycin |
| NCC | Natrium-chloride channel |
| NEDD4-2 | neural precursor cell expressed developmentally down-regulated 4-like |
| PHA-1 | Pseudohypoaldosteronism type 1 |
| RAAS | Renin-angiotensin-aldosterone |
| ROMK | Renal outter medulary K |
| SGK-1 | Serine/threonine-protein kinase 1 |
| AT-1 | Angiotensin-1 |
| SCNN1 | Sodium channel non-voltage gated 1 |
| SNP | Single nucleotid polymorphism |
| TM | Transmembrane domain |
| WNK | With-no-lysine kinase |

# 1 Úvod do problematiky

Epiteliální sodíkový kanál je důležitým regulátorem objemu extracelulární tekutiny. Jeho konkrétní úloha se liší tkáňovou distribucí. Nacházíme jej v ledvině, trávicím ústrojí, dýchacích cestách, reprodukčním ústrojí aj. Přes rozdílný finální efekt aktivity kanálu související s danou tkání je jeho funkce napříč organismem stejná – zpětná resorpce sodných iontů do buňky.

Disertační práce se věnuje zejména epiteliálnímu sodíkovému kanálu, který se nachází v tubulárních buňkách distálního nefronu. Ten hraje ústřední roli v regulaci extracelulárního, a tedy i intravaskulárního objemu tekutiny, který přímo souvisí s krevním tlakem. Expanze intravaskulárního objemu, která nastává při nekontrolované zvýšené resorpci sodných iontů a potažmo vody, má za následek zvýšení krevního tlaku – arteriální hypertenzi.

Dle potřeby organismu je kanál aktivní více či méně. Existuje však geneticky podmíněné onemocnění, u kterého vlivem mutace dochází k jeho nadměrné aktivitě vymykající se regulačním mechanismům. Jde o Liddleův syndrom, který se vyznačuje právě rozvojem arteriální hypertenze často v mladém věku u postiženého jedince.

Cílem úvodní části disertační práce je přehledně shrnout současné poznatky o fungování epiteliálního sodíkového kanálu, jeho vztahu k regulaci krevního tlaku a s ním souvisejícími onemocněními, především pak Liddleovo syndromem.

## 1.1 Regulace krevního tlaku

Krevní tlak je určen především objemem cirkulující tekutiny, kapacitou tepenného systému a srdečním výdejem.

Udržení krevního tlaku v normálním rozmezí je pro funkci organismu kruciální. Aby mohla srdečně-cévní soustava zásobit všechny orgány těla za rozličných podmínek, musí být determinanty krevního tlaku a distribuce krve neustále regulovány. Regulace krevního tlaku je zajištěna několika mechanismy. Dělíme je z hlediska rychlosti a doby působení na krátkodobé, střednědobé a dlouhodobé mechanismy.

Mezi krátkodobé mechanismy patří zejména mechanismy nervové zprostředkované vegetativním nervovým systémem. Mají rychlý nástup účinku ale krátké trvání. Slouží ke kompenzaci krátkodobých změn krevního tlaku. Typickým příkladem je baroreceptorový reflex

zprostředkovaný mechanoreceptory oblouku aorty a karotického sinu. Ty reagují na změny napětí cévní stěny. Informace z receptorů putují do centrálního nervového systému, konkrétně mozkového kmene. Odpovědí je snížená nebo zvýšená aktivita sympatiku a parasympatiku ovlivňující periferní cévní rezistenci a srdeční výdej. Mění tedy kapacitu řečiště a srdeční výdej.

Střednědobé a dlouhodobé řízení krevního tlaku je zprostředkováno zejména hormonálně. Ústředními hormony jsou antidiuretický hormon (ADH) a systém renin-angiotensin-aldosteron (RAAS). Aktivace těchto hormonů vede ke zvýšení krevního tlaku a jako příklad fyziologické aktivace k zachování homeostázy lze uvést systémovou hypotenzi například při krevních ztrátách. Patologicky je systém RAAS aktivován zúžením renálních tepen (Trojan, 2003, s. 204-211). Vzhledem k důležitosti tohoto systému a přímé souvislosti s tématem disertační práce, o něm bude pojednáno podrobněji v následujících odstavcích.

Zmiňovaný antidiuretický hormon, který se uplatňuje na regulaci krevního tlaku je syntetizován v hypotalamu a skladován v neurohypofýze. Na řízení tlaku se účastní dvojím způsobem. Přímým účinkem na hladkou cévní svalovinu – vazokonstrikcí prostřednictvím V1 receptorů a zvyšováním resorpce vody v ledvinách prostřednictvím V2 receptorů buněk sběrného kanálku (Trojan, 2003, s. 453). Na pomyslné druhé straně od RAAS a ADH stojí natriuretické peptidy, které do jisté míry antagonizují nadměrný účinek mineralokortikoidů a brání excesivnímu vstřebávání dalších sodných iontů. Střednědobými a dlouhodobými mechanismy je ovlivňována jednak veličina reprezentující kapacitu řečiště skrze změny periferní cévní rezistence, ale zejména je regulován objem cirkulující tekutiny.

Mezi dlouhodobé mechanismy můžeme zařadit i koncept tlakové natriurézy, který vychází z jednoduché rovnice, kdy elevace krevního tlaku vede k zvýšenému filtračnímu tlaku v glomerulech, a tedy ke zvýšenému vylučování vody a sodíku ledvinami (Veselý, 2012).

Výkonným orgánem dlouhodobých mechanismů jsou ledviny. Pokud není funkce ledvin porušena, je kompenzační schopnost dlouhodobých mechanismů veliká. Zdravé ledviny se na změny arteriálního tlaku tedy neadaptují. Jinými slovy – nenechají si vnutit nové hodnoty krevního tlaku. Na rozdíl od krátkodobých mechanismů tato odpověď časem neslábne (Veselý, 2012).

Renin-angiotenzin-aldosteronový systém se uplatňuje nejvíce v dlouhodobé regulaci krevního tlaku. Na počátku kaskády stojí renin, který je secernován buňkami juxtaglomerulárního aparátu. Stimulem pro jeho sekreci je snížený průtok krve ledvinou (signály z baroreceptorů vas afferens), snížená koncentrace sodných iontů v distálním tubulu (chemoreceptory macula densa) (Trojan, 2002, s. 454) a aktivace beta-1 receptorů v oblasti juxtaglomerulárního aparátu. Ty jsou aktivovány jak cirkulujícími katecholaminy, tak noradrenalinem secernovaným postgangliovými neurony sympatického nervového systému ledvin (Barrett, 2012). Renin vyplavený do oběhu hydrolyzuje protein angiotenzinogen (frakce α-2 globulinů) tvořený játry na angiotenzin I. Hladiny angiotenzinogenu zvyšují kortikosteroidy, hormony štítné žlázy a estrogen (Patel, 2017). Angiotenzin I je neaktivní prekurzor angiotenzinu II, k jehož aktivaci je zapotřebí angiotenzin konvertujícího enzymu (ACE). ACE je karboxypeptidáza produkovaná endoteliálními buňkami a působí nejvíce v plicním řečišti, kde odštěpením dvou aminokyselin z angiotenzinu I vzniká angiotenzin II. Tento hormon má již řadu přímých účinků zvyšujících krevní tlak (vazokonstrikce) a také dává vzniknout finálnímu produktu osy RAAS – aldosteronu vazbou na AT-1 receptory v kůře nadledvin (Barrett, 2012).

Aldosteron je steroidní hormon vznikající v zona glomerulosa kůry nadledvin přeměnou 18-hydroxykortikosteronu pomocí enzymu aldosteron syntázy. Jeho sekreci stimuluje zejména angiotenzin II a ACTH. Útlum sekrece ACTH například u centrální formy Addisonovy choroby však většinou nevede k projevům nedostatku aldosteronu a systém RAAS je tedy do značné míry autonomní, nezávislý na hypotalamo-hypofyzárním systému. Stimulace sekrece aldosteronu osou RAAS se zdá být hlavní. Aldosteron přispívá ke zvýšené resorpci sodíku v ledvinách, čímž zvyšuje cirkulující volum a dochází k elevaci krevního tlaku. Blíže bude o jeho mechanismu působení pojednáno v kapitole o epiteliálním sodíkovém kanál

## 1.2 Arteriální hypertenze

Arteriální hypertenze je nejčastější kardiovaskulární onemocnění. Je navíc považována za vedoucí příčinu úmrtí celosvětově (Mills et al. 2020). Prevalence v dospělé populaci se pohybuje kolem 40 % se zřetelným nárůstem ve vyšším věku (Cífková et al., 2010). Je jedním z hlavních ovlivnitelných rizikových faktorů kardio- a cerebrovaskulárních příhod, srdečního selhání a renální insuficience (Flint et al., 2019). Důležitost kontroly krevního tlaku v pásmu normotenze dobře ilustruje tabulka SCORE, dle které dosazením pěti promenných (věk, pohlaví, kuřáctví, cholesterolémie, krevní tlak) získáme u každého pacienta statistický odhad jeho absolutního rizika fatální kardiovaskulární příhody v následujících 10 letech. Výše krevního tlaku je právě jeden ze tří ovlivnitelných rizikových faktorů (Tůmová, 2017). Dlouhodobě uspokojivá kompenzace arteriální hypertenze je tedy nadmíru žádoucím jevem snižujícím morbiditu a mortalitu pacientů. I přes široké možnosti farmakoterapie hypertenze nedosahuje cílových hodnot krevního tlaku značná část hypertoniků. Dle studie EUROASPIRE IV (Kotseva, 2016) a V (Kotseva, 2019) to bylo přes polovinu léčených hypertoniků bez ale i s anamnézou ICHS. Příznivým trendem je klesající prevalence hypertenze u žen a lepší (i když stále ne optimální) kompenzace vysokého krevního tlaku ve většině věkových kategorií (Cífková, 2020).

Správná léčba je podmíněna správnou diagnózou. Tak je tomu i u arteriální hypertenze. Etiologicky se může jednat o rozdílná onemocnění, která mají společné pouze zvýšení krevního tlaku. Arbitrární hranicí pro diagnózu hypertenze je dle guidelines ČSH (Widimský, 2022) hodnota ≥140/90 mmHg naměřená v ordinaci lékaře opakovaně minimálně při dvou různých návštěvách. Patrný je trend dosahovat spíše nižších hodnot s důrazem na časnou a účinnou kontrolu zejména u rizikových pacientů. Každé další snížení TK v sobě nese benefit. Toto však platí pouze do určité míry. Funkce krevního tlaku a KV riziko má totiž tvar „J křivky“ a se snižováním systolického krevního tlaku pod 120 mmHg narůstá mortalita (Böhm, 2017). Neměli bychom se bát léčit vysoký krevní tlak ani u geriatrických křehkých pacientů, kteří z léčby hypertenze průkazně profitují, což prokázala studie HYVET (Beckett, 2008). Jako jeden z významných faktorů přispívající k nedostatečné kontrole TK je právě inercie ze strany ošetřujicího lékaře (Tuka, 2021). Ta je dána více faktory. Může jít o prostou neznalost doporučených hodnot krevního tlaku nebo nepřikládání velkého významu škodlivosti „lehce zvýšeným hodnotám TK“. Může jít o prostou neznalost nebo skepsi vůči guidelines. Skepsi

mohou posilovat například měnící se doporučené postupy, což může vést až k úplné ignoraci sledování nových trendů. Pokud jsou výše zmíněné „překážky“ na cestě ke správné léčbě arteriální hypertenze překonány, může se stát, že lékař a pacient budou čelit dalším výzvám. Jmenujme například hledání optimálního preparátu nebo jejich kombinace kvůli častým nežádoucím účinkům projevujícím se u pacienta. I přes bohatou paletu antihypertenziv, může být nastavení optimální léčby frustrující jak pro pacienta, tak pro lékaře. Ani toto by však nemělo být důvodem k netečnosti ze strany lékaře. V případě obtížně korigovatelné hypertenze je na místě pacienta odeslat do centra pro diagnostiku a léčbu hypertenze.

## 1.3 Etiopatogeneze hypertenze

Rozlišujeme hypertenzi primární (esenciální), sekundární a monogenně podmíněnou. Etiologický podklad **primární hypertenze** je komplexní a nelze jej na rozdíl od sekundárních hypertenzí vysvětlit jedním etiopatogenetickým mechanismem. Předpokládá se kombinace tzv. predisponujících genů malého účinku a jejich vzájemná interakce spolu s enviromentálními faktory (Papadakis et. al, 2023). Společně vytváří jakousi patogenetickou mozaiku unikátní pro každého jednice, ve které jednotlivé mechanismy ovlivňující krevní tlak navzájem interagují. Aktivita sympatiku, imunitní odpověď, oxidativní stres, hospodaření se sodíkem, renální mechanismy a dle novějších studií i střevní mikrobiom (Harrison, 2021). Je známo mnoho klasických rizikových faktorů, z nichž některé jsou ovlivnitelné (obezita, nízká fyzická aktivita, vysoký příjem soli) a některé neovlivnitelné (věk, rasa). Tento typ hypertenze je nejčastější. Odhadovaný podíl je 90-95 % (Widimský, 2019). Při léčbě využíváme především arzenál antihypertenziv a jejich kombinace spolu s modifikací životního stylu.

Druhou skupinou jsou **sekundární hypertenze**. U těch je známo konkrétní onemocnění, které se navíc projevuje zvýšeným krevním tlakem, které je až druhotné. Obecněji řečeno jde o hypertenze se známou příčinou. Jedná se tedy pochopitelně o různorodou skupinu onemocnění, která souhrnně znázorňuje **tabulka 1**.

Obecně může jít o nemoci endokrinních žláz, které se svými působky (katecholaminy, aldosteron, aj.) podílí na regulaci krevního tlaku. Dále sem řadíme onemocnění ledvinného parenchymu a cév, koarktaci aorty či obstrukční spánkovou apnoi a další. Léčba je pochopitelně zaměřena na primární onemocnění nebo patologii, jehož kompenzace vede v ideálním případě k normalizaci krevního tlaku nebo alespoň k jeho lepší kontrole (Chiong et al., 2008). Nezřídka jde však o onemocnění obtížně léčebně ovlivnitelná.

Tabulka 1 – Sekundární hypertenze

| |
|---|
| **1. Endokrinní** |
| • primární hyperaldosteronismus |
| • bilaterální hyperplazie nadledvin |
| • unilaterální adenom nadledvin (Connův syndrom) |
| • unilaterální hyperplazie nadledvin |
| • feochromocytom |
| • hypertyreóza/hypotyreóza |
| • hyperkortikalismus |
| **2. Renoparenchymatózní** |
| • glomerulonefritidy |
| • chronické intersticiální nefritidy |
| • diabetická nefropatie |
| • polycystická nemoc ledvin |
| **3. Renovaskulární** |
| • aterosklerotické zúžení renální tepny |
| • fibromuskulární dysplazie |
| **4. Ostatní** |
| • obstrukční spánková apnoe |
| • koarktace aorty |
| • léky indukovaná hypertenze |
| • gestační hypertenze |

Poslední skupinou (někteří autoři je uváději spolu se sekundárními formami hypertenze) jsou **dědičné**, **monogenně podmíněné formy hypertenze**. U nich je znám gen/y tzv. velkého účinku, jehož mutace způsobí onemocnění. Dědičnost se zde řídí mendelovskými pravidly. Jde o mutace typu gain of function i loss of function. Do této skupiny se řadí i Liddleův syndrom. Jde o relativně malou část všech hypertoniků. Patofyziologicky se u drtivé většiny monogenních forem hypertenze v rozvoji nemoci uplatňují 4 různé mechanismy (Raina et al., 2019).

1) zvýšená syntéza mineralokortikoidních hormonů

2) porucha syntézy steroidních hormonů

3) porucha mineralokortikoidního receptoru

4) porucha funkce iontových kanálů ledvin

Pozn.: Výjimku tvoří například familiární feochromocytom, kde se uplatňuje zvýšená syntéza katecholaminů a vzácný syndrom hypertenze a brachydaktylie (HTNB), kde dochází k akcelerované proliferaci hladké svaloviny cév (Asim et al., 2020).

V následující **tabulce 2** je přehled monogenních forem hypertenze s uvedením jejich patogeneze.

Tabulka 2 – Monogenní formy hypertenze

| |
|---|
| **1. Zvýšená syntéza mineralokortikoidních hormonů** |
| • Familiární hyperaldosteronismus 1. typu (GRA) |
| • Familiární hyperaldosteronismus 2. typu |
| • Familiární hyperaldosteronismus 3. typu |
| • Familiární hyperaldosteronismus 4. typu |
| **2. Porucha syntézy steroidních hormonů** |
| • Kongenitální adrenální hyperplazie |
| • Syndrom zdánlivého nadbytku mineralokortikoidů (AME) |
| **3. Porucha mineralokortikoidního receptoru** |
| • Gellerův syndrom |
| **4. Porucha funkce iontových kanálů ledvin** |
| • Liddleův syndrom |
| • Gordonův syndrom |

Všechny tyto mechanismy však nakonec vyústí ve společný patofyziologický jev: zvýšenou resorpci sodných iontů ledvinou (Raina et al., 2019). Ta je téměř výlučně u všech jmenovaných mechanismů zajištěna právě epiteliálním sodíkovým kanálem.

Jako zástupce onemocnění u prvně zmíněného patofyziologického mechanismu – **zvýšená syntéza mineralokortikoidních hormonů** lze uvést například familiární hyperaldosteronismus 1. typu. U tohoto onemocnění dochází ke vzniku chimerického genu, kdy se syntéza aldosteronu dostává pod kontrolu ACTH (Torpy et al., 2000). Aldosteron aktivuje mineralokortikoidní receptor (MR) startující kaskádu dějů vedoucí ke zvýšené aktivitě epiteliálního sodíkového kanálu. Porucha tedy není v kanálu samotném.

Druhým mechanismem, tedy **porušenou syntézou steroidních hormonů** se vyznačují onemocnění vedoucí k alternativní aktivaci mineralokortikoidního receptoru. Příkladem může být kongenitální adrenální hyperplazie nebo syndrom zdánlivého nadbytku mineralokortikoidů (apparent mineralocorticoid excess, AME). U AME dochází k nadměrné aktivaci receptoru kortizolem, který má za normálních okolností pouze minimální mineralokortikoidní aktivitu – je totiž metabolizován enzymem 11β dehydrogenázou typu 2 na inaktivní kortizon. Aktivita tohoto enzymu je však vlivem mutace snížená či úplně chybí (Vehaskari, 2009). Tento enzym je také inhibován kyselinou glycyrrhizinovou – saponinem, který je obsažen v lékořici. Její nadměrná konzumace může vést k hypertenzi a hypokalémii stejným mechanismem jako AME (Lin et al., 2003).

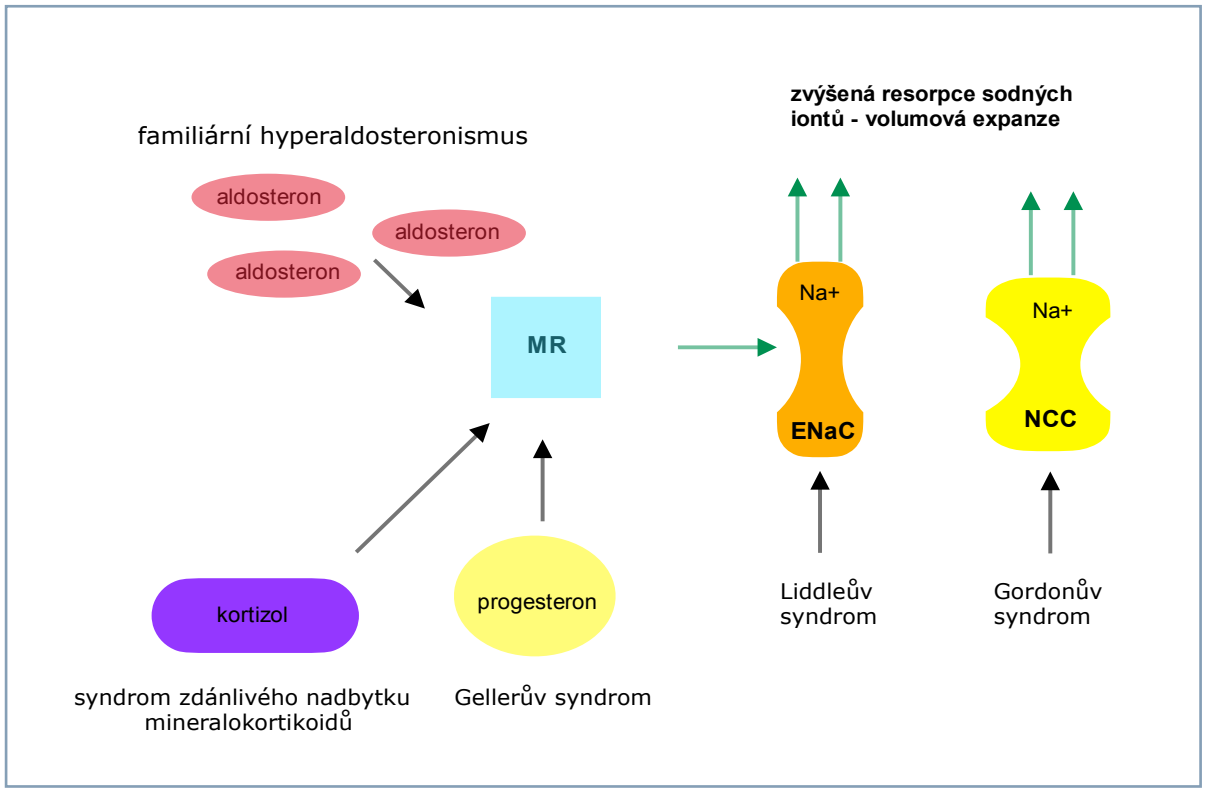
Třetí mechanismus tkví v **porušené funkci mineralokortoikoidního receptoru**. Ten je fyziologicky aktivován aldosteronem, nicméně například u Gellerova syndromu je MR mutovaný, což umožňuje jeho aktivaci jinými steroidními hormony než aldosteronem, například progresteronem (Levanovich et al, 2020). K akceleraci hypertenze dochází zejména v těhotenství.

Pro všechny tři předchozí jmenované je kromě hypertenze typická i přítomnost hypokalémie.

Nakonec může být příčinou excesivní resorpce sodných iontů **porucha funkce** některého z **iontových kanálů** v distálním tubulu. Gordonův syndrom neboli familiární hyperkalemická hypertenze se vyznačuje, jak již název napovídá, vysokým krevním tlakem, hyperkalémií, a metabolickou acidózou (Vehaskari, 2009). Vzniká na podkladě inaktivační mutace WNK4 (with no lysin kinase 4). Tato kináza fyziologicky snižuje počet aktivních $Na^+/Cl^-$ kotransportérů (NCC). Inaktivace kinázy vede k nadměrné aktivitě kanálu na membráně, což vede k excesivní resorpci sodných iontů. Tím je vysvětlena hypertenze. Hyperkalémie vzniká kvůli zvýšené endocytóze kanálů ROMK opět vlivem inaktivace WNK4 (Lalioti et al., 2006).

Poruchou funkce epiteliálního sodíkového kanálu vzniká Liddleův syndrom. Blíže o něj bude pojednáno v samostatné kapitole.

Schematicky jsou popsané 4 mechanismy vedoucí k excesivní resorpci sodných iontů znázorněny na následujícím **obrázku 1**.




**Obrázek 1** – Čtyři různé patogenetické mechanismy vedoucí u monogenních hypertenzí ke stejnému výsledku: zvýšené resorpci sodných iontů.

## 1.4 Epiteliální sodíkový kanál

Jak bylo uvedeno výše, důležitou úlohu v regulaci krevního tlaku skrze resorpci sodných iontů v ledvině hraje epiteliální sodíkový kanál. Náleží do rodiny kanálů „ENaC/Degenerin“. První funkční studii kanálu na vykultivovaných tubulárních buňkách metodou patch-clamp provedl v roce 1985 Hamilton a Eaton a položili tak základy jeho dalšímu studování (Hamilton et al, 1985).

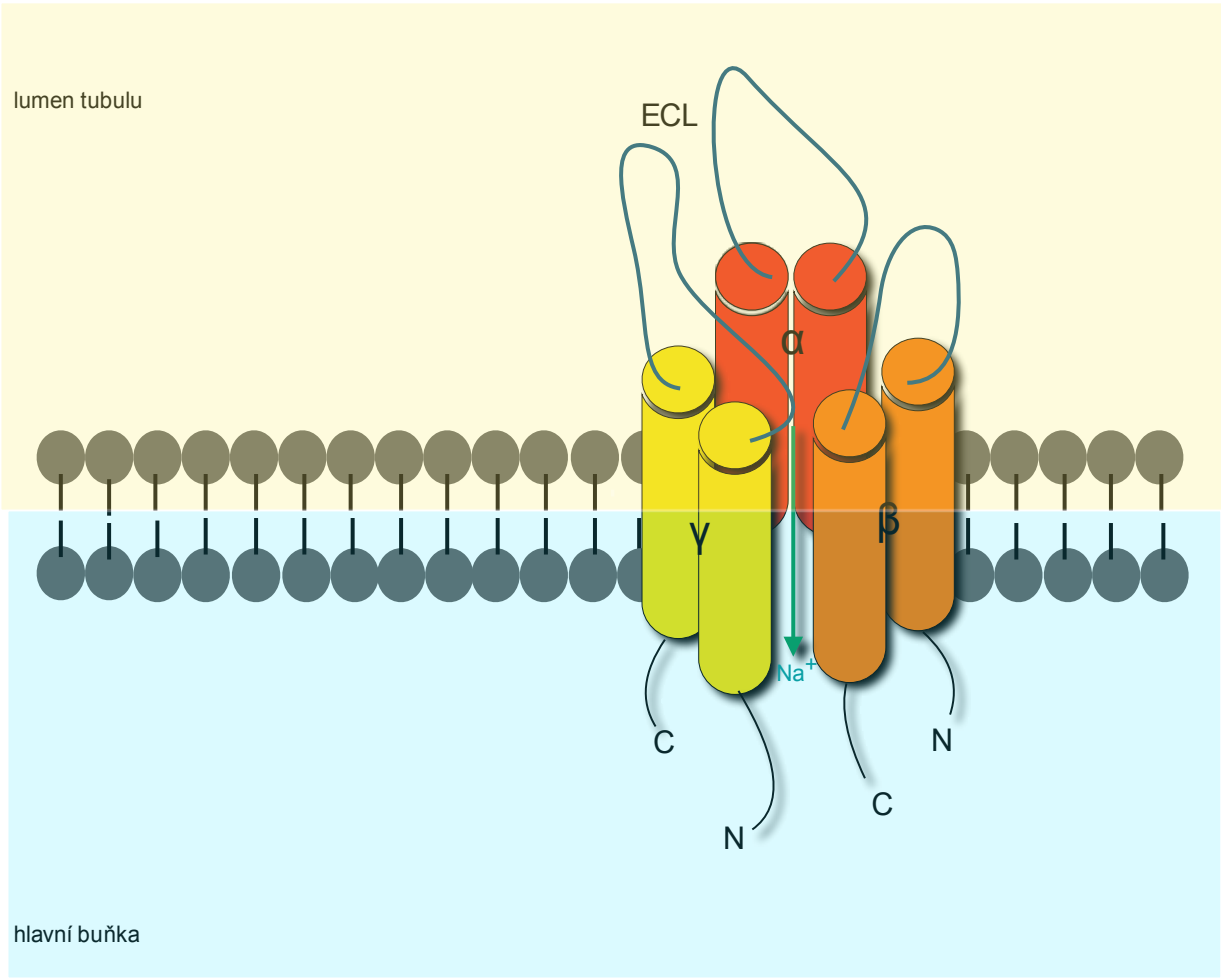
### Struktura a distribuce

Někdy je také nazývaný „amilorid-senzitivní sodíkový kanál“. V literatuře je nejčastěji uváděn pod zkratkou ENaC nebo také SCNN1 (sodium channel non-voltage gated 1). Skládá ze tří homologních podjednotek – alfa, beta a gama. Někdy je také uváděna podjednotka delta, která je variantou alfa podjednotky. Delta podjednotka je exprimována zejména v ne-epiteliálních tkáních (zejména v mozku), zatímco v ledvinách minimálně (Giraldez et al., 2012), a tak nebude dále podrobněji rozebírána.

Podjednotky jsou kódovány geny SCNN1A, SCNN1B a SCNN1G.

SCNN1A je lokalizován na chromozomu 12. SCNN1B a G kódující beta, respektive gama podjednotku, nacházíme na chromozomu 16 (Voilley et al., 1994).

Pro plnou funkci kanálu jsou nezbytné všechny 3 podjednotky, které spolu vytvoří heterotrimer alfa, beta, gama. Tomu nasvědčuje i skutečnost, že struktura kanálu je vysoce zakonzervovaná u všech obratlovců (Hanukoglu et al., 2016). Je však možná i varianta tvořená pouze alfa podjednotkou, protože ta samotná tvoří pór pro průnik sodných iontů. Takový kanál však postrádá regulační podjednotky beta a gama, které jsou nutné pro plnou funkčnost kanálu. Každá podjednotka se dále skládá z intracelulárního segmentu s C- a N- koncem proteinu, dvou transmembránových domén (TM1 a TM2) a extracelulární smyčky (ECL), jak je schematicky znázorněno na následujícím **obrázku 2**.




**Obrázek 2** – Epiteliální sodíkový kanál

Na obrázku je znázorněn epiteliální sodíkový kanál tvořený podjednotkou alfa, beta a gama. Každá podjednotka je tvořena C- a N- koncem uvnitř cytoplazmy hlavní tubulární buňky distálního nefronu, dále dvěma transmembránovými podjednotkami a extracelulární smyčkou. Mezi nimi je pór, kudy proudí sodné ionty z lumen tubulu do buňky.

Podrobná trojrozměrná struktura kanálu byla recentně odhalena pomocí technologie kryo-elektronové mikroskopie (Noreng et al., 2018).

Extracelulární smyčka (ECL) nebo doména (ECD) má především regulační úlohu. Obsahuje sekvence nutné pro správnou maturaci, aktivaci a funkci kanálu.

Uprostřed TM2 se nachází místo, které zajišťuje selektivitu kanálu pro sodné ionty. Ta je násobně větší než pro draselné. Selektivita kanálu je nejvyšší pro lithiové kationty, poté sodné a nejnižší pro draselné. Selektivita pro sodné kationty oproti draselným je nejvyšší v tubulech a pneumocytech, kde dosahuje více než desetinásobku. Kanál má vysokou afinitu k diuretiku amiloridu (Schild et al., 1995).

Intracelulární část podjednotek je tvořena karboxylovým (C-) a aminovým (N-) koncem celého proteinu. Podjednotka zde tedy začíná i končí. Proto je extracelulární doména vlastně smyčkou a protein prochází buněčnou membránou dvakrát v podobě TM1 a TM2. N- konec se podílí na vrátkování kanálu. C- konec obsahuje sekvence aminokyselin bohatých na prolin, tzv. *PY motiv*. Ten hraje ústřední roli v regulaci kanálu, protože je vazebným místem pro řadu regulačních proteinů (Canessa et al., 1994). Mutace postihující toto regulační místo může mít za následek zvýšenou aktivitu kanálu rezultující v onemocnění zvané Liddleův syndrom.

ENaC se nachází v mnoha různých tkáních. Nejvíce prozkoumaná je jeho úloha v ledvinách, kde reguluje skrze zpětnou resorpci sodných iontů intravaskulární volum a tím i krevní tlak.

V plicích se podílí na sekreci tekutiny pokrývající dýchací cesty a udržování mukociliární clearance. V gastrointestinálním traktu je resorpce sodných iontů vázána převážně na elektroneutrální transportéry. ENaC se zde podílí na resorpci sodíku pouze na úrovni tračníku a rekta a pravděpodobně přispívá k zahušťování stolice a snižování ztrát solutů stolicí. Dále byl ENaC nalezen v mozkové tkáni, endoteliích i dendritických buňkách imunitního systému (Rossier et al., 2008).

## Funkce a řízení

ENaC se v ledvinách nachází na apikální straně membrány hlavních tubulárních buněk. Konkrétně jde o buňky distálního stočeného kanálku, respektive jeho pozdního segmentu (DCT 2), spojovacího kanálku (CNT) a sběrného kanálku (CD). Spolu s $Na^+/Cl^-$ kotransportérem (NCC) zajišťuje v distálním nefronu vstřebávání sodíku. Distálním směrem hustota kanálů

ENaC na úkor NCC narůstá, s tím, že v oblasti sběrného kanálku zajišťuje absorpci sodíku již pouze ENaC (Arroyo et al., 2011).

ENaC je regulován několika mechanismy. Na jeho regulaci se podílí hormony skrze složité kaskády dějů, kterých se účastní jak hormony samotné, tak fosfolipidy, proteázy a kinázy. Zpětnovazebně je kanál regulován i samotnými sodnými ionty (Kleyman et al., 2018).

Hlavním regulátorem aktivity kanálu je **aldosteron**.

Ten je syntetizován v zona glomerulosa nadledvin. Poté, co vstoupí do buňky, váže se na cytoplazmatický mineralokortikoidní receptor (MR), se kterým vytvoří komplex. Tento je translokován do jádra, kde spouští různé transkripční procesy. Ty mají různě rychlý efekt působení. Mezi rychlé patří translokace již syntetizovaných podjednotek kanálu z cytoplazmatického poolu na membránu, a tedy zvýšení jejich aktivity. Pomalejší odpovědí je pak navýšení syntézy samotných podjednotek kanálu (Barrett, 2012, s. 370-371).

Navzdory významným pokrokům ve výzkumu v oblasti fungování aldosteronu zůstává stále mnoho nezodpovězených otázek. Zdá se, že aldosteron působí pouze v jistém segmentu distálního nefronu, kde reguluje aktivitu kanálu ENaC a tou je distální úsek spojovacího kanálku (CNT) a sběrací kanálek (CD). V těchto úsecích je exprese mineralokortikoidního receptoru spojena s expresí 11β- hydroxysteroid dehydrogenázy typu 2 (11β-HSD2). Tento enzym přeměňuje aktivní kortizol v inaktivní kortizon a tím brání obsazování receptoru právě kortizolem, který by jinak receptor nadměrně aktivoval. V proximálních částech tento enzym chybí, avšak ENaC je aktivní stále, a tedy do určité míry nezávisle na hladině aldosteronu (Nesterov et al., 2012).

Jak bylo napsáno výše, aldosteron ovlivňuje transkripční procesy. Indukuje nebo suprimuje transkripci dalších molekul (proteáz, kináz aj.), které zasahují do regulace ENaC. Výsledným efektem kaskády dějů, na jejímž počátku stojí aldosteron, je vždy zvýšená aktivita ENaC.

Jaký je vlastně stimul pro sekreci aldosteronu? V zásadě existují dvě možnosti. Za prvé je to hypovolémie, která spouští osu RAAS, a zadruhé je to hyperkalémie. Hypovolémie a hyperkalémie jsou však dva odlišné stavy. Pokud by platilo, že oba vyvolají zvýšenou sekreci aldosteronu, měly by teoreticky vést ke stejnému výsledku a tím by bylo zvýšení intravaskulárního volumu a exkrece kalia současně.

U hypovolémie by tedy zpětnovazebná sekrece aldosteronu vedla k hypokalémii a u hyperkalémie by byl organismus schopný snížit kalémii jen za cenu rozvoje hypertenze (opět

vlivem aldosteronu). Toto se naštěstí neděje, i když by na první pohled mělo. Tato diskrepance v působení aldosteronu se nazývá **aldosteronový paradox** (Arroyo et al., 2011). Jak je tedy možné, že tyto dva efekty (zvyšování volumu a exkrece kalia) fungují odděleně?

Vysvětlení patrně spočívá v rozložení kanálů ENaC v průběhu distálního nefronu a jeho vnímavostí na regulaci aldosteronem. Ta je nejvyšší v oblasti koncových segmentů distálního nefronu, a jak bylo již psáno, souvisí s přítomností enzymu 11β- hydroxysteroid dehydrogenázy typu 2. Naproti tomu v proximálních úsecích je resorpce natria zajišťována ve větší míře $Na^+/Cl^-$ kotransportérem, který zvyšuje svou aktivitu vlivem angiotenzinu II. V případě hypovolémie je aktivována osa RAAS a dochází ke zvýšené resorpci natria ve vysoké míře již v proximálních úsecích distálního nefronu vlivem působení angiotenzinu II. Do distálnějších úseků, kde jsou bohatě zastoupeny kanály pro exkreci kalia, se tak dostane relativně málo sodíku. Vzhledem k tomu, že hlavní hnací silou pro exkreci kalia je vysoký elektrochemický gradient v lumen při vysokém průtoku tubulární tekutiny (Palmer, 2015), který však zvýšenou resorpcí natria v proximálních úsecích nemohl být vytvořen, k hypokalémii nedochází. Tento efekt je podpořen inhibicí ROMK (renal outer medullary $K^+$) kanálů zvýšenými hladinami cirkulujícího angiotenzinu II.

Hyperkalémie má za následek stimulaci aldosteronu bez aktivace celé osy RAAS. Děje se tak přímým vlivem draselných iontů na zona glomerulosa nadledvin. Nedochází tak ke zvýšené tvorbě angiotenzinu II a tím pádem nejsou aktivovány kanály NCC v proximálních segmentech nefronu. Do distálních úseků se tedy dostává relativně velké množství sodíku, což favorizuje exkreci kalia. Dochází k resorpci natria (kanály ENaC) na úkor draselných iontů, které jsou secernovány ROMK kanály a BK (big $K^+$) kanály. Tyto kanály jsou exprimovány konstitutivně (bazální exprese nezávislá na regulačních molekulách), ve zvýšené míře však navíc pod vlivem aldosteronu (Welling, 2013). Vzhledem k tomu, že u hyperkalémie není aktivována osa RAAS (pouze aldosteron), tedy nestoupá hladina AT II, nemůže se uplatnit jeho inhibiční vliv na ROMK kanály, jak bylo popsáno v přípdadě hypovolémie (Palmer, 2015).

Výsledkem působení aldosteronu je tedy zvýšená aktivita epiteliálního sodíkového kanálu. Je třeba uvést, že aldosteron není „finální molekulou“, ale působí přes řadu dalších prostředníků, jimiž jsou různé kinázy a proteázy. Jejich výčet přesahuje rámec této práce, ale rád bych uvedl alespoň některé.

Dobře prozkoumanou molekulou je ubikvitin ligáza NEDD4-2. Tato ubikvitináza rozpoznává *PY motiv* intracelulárních segmentů (C- konce) podjednotek kanálu ENaC. Její navázání vede

k internalizaci a degradaci kanálu. Tato vazba je narušena u Liddleova syndromu, jak bude dále uvedeno v příslušné kapitole. Dalším dílkem do skládačky interakce aldosteron – ENaC je kináza SGK1. Tato kináza je aktivována aldosteronem a její činností dochází k fosforylaci NEDD4-2. Fosforylace znemožní navázání NEDD4-2 na ENaC, což se projeví ve snížené degradaci kanálu. SGK1 se zdá být integrální součástí více regulačních drah. Na animálních modelech je dobře prozkoumán vliv inzulinu na aktivitu ENaCu. Ten patrně přes SGK1 a další kinázy spouští fosforylaci NEDD4-2 (Kamynina et al., 2002). Dalšími signálními molekulami v popředí zájmu jsou takzvané „*with no lysine*“ kinázy (WNKs), *mTOR,* inzulin a IGF-1 či proteázy a fosfolipidy (Rotin et al., 2021). Všechny zmiňované nějakým způsobem zasahují do regulace kanálu ENaC ale i dalších iontových kanálů. Rozkrýt celou signalizační kaskádu, která se podílí na řízení aktivity kanálu se zatím nepodařilo. Jde o komplexní děj s mnoha proměnnými a vzájemnými interakcemi.

## 1.5 Onemocnění spojená s mutací epiteliálního sodíkového kanálu

Mutace genů regulujících aktivitu ENaCu kdekoliv na ose RAAS-ENaC mohou způsobit onemocnění projevující se zejména hyper- nebo hypotenzí a odchylkami vnitřního prostředí. Jde o monogenně podmíněná onemocnění. Některá z nich byla zmíněna v předchozím textu a jsou uvedena v **tabulce 2**.

Ta, která jsou způsobena přímo mutací epiteliálního sodíkového kanálu, jsou dvě: systémová forma pseudohypoaldosteronismu 1. typu a Liddleův syndrom. Vztah polymorfismů kanálu ENaC k esenciální hypertenzi bude také probrán v této části.

### Pseudohypoaldosteronismus 1. typu (PHA1)

Toto onemocnění se vyskytuje ve dvou typech lišících se genetickým podkladem a klinickými rysy (Hanukoglu et al., 1991). Rozlišujeme renální a systémovou formu. Obě formy charakterizuje rezistence k mineralokorikoidům. V případě renální formy PHA1 jde o onemocnění s autozomálně dominantním typem dědičnosti. Inaktivační mutace postihuje gen *NR3C2* kódující mineralokortikoidní receptor. Nejde tedy o defekt na úrovní epiteliálního sodíkového kanálu, a proto se tomuto onemocnění nebudu dále podrobněji věnovat.

**Systémová** forma PHA1 je autozomálně recesivní onemocnění, jehož původ tkví v inaktivační mutaci genu pro epiteliální sodíkový kanál. Mutace může postihnout kteroukoli z podjednotek kanálu (alfa, beta, gama) a vede k tvorbě nefunkčního proteinu. Onemocnění se manifestuje již v novorozeneckém věku těžkou dehydratací, která se způsobena generalizovanou ztrátou soli mnoha orgány, zahrnující ledviny, GIT a potní žlázy (Pugh, 2022). V dýchacích cestách se nachází zvýšené množství hlenu, což může vést k dechovým potížím (Kerem et al., 1999). Laboratorně dominuje hyponatrémie, hyperkalémie a metabolická acidóza. Koncentrace sodíku v potu je vyšší a má diagnostický význam (Riepe et al., 2009). Všechny tyto odchylky pramení ze sníženého vstřebávání sodíku nefunkčním kanálem, na kterém je nepřímo závislá i adekvátní exkrece kalia a protonů. Zpětnovazebně dochází k elevaci hladin aldosteronu a reninu. Jde o chronické onemocnění s nutností trvalé suplementace NaCl. Součástí léčby jsou i iontoměniče snižující kalémii. Onemocnění je vzácné a zprvu bývá často zaměněno za častější subtyp kongenitální adrenální hyperplazie se ztrátou soli. To vede často k iniciální nesprávné léčbě, a tudíž zhoršení prognózy pacienta (Pugh, 2022).

### Liddleův syndrom

Liddleův syndrom je zrcadlovým obrazem systémové formy pseudohypoaldosteronismu 1. typu.

V roce 1963 publikoval americký endokrinolog G.W. Liddle případ 16leté dívky s rezistentní hypertenzí, nízkou reninovou aktivitou, hypokalémií a metabolickou alkalózou. Předpokládal primární hyperaldosteronismus, nicméně hladina aldosteronu byla u pacientky nízká. Exkrece kalia a sodíku do moči se nesnížila, resp. nezvýšila ani po podání spironolaktonu. Rovněž krevní tlak a kalémie se neupravily. Na nízkosodíkové dietě nedošlo k adekvátnímu vzestupu hladin aldosteronu. Naopak po podání triamterenu (blokátor kanálu ENaC) došlo k normalizaci krevního tlaku a vnitřního prostředí. Tyto skutečnosti navedly autora k myšlence, že se bude pravděpodobně jednat o jakýsi defekt na úrovni distálního tubulu nefronu imitující primární aldosteronismus. Tato pozorování publikoval v článku pod názvem „*A familial renal disorder simulating primary aldosteronism but with negligible aldosterone secretion*“ (Liddle, 1963).

Tato pacientka nakonec dospěla do stadia renálního selhání (z neznámé příčiny) s nutností hemodialýzy a posléze byla indikovaná k transplantaci ledviny v roce 1989 (ve 45 letech). Po transplantaci ledviny byla dále sledována nefrologem (M. Botero-Velez). Opakovaně byl

zaznamenán pouze lehce zvýšený krevní tlak, kalémie a pH krve byly v normě. Na nízkosodíkové dietě došlo k adekvátnímu vzestupu reninu a aldosteronu v krvi. Tyto skutečnosti potvrdily původní doměnky G.W. Liddlea, že se patrně jedná o poruchu na úrovni samotného nefronu.

M. Botero-Velez se rozhodl zkoumat dalších 43 příslušníků rodiny této pacientky. Zjistil, že 18 z nich má vysoký krevní tlak. V této skupině bylo také větší zastoupení hypokalémie a sníženého vylučování aldosteronu v moči (nebyly měřeny sérové hladiny aldosteronu) v porovnání s normotenzními jedinci. Také si všiml různé variability projevů nemoci. Někteří jedinci navzdory nízkým hladinám aldosteronu neměli rozvinutou hypertenzi či hypokalémii a naopak, ne všichni hypertonici trpěli současně hypokalémií. Konstantním znakem se zdálo být snížené vylučování aldosteronu močí (Botero-Velez M et al., 1994). Byl sestaven rodokmen, který naznačoval autozomálně dominantní typ dědičnosti této choroby. Pojmenoval ji po G.W. Liddleovi – Liddleův syndrom.

Nyní zbývalo objasnit na jaké úrovni přesně se porucha vstřebávání sodíku vyskytuje. Vzhledem k výše zmiňovanému pozitivnímu efektu triamterenu u pacientů s LS se jako nejpravděpodobnější jevil defekt na úrovni samotného epiteliálního sodíkového kanálu (jenž je blokován právě triamterenem) nebo mineralokortikoidního receptoru. Tuto hádanku se podařilo rozklíčovat genetikovi jménem R.A. Shimkets, který provedl genetickou analýzu studované rodiny. Objevil mutaci v genu pro beta podjednotku epiteliálního sodíkového kanálu.

LS je způsoben aktivační mutací genu pro ENaC. Jak bylo uvedeno výše v sekci o struktuře sodíkového kanálu, podjednotky beta a gamma obsahují ve svém intracelulární úseku takzvaný *PY motiv*, což je sekvence aminokyselin s bohatým zastoupením prolinu. Tento úsek je důležitým regulačním místem. Navázáním proteinkinázy NEED4-2 dochází k ubikvitinaci kanálu, a tedy celkově ke snížení počtu aktivních kanálů na membráně buňky. Mutace tohoto kritického úseku proteinu znemožňuje navázání NEDD4-2, což vede k setrvalé kumulaci aktivních kanálů. Mutace alfa podjednotky vede k odlišnému stavu. Regulace počtu kanálů je zachována, nicméně může vést ke zvýšení propustnosti kanálu změnou jeho konformace (Salih et al., 2017).

LS je vzácné onemocnění, ačkoliv patrně ne natolik, jak se očekávalo. Přesná prevalence v obecné populaci není známá. Vzhledem k nutnosti provedení genetického vyšetření k potvrzení diagnózy, které se však v praxi rutině neprovádí, lze očekávat, že prevalence je ve skutečnosti podhodnocena. U velké části pacientů, u nichž není přítomná hypokalémie není na

tuto nemoc pravděpodobně ani pomýšleno a jsou tedy více či méně úspěšně léčeni standardně. Hypokalemie v případě pacientů již užívajících diuretika může být navíc brána jako léčbou indukovaná. Rozvoj hypertenze až v dospělém věku nebudí takové podezření na možnou genetickou poruchu jako hypertenze manifestovaná v dětství.

Bylo provedeno několik studií v čínské populaci hypertoniků s různou další mírou selekce vyšetřovaných jedinců (přítomnost hypokalemie, časná manifestace hypertenze atd.). Prevalence Liddleova syndromu se pohybovala kolem 1,5 % (Wang et al., 2015; Liu et al., 2018). Studie na bělošské (Persu et al., 1998) populaci hypertoniků z databáze HYPERGENE prokázala mutaci potenciálně způsobující LS pouze u 2 z 475 subjektů (0,4 %). Zde je třeba zdůraznit, že genetické analýze byl podroben pouze gen kódující beta podjednotku kanálu (SCNN1B), nikoli alfa a gama, a navíc byla selekce pacientů poměrně přísná (absence renální insuficience, diabetu, věk pod 55 let aj.).

Liddleův syndrom se projevuje variabilně od útlého dětství po dospělost, a to v různé tíži. Klasickými projevy jsou arteriální hypertenze, hypokalémie, metabolická alkalóza a nízká hladina aldosteronu. Tyto atributy vyplývají ze zvýšené aktivity kanálu. Nadměrná resorpce sodíku vede k volumové expanzi extracelulární tekutiny, tedy včetně intravaskulárního objemu. Rozvíjí se hypertenze. Zpětnovazebně dochází k útlumu sekrece aldosteronu. Zvýšenou resorpcí kladně nabitých sodných iontů se stává lumen tubulu více elektronegativním. Pro zachování elektroneutrality je třeba rozdíl v potenciálu vyrovnat, a tak dochází k exkreci draselných iontů z buňky do lumen. Snížená elektronegativita tubulární tekutiny vlivem resorpce natria favorizuje exkreci kalia a protonů. Vyvíjí se hypokalémie a metabolická alkalóza (Enslow et al, 2019).

Léčba je založena na blokádě epiteliálního sodíkového kanálu. Na výběr je v současné době buďto amilorid nebo triamteren. Mutace kanálu způsobující LS neovlivňuje vazebnost těchto molekul (vazebná místa se nacházejí v oblasti transmembránové domény). Amilorid je běžně dostupný v kombinaci s chlortalidonem jako fixní preparát, což pochopitelně není optimální z hlediska možného prohloubení přítomné hypokalémie. V ČR je dostupný samostatně připravovaný magistraliter. Současně s cílenou farmakoterapií by měl být omezen příjem soli. V případě kontraindikace amiloridu či triamterenu se nabízí jiná antihypertenziva, nicméně ta jsou ze své podstaty málo účinná, když vezmeme v potaz patogenezi arteriální hypertenze konkrétně u LS. U některých případů s LS mohou být však jiná antihypertenziva postačující ke kontrole krevního tlaku. V případě léčby těhotných žen s LS se pohybujeme na méně jisté půdě,

nicméně se zdá, že amilorid by mohl být bezpečný i u nich (Caretto et al., 2014). Je třeba vždy posoudit možné riziko a benefit.

## Esenciální hypertenze

Předchozí dvě popisovaná onemocnění, LS a PHA-1, jsou typickými představiteli dědičných onemocnění řídící se mendelovskými pravidly dědičnosti. Jsou způsobeny **vzácnými** mutacemi, tedy těmi, které se v obecné populaci vyskytují s četností <0,1 %.

Mutace, které se v populaci vyskytují častěji (alespoň v 1 %), nazýváme polymorfismy (Pritchard et al., 2021). Často jde o jednonukleotidové polymorfismy (SNPs). Polymorfismy v kódujících oblastech genomu rozlišujeme na synonymní a nesynonymní.

Synonymní SNPs sice vedou ke změně konkrétního nukleotidu (například záměna cytosinu za adenin), nicméně vzhledem k degeneraci genetického kódu, taková změna nemusí měnit příslušnou kódovanou aminokyselinu.

Nesynonymní mutace změnou nukleotidu naopak vedou ke nové sekvenci aminokyselin, a to buď záměnou za jinou AMK (missense) nebo zařazením stop kodonu (nonsense).

SNPs se vyskytují u každého člověka napříč celým jeho genomem. Odhaduje se, že SNP se vyskytuje až v 1 z 1000 nukleotidů, což čítá až 5 milionů polymorfismů u jedné osoby (Procházka et al., 2018).

SNPs se samozřejmě nevyhýbají ani genu pro epiteliální sodíkový kanál. Tím pochopitelně vyvstává otázka, zda mají tyto polymorfismy i klinický korelát, tedy zda se podílí na rozvoji hypertenze či nikoliv. Esenciální hypertenze nemá jasnou jednu příčinu. Dosavadní chápání této nemoci se opírá o multifaktoriální model, kdy se na rozvoji hypertenze podílí jednak vlivy zevního prostředí (70 %), tak genetická výbava jedince (30 %). Právě genetická výbava ve smyslu kandidátních genů a jejich polymorfismů v patogenezi hypertenze byla v posledních dvou dekádách předmětem zájmu. Zde uvedu několik příkladů autorů zabývající se konkrétně polymorfismy genů pro ENaC a jejich vztahu ke krevnímu tlaku.

Studie KAREm provedená na korejské populaci zahrnovala celkem 7551 jedinců bez anamnézy užívání antihypertenzní medikace. U nich byly vytipovány polymorfismy genů potenciálně ovlivňující krevní tlak, včetně genů pro epiteliální sodíkový kanál. Byly nalezeny 4 polymorfismy se signifikantním vztahem ke krevnímu tlaku. 2 SNPs (*rs7205273 a rs8044970*)

v SCNN1B byly asociované s nižším krevním tlakem a další 2 (*rs4073930* a *rs4073291*) v SCNN1G s vyšším tlakem krve. Následně byla provedena case-control analýza (zahrnující 4452 případů vs. 1968 kontrol), která tento vztah potvrdila (Jin et al., 2010).

Studie (Tobin et al., 2008) zahrnující 2037 evropanů nalezla statisticky významný rozdíl, (nikoli klinicky) také u SNPs v genech pro beta a gama podjednotku (SCNN1B a G). Na rozdíl od předchozí studie, byl v této krevní tlak měřen v ordinaci lékaře a následně ještě formou 24hodinového AMTK. Rozdíl u varianty *rs4967948* a *rs4309398* genu SCNN1G oproti běžným variantám byl pouze v systolickém krevním tlaku v nočních hodinách. Polymorfismus *rs239345* genu SCNN1B byl naopak protektivní a snižoval diastolický krevní tlak měřený v ordinaci lékař, nikoli však při AMTK.

(Büsst et al., 2007) podrobil analýze jako první celý gen pro gama podjednotku (SCNN1G) a nalezl 3 polymorfismy (*rs13331086*, *rs11074553*, and *rs4299163*) v intronech 5 a 6, které korelují s vysokým systolickým tlakem krve.

Mnoho studií však přineslo rozporuplné výsledky (Liu et al., 2015). Konkrétně například ve vztahu polymorfismu genu pro alfa podjednotku tyto nekonzistentní výsledky shrnuje metaanalýza zahrnující 3477 hypertoniků a 2687 kontrol (Yang et al., 2015). Zatímco jedna studie konstatovala zvýšené zastoupení u hypertoniků, další poté zcela neutrální vztah ke krevnímu tlaku a třetí dokonce protektivní vliv konkrétního polymorfismu ve vztahu ke krevnímu tlaku (Yang et al., 2015).

Polymorfismy genů kódujících ENaC vliv na výši krevního tlaku jistě mají, nicméně dle dosavadních poznatků hraje v patofyziologii esenciální hypertenze hrají spíše malou roli a jsou pouhými dílky ve velké mozaice. Ani novější přístup pomocí celogenomových asociačních studií (GWAS) nepřinesl zásadní změnu v chápání etiopatogeneze hypertenze, coby komplexního onemocnění, u něhož sehrává úlohu kombinace zevních vlivů a mix genů malého účinku (Rossier et al., 2008)

# 2 Praktická část

## 2.1 Cíle a východiska

Cílem této práce bylo podrobné vyšetření skupiny pacientů v rámci jedné rodiny, z nichž někteří jedinci byly v péči odborné ambulance pro léčbu hypertenze a vyskytovaly se u nich atributy svědčící pro možný Liddleův syndrom. Dalším cílem bylo zhodnotit genotyp a fenotyp těchto probandů a zasadit ho do kontextu současných poznatků o této nemoci a shrnout dosavadní poznání o epiteliálním sodíkovém kanálu a LS.

## 2.2 Metodika

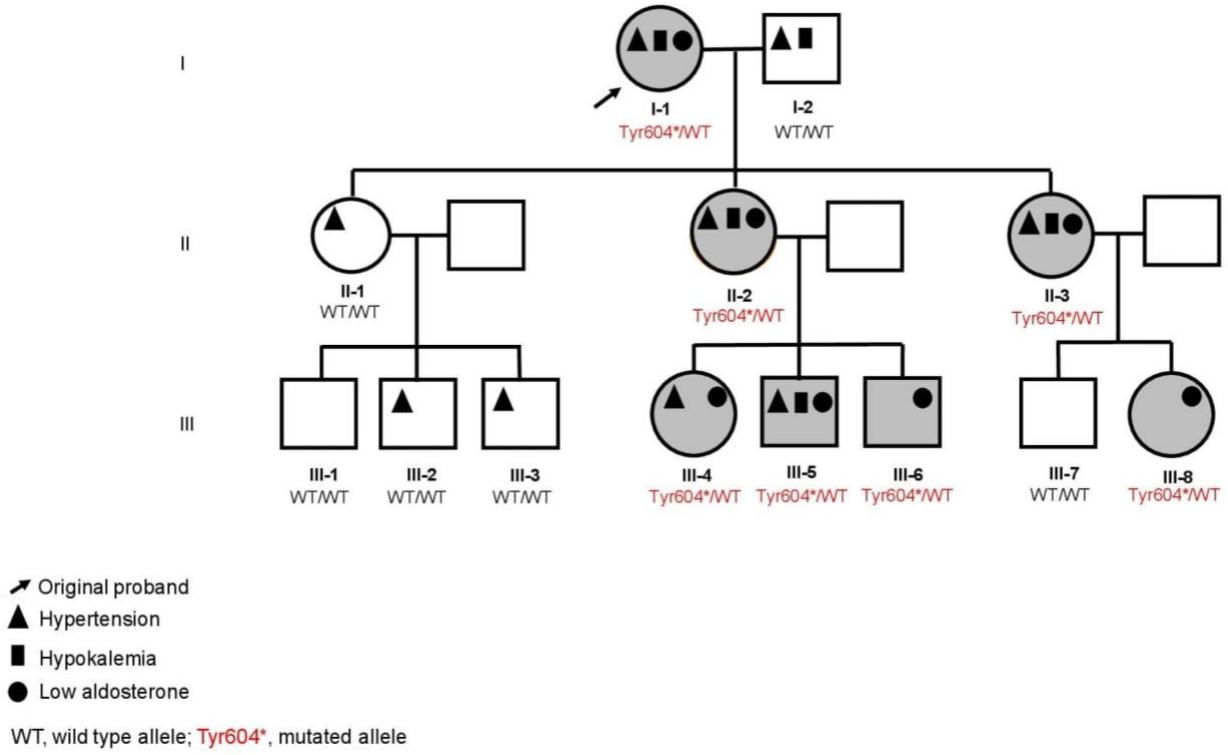
Bylo vyšetřeno třináct jedinců z jedné rodiny, celkem tři generace. Všichni podstoupili fyzikální vyšetření včetně důkladného odebrání anamnézy a opakovaného měření krevního tlaku podle současných doporučených postupů České společnosti pro hypertenzi. Vysoký krevní tlak byl definován jako TK vyšší než 140/90 mmHg u dospělého nebo TK přesahující 95. percentil příslušné věkové kategorie a pohlaví u dětí nebo anamnéza arteriální hypertenze a současné užívání antihypertenzní medikace. Dále proběhl odběr krevních vzorků podle standardních postupů FN Plzeň (www.ukbh.cz). Vzorky byly podle požadovaných parametrů vyšetřeny v laboratořích Ústavu klinické biochemie a hematologie FNP, Oddělení imunochemické diagnostiky a laboratoří Biomedicínského centra. Vyšetřovanými parametry nejvíce relevantními pro naše účely byly hladiny iontů v séru, sérový renin a aldosteron. Genetické vyšetření oblasti DNA kódující podjednotky kanálu ENaC proběhlo metodou sangerovské sekvenace.

Literární rešerše dostupných relevantních publikací zabývající se problematikou epiteliálního sodíkového kanálu a Liddleovým syndromem byla provedena za použití databáze MEDLINE.

## 2.3 Výsledky

### Genetika

Z třínácti vyšetřovaných jedinců bylo nalezeno sedm nositelů mutace v genu kódující beta podjednotku kanálu ENaC: Tyr604* (záměna tyrosinu na pozici 604 za stop kodon). Rodokmen rodiny je znázorněn na **obrázku 3**.




**Obrázek 3** – Rodokmen vyšetřované rodiny

Původní probandka I-1 je označena šipkou, její tří dcery (generace II) a jejich děti (generace III). Sedm z třínácti vyšetřovaných jedinců nese mutaci Tyr604*. Zde jsou označeni červeně. Jednotlivé symboly blíže uvedené v legendě označují přítomnost daného projevu.

Jde o novou, dosud nepublikovanou mutaci. Nachází se před kritickým úsekem genu, kódující důležité regulační místo proteinu, tzv. *PY motiv* (p.614-621 exonu 13). Následkem mutace dochází k záměně cytosinu na pozici 1988 za adenosin, čímž dojde k předčasnému zařazení stop kodonu. Jde tedy o nonsense mutaci, jejímž výsledkem je zkrácený protein – v tomto případě zkrácená beta podjednotka kanálu ENaC. Absencí kritického místa, kam se normálně váže NEDD4-2 při procesu ubikvitinace kanálu, dochází k akumulaci kanálu na membráně se všemi z toho plynoucími konsekvencemi.

Toto je samozřejmě pouze teorie, která by měla být ověřena experimentálně funkční studií s mutovaným kanálem. Takové studie se rutinně provádějí na oocytech drápatky vodní (*Xenopus laevis*) a představují nejčastěji užívaný expresní systém pro studium funkce iontových kanálů obecně. Pomocí metody patch clamp jsou měřeny iontové proudy (Schild et al., 1995). Doposud bylo provedeno několik funkčních studií mutovaného kanálu ENaC, které prokázaly zvýšený tok sodíkových iontů v systému. Šlo o mutace, které postihují jak úsek před pozicí p.604 (námi objevená mutace), tak za ní (Jeunemaitre et al., 1997; Gong et al., 2014; Hansson et al., 1995). Z tohoto důvodu a faktu, že postižení jedinci mají vyjádřený fenotyp LS, lze spolehlivě usuzovat, že takto mutovaný kanál bude mít stejné atributy (hyperaktivní) a funkční studii jsme tedy již neprováděli.

Doposud byl publikován pouze jeden případ české rodiny s Liddleovým syndromem (Ciechanowicz et al, 2005).

## Popis rodiny

Vyšetřili jsme rodinu čítající 13 jedinců ve třech generacích, celkem šest žen a sedm mužů. Všichni až na manžela probandky byli pokrevně příbuzní. Jednalo se tedy o původní probandku, jejího manžela, jejich děti (3 dcery) a děti těchto dcer (5 mužů/chlapců a 2 ženy/dívky). Věkové rozpětí bylo v době vyšetření 8-64 let. Na následujících řádkách bude popsána stručná historie rodinných příslušníků, o kterých jsme již před provedením vyšetřování celé rodiny měli informace, respektive byli pacienty ambulance pro léčbu hypertenze na našem pracovišti.

Původní probandka (***I-1***) je žena narozená v roce 1954. Hypertenze u ní byla diagnostikovaná ve 12 letech věku. Ve 20 letech byla hospitalizovaná pro symptomatickou akceleraci krevního tlaku s hodnotami přesahujícími 200/100 mmHg. Do péče našeho centra pro hypertenzi se dostala v 39 letech z důvodu obtížně kontrolované hypertenze. Podstoupila základní vyšetření k vyloučení sekundární etiologie nemoci. Sérový aldosteron, renin ani koncentrace metanefrinů nepoukazovaly na pravděpodobnou sekundární příčinu. Dopplerovská ultrasonografie ledvin a renálních cév včetně nadledvin byla s normálním nálezem. Zpočátku byla léčena kombinací ACEI, CCB a betablokátor. Tato kombinace byla účinná z hlediska kontroly krevního tlaku. Renální funkce vyjádřené odhadovanou glomerulární filtrací a kalémie byly v normě. Jedinou odchylkou byla dyslipidémie s LDL-C přesahujícím 4 mmol/l navzdory léčbě statinem. Kolem 50. roku života byl do léčby přidán indapamid pro opakovaně vyšší hodnoty krevního tlaku (150/90 mmHg). Tehdy se u pacientky poprvé vyskytla hypokalémie (2,7 mmol/l), a to na dávce indapamidu 2,5 mg/den. Byla zahájena suplementace kalia s postupně se zvyšující dávkou od 500 do 3000 mg/den. Mezitím pacientka přibrala na váze a manifestoval se diabetes mellitus 2. typu. V 63 letech (rok 2017) se přidala fibrilace síní a středně významná diastolická dysfunkce levé komory. Pacientka má pozitivní rodinnou anamnézu předčasného výskytu kardiovaskulárních onemocnění. Její matka měla hypertenzi diagnostikovanou v dětství a ve 36 letech zemřela v důsledku cévní mozkové příhody. Bratr pacientky měl opakovaně infarkt myokardu a cévní mozkové příhody. Zemřel ve 43 letech věku.

Probandka porodila tři dcery, dále označované jako (***II-1***), (***II-2***) a (***II-3***). V době vyšetřování jsme měli informace o pacientce (***II-2***), jejím synovi (***III-5***) a její sestře (***II-3***) a bude o nich pojednáno přednostně. Ve snaze o zlepšení přehlednosti je symbol matky a jejích potomků označen stejnou barvou.

Pacient (***II-2***) je žena narozená v roce 1977. V době vyšetření ji bylo 41 let. Hypertenze u ní byla diagnostikovaná ve 14 letech. V 17 letech byla zaznamnenána lehká hypokalémie (3,4 mmol/l) bez současného užívání diuretika. Již v této době u ní byl také měřen vysoký LDL cholesterol (6,0 mmol/l). Navzdory antihypertenzní medikaci se hypertenze spíše horšila, a to zejména během prvního těhotenství (TK 165/110 mmHg), nicméně během dalších dvou těhotenství byl krevní tlak v normě. Nadále byla léčena kombinací CCB+BB. Postupem času, kolem 23. roku života, byl do terapie přidán indapamid a suplemetace kalia. Ke kontrole krevního tlaku stačila minimální dávka indapamidu (2,5 mg 2x týdně) a na 500 mg kaliumchloridu oscilovala kalémie od 3,1 mmol/l do 3,9 mmol/l. Ve 34 letech byl indapamid nahrazen amiloridem v dávce 5 mg/den. Nadále již nebyla suplementace kalia zapotřebí a její hodnoty krevního tlaku a kalémie byly v normě.

Její syn (***III-5***) byl narozen v roce 2001. V 5 letech byl hospitalizován pro prvozáchyt arteriální hypertenze. 24hodinový průměr během AMTK byl 128/72 mmHg, což představovalo více než 95. percentil pro daný věk (Šamánek et al., 2009). Kalémie byla 3,8 mmol/l, aldosteron a renin nízký. Byla zahájena terapie fixní kombinací amiloridu s chlortalidonem (Amicloton®) v dávce 1,25/6,25 mg denně. Na této léčbě došlo k normalizaci krevního tlaku a kalémie.

Pacientka (***II-3***), sestra výše zmiňované pacientky (***II-2***), byla narozena v roce 1982. Arteriální hypertenze u ní byla zjištěna v 11 letech. Nejvyšší zaznamenaná hodnota TK byla 174/122 mmHg kolem dosažení dospělosti. V této době byl ke stávající terapii (ACEI+CCB+BB+rilmenidin) přidán indapamid. V návaznosti na tuto léčbu byl sledován propad kalémie k hodnotám 3,1 mmol/l (do té doby normokalémie). Suplementace kalium-chloridem v dávce 500-1000 mg/den byla nově zavedena a plně postačovala. Kolem 36 let věku pacientka významně redukovala svou váhu, což vedlo ke snížení krevního tlaku a současně možnosti redukovat antihypertenzní terapii na pouhý felodipin v dávce 2,5 mg/den.

Dle očekávání se onemocnění u těchto jmenovaných potvrdilo. Vykazovali nejtypičtější rys LS, totiž časnou manifestaci arteriální hypertenze. Mutace se však potvrdila u dalších tří členů rodiny. Analýza jejich fenotypu v rámci zjištěného LS bude uvedena v diskusi.

### Větev *II-1*

Pacientka (***II-1***) po své matce nezdědila mutovaný gen, a tudíž ani její tři děti nejsou nositeli mutace pro LS (dědičnost je autosomálně dominantní). Matka je obézní hypertonička na kombinované antihypertenzní terapii. Rovněž dvě z jejích děti mají již ve věku 10 a 13 let obezitu a vysoký krevní tlak. Hladiny aldosteronu a kalia jsou však v normě.

### Větev *II-2*

Všechny tři děti pacientky (***II-2***) zdědily mutovaný gen.

O jejím synovi (***III-5***) již bylo pojednáno.

(***III-4***) je žena narozená v roce 1996. V době vyšetření jí bylo 22 let. Byl u ní naměřen krevní tlak 146/103 mmHg. V této době byla 8 týdnů po porodu, nicméně v těhotenství ani před ním hypertenze zaznamenána nebyla, a proto zjištění mutace bylo překvapivé. Byla zahájena léčba amiloridem a krevní tlak se nadále udržuje v normálních hodnotách.

(***III-6***) je chlapec, jemuž bylo v době vyšetření 10 let. Krevní tlak byl v normě, nicméně hladina aldosteronu nízká.

### Větev *II-3*

Pacientka (***II-3***) porodila dvojvaječná dvojčata, přičemž dcera zdědila mutovaný gen.

Dívce (***III-8***) bylo v době vyšetření 8 let. Hypertenze u ní toho času manifestovaná nebyla, nicméně již byla patrná nízká hladina aldosteronu.

8letý chlapec (***III-8***) měl normální krevní tlak a rovněž hladina aldosteronu byla v normě.

**Souhrnně** se tedy **arteriální hypertenze** vyskytovala u pěti ze sedmi jedinců s LS, **nízká hladina aldosteronu** u všech, zatímco spontánní **hypokalémie** pouze jednoho pacienta.

## 2.4 Diskuze

### Fenotypová variabilita

Variabilita projevů LS ve smyslu tíže hypertenze a hypokalémie, která je dobře dokumentovaná napříč jednotlivými publikovanými případy pacientů, se potvrdila i v naší rodině. Variabilita existuje jak v rámci jedné rodiny (Fan et al., 2018), tedy mezi nositeli jedné konkrétní mutace, tak napříč různými rodinami nesoucí téže mutaci (Gong et al., 2014). Zatím nebylo provedeno porovnání „síly" různých mutací mezi s sebou stran fenotypu, nicméně minimálně ve funkčních studiích (popsané výše) byly zaznamenané rozdíly v měřených iontových proudech mezi různými mutacemi (Jeunemaitre et al., 1997). Představa různě „silných" mutací je každopádně diskutabilní vzhledem k faktu, že popsané mutace působí ztrátou *PY motivu*. Jde tedy o stav všechno nebo nic. Buďto je *PY motiv* zachován a podjednotka je plně funkční, nebo podjednotka tento úsek postrádá a rozvíjí se LS.

Zajímavá je variabilita projevů, konkrétně hladiny aldosteronu a přítomnost hypokalémie mezi bílou a čínskou populací. Zatímco přítomnost hypokalémie u bělošské populace (Evropa, USA) činí pouze kolem 58 %, u publikovaných případů pacientů s LS z Číny je to 81 %. S nízkou hladinou aldosteronu je to přesně naopak. Hypoaldosteronémie byla nalezena pouze u 29 % subjektů z Číny, kdežto u bělochů v 96 % (Mareš et al., 2021).

Jak bylo popsáno v teoretické části, hyperaldosteronismus stimuluje exkreci kalia a může tedy vést k hypokalémii. Nabízí se otázka, zda tyto **relativně** vyšší hodnoty aldosteronu u čínské populace stojí za vyšším výskytem hypokalémie.

### Arteriální hypertenze

Zvýšený krevní tlak byl nalezen u pěti ze sedmi nositelů mutace. Čtyři jedinci měli navíc časnou manifestaci, a to ve věku od 11 do 20 let věku. Tito byli popsáni výše. Během vyšetřování byl nalezen vyšší krevní tlak (146/103 mmHg) u pacientky (***III-4***), a to ve věku 22 let. Hypertenze byla asymptomatická.

Dva jedinci z rodiny jsou nositeli mutace, ale krevní tlak mají v normě. Konkrétně se jedná o chlapce (12 let) a dívku (10 let). Jsou tedy ve věku, ve kterém ani monogenní formy hypertenze nemusí být ještě manifestovány, ale dá se předpokládat, že v průběhu dospívání se tak stane.

Literární údaje (Tetti et al., 2018) hovoří o prevalenci hypertenze u pacientů s potvrzeným LS kolem 90 %. Za neúplnou penetranci genu bude pravděpodobně stát ostatní genetická výbava jedince se svými „protektivními geny“ na rozvoj hypertenze a samozřejmě zevní faktory ovlivňující výši krevního tlaku (příjem soli, obezita atd.).

Běžné jsou případy velmi lehké hypertenze bez doprovodných orgánových komplikací u jedinců s LS stejně jako extrémní hodnoty krevního tlaku s časnými komplikacemi v podobě CMP, jak tomu bylo i v námi studované rodině.

### Hypoaldosteronémie a hypokalémie

Hladina aldosteronu v séru, popřípadě poměr aldosteron/renin či odpady aldosteronu v moči jsou cennými ukazateli zejména v rámci diferenciální diagnostiky sekundární hypertenze a její nejčastější formy – primárního hyperaldosteronismu. Toto onemocnění je charakterizováno zvýšenou autonomní produkcí aldosteronu, jehož hladiny jsou v krvi vysoké, respektive jeho hladiny v poměru k reninu (Reincke et al., 2021).

Pro Liddleův syndrom jsou naopak typické nízké hladiny aldosteronu. To je dáno dvojí negativní zpětnou vazbou pro jeho sekreci. Ta je jednak tlumena hypervolémií, která je navozena zvýšenou resorpcí sodíku mutovaným kanálem, tak i zvýšenou exkrecí kalia, která je s resorpcí natria spojena. Oba tyto jevy blokují sekreci aldosteronu, který by dále zhoršoval oba projevy, a proto nacházíme typicky nízké hladiny tohoto hormonu. V případě námi vyšetřované rodiny byla nízká hladina aldosteronu přítomná u **všech** jedinců. Je poměrně obtížné definovat dolní hranici normy pro aldosteron, protože jde o hormon, který je secernován v závislosti na aktuální potřebě organismu, což činí jeho nedostatek nebo nadbytek relativním pojmem, pokud je hodnota vytržena z kontextu. Samozřejmostí je braní ohledu na možnou současnou léčbu ACE inhibitory, které budou aldosteron snižovat (Guo et al, 2020). Nicméně v klinickém kontextu pacienta s arteriální hypertenzí by měly být nápadně nízké hladiny aldosteronu varovným signálem.

Onemocnění projevující se hypoaldosteronismem jsou vrozená i získaná a nízký aldosteron může být buďto izolovaným nálezem nebo v rámci nedostatečnosti nadledvin, kdy je postižena produkce více hormonů. Každopádně vedoucím projevem bývá hyperkalémie a tyto stavy jsou také často spojeny s hypovolémií (Ruiz-Sánchez et al., 2022) a jsou tedy opakem projevů Liddleova syndromu.

V publikovaných případech Liddleova syndromu (Tetti et al., 2018) byla dolní hranice aldosteronu stanovena na 0,17 nmol/l. Takto dosahovalo hypoaldosteronémie 96 % pacientů s LS z americké a evropské populace, čímž se stává znakem senzitivnějším než samotná hypertenze. Specificita známá není, nicméně lze předpokládat, že bude rovněž vysoká. Například ve vzorku 80 hypertoniků léčených v centru pro léčbu arteriální hypertenze 2. interní kliniky FN Plzeň nebyla hladina aldosteronu pod 0,13 nmol/l nalezena ani u jednoho pacienta (nepublikované výsledky). V námi vyšetřované rodině měli **všichni** pacienti s diagnostikovaným LS hladiny aldosteronu < 0,13 nmol/l (100% senzitivita). Je však třeba mít na paměti, že u dětí jsou bazální hladiny aldosteronu nižší (Martinez-Aguayo et al, 2010).

**Hypokalémie** je poměrně častým jevem u pacientů v akutních stavech. Nejčastěji se setkáváme s hypokalémií navozenou přesunem kalia mezi extracelulárním a intracelulárním prostorem (alkalémie, zvýšená beta-adrenergní aktivita) a hypokalémií vzniklou na podkladě ztrát kalia gastrointestinálním traktem a ledvinami (Papadakis et al., 2023, s. 882-884).

U pacientů s LS je přítomnost hypokalémie nejen možným cenným vodítkem v rámci diferenciální diagnostiky, ale jedná se o další potenciálně život ohrožující projev onemocnění. Pacienti s LS mohou být tedy ohroženi nejen komplikacemi plynoucími z vysokého krevního tlaku, ale i přímými důsledky hypokalémie. Nebezpečné jsou zvláště poruchy rytmu, které korelují s tíží hypokalémie. Dalšími projevy nízké hladiny kalia mohou být svalová slabost až rabdomyolýza, z gastrointestinálních pak zácpa až paralytický ileus (Papadakis et al., 2023, s. 882-884). Hypokalémie je popisována jako typický doprovodný projev LS, ale její prevalence v evropské a americké populaci **není** tak vysoká jako hypoaldosteronémie. Senzitivita tohoto znaku tedy není vysoká. Pokud hypokalémie u pacienta s arteriální hypertenzí přítomná je a nenabízí se pro to jasné vysvětlení, vždy je třeba vyloučit primární hyperaldosteronismus jako nejčastější příčinu sekundární hypertenze. Nález „jasně vysvětlitelné“ hypokalémie může být však zavádějící. V námi vyšetřované rodině byla „spontánní“ hypokalémie nalezena **pouze u jednoho** ze sedmi členů. Na druhou stranu při užívání thiazidového diuretika v rámci léčby hypertenze (v té době ještě diagnóza LS nebyla stanovena), se hypokalémie objevila u dalších čtyř členů.

# 3 Závěr

Arteriální hypertenze je nejčastejší kardiovaskulární onemocnění, které vede k četným a někdy fatálním orgánovým komplikacím. Ve většině případů je to onemocnění naštěstí poměrně snadno léčitelné. Zásadní je pochopitelně spolupráce pacienta a lékaře. Na jedné straně je nutná compliance pacienta a na straně druhé snaha lékaře o dosažení cílových hodnot krevního tlaku u konkrétního jedince.

Aby mohlo být jakékoli onemocnění správně a efektivně léčeno, je nejprve nutná jeho znalost. Konkrétně u arteriální hypertenze může být chybou nepomýšlet na možný sekundární původ nebo vzácnější syndromy vedoucí k vysokému krevnímu tlaku. Pacient je tak často neúčinně léčen standardními antihypertenzivy používanými v terapii esenciální hypertenze. Tato léčba může být u některých případů účinná, často je ale nutná specifická terapie těchto stavů a pacienti tak mohou být vystaveni nekontrolované hypertenzi po dlouhá léta bez toho, aniž by byla učiněna správná diagnóza a zahájena adekvátní léčba.

Jedním z takových onemocnění je i Liddleův syndrom. Ve své nejtypičtější podobě se manifestuje časným nástupem hypertenze a onemocnění je tak zachyceno již v dětství nebo rané dospělosti pediatry. Hypertenze u mladších je vzácnější záležitost než u dospělých a na sekundární příčinu je pomýšleno častěji. Nezřídka se však vysoký krevní tlak objeví až v dospělosti a pacienti tak snadno zapadnou do kategorie „esenciální hypertenze“. Jsou tak léčeni běžnými antihypertenzivy, což bývá mnohdy neúčinné. Cennými vodítky v diagnostice sekundárních hypertenzí mohou být biochemické abnormity. Často bývá narušena osa renin-angiotensin-aldosteron. Právě abnormální hladina reninu a aldosteronu je důležitým diferenciálně diagnostickým ukazatelem a její stanovení je využíváno k detekci primárního aldosteronismu.

V této práci jsme poukázali na relevanci stanovení hladiny aldosteronu i u suspektních pacientů s Liddleovo sysndromem, kdy se ukazuje, že naopak jeho **nízké** hladiny jsou vysoce senzitivním znakem pro toto onemocnění, a to zejména u bělošské populace.

Současně s nízkým aldosteronem je dalším atributem Liddleova syndromu hypokalémie, která však v mnoha případech u pacientů přítomná **není**. Tento fakt se potvrdil i u naší rodiny a na základě těchto poznatků a rozboru publikovaných případů jde o znak s nízkou senzitivitou

v bělošské populaci. Spokojit se s absencí hypokalémie v rámci vylučování sekundárních forem hypertenze a Liddleova syndromu tedy doporučit nelze.

Dalším zjištěním, které je dobře dokumentováno u doposud zkoumaných případů LS je vysoká variabilita onemocnění, se kterou jsme se setkali i v námi zkoumané rodině.

V této rodině jsme detekovali sedm členů, kteří jsou nositeli nové, doposud nepopisované mutace genu pro beta podjednotku epiteliálního sodíkového kanálu.

U hypertenzních členů rodiny byla zahájena cílená léčba vysokého krevního tlaku amiloridem, která je plně postačující ke kompenzaci hypertenze. Doposud normotenzní jednici jsou řádně dispenzarizováni a v případě rozvoje hypertenze bude zahájena účinná terapie časně.

# 4 Seznam použité literatury


ARROYO, Juan Pablo, Dagmara LAGNAZ, Caroline RONZAUD, et al. Nedd4-2 Modulates Renal Na+-Cl− Cotransporter via the Aldosterone-SGK1-Nedd4-2 Pathway. *Journal of the American Society of Nephrology* [online]. 2011, **22**(9), 1707-1719 [cit. 2023-05-31]. ISSN 1046-6673. Dostupné z: doi:10.1681/ASN.2011020132

ASIM, Rizwan, Anand REDDY, Olga GRIGORIEVA OLSON, Joshua A RONEN a Vivek PRASAD. Hypertension With Brachydactyly Syndrome: A Case Report. *Cureus* [online]. 2020. [cit. 2023-05-22]. ISSN 2168-8184. Dostupné z: doi:10.7759/cureus.8329

BARRETT, Kim E. *Ganong's review of medical physiology*. 24th ed. New York: McGraw-Hill Medical, 2012. Lange medical book. ISBN 978-1-259-00962-4.

BECKETT, Nigel S., Ruth PETERS, Astrid E. FLETCHER, et al. Treatment of Hypertension in Patients 80 Years of Age or Older. *New England Journal of Medicine* [online]. 2008, **358**(18), 1887-1898 [cit. 2023-04-19]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa0801369

BOTERO-VELEZ, Mauricio, John J. CURTIS a David G. WARNOCK. Liddle's Syndrome Revisited -- A Disorder of Sodium Reabsorption in the Distal Tubule. *New England Journal of Medicine* [online]. 1994, 1994-01-20, **330**(3), 178-181 [cit. 2023-09-19]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJM199401203300305

BÖHM, Michael, Helmut SCHUMACHER, Koon K TEO, et al. Achieved blood pressure and cardiovascular outcomes in high-risk patients: results from ONTARGET and TRANSCEND trials. *The Lancet* [online]. 2017, **389**(10085), 2226-2237 [cit. 2023-04-19]. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(17)30754-7

BÜSST, Cara J.; SCURRAH, Katrina J.; ELLIS, Justine A. a HARRAP, Stephen B. Selective Genotyping Reveals Association Between the Epithelial Sodium Channel γ-Subunit and Systolic Blood Pressure. Online. *Hypertension*. 2007, roč. 50, č. 4, s. 672-678. ISSN 0194-911X. Dostupné z: https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.089128. [cit. 2023-10-01].

CANESSA, Cecilia M., Laurent SCHILD, Gary BUELL, Bernard THORENS, Ivan GAUTSCHI, Jean-Daniel HORISBERGER a Bernard C. ROSSIER. Amiloride-sensitive epithelial Na+ channel is made of three homologous subunits. *Nature* [online]. 1994, **367**(6462), 463-467 [cit. 2023-05-31]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/367463a0

CARETTO, Amelia, Liviana PRIMERANO, Francesca NOVARA, Orsetta ZUFFARDI, Stefano GENOVESE a Maurizio RONDINELLI. A Therapeutic Challenge: Liddle's Syndrome Managed with Amiloride during Pregnancy. *Case Reports in Obstetrics and Gynecology* [online]. 2014, **2014**, 1-4 [cit. 2023-06-13]. ISSN 2090-6684. Dostupné z: doi:10.1155/2014/156250

CIECHANOWICZ, Andrzej, Zdenek DOLEZEL, Grzegorz PLACHA, Jiri STARHA, Jarosław GÓRA, Zbigniew GACIONG, Andrzej BRODKIEWICZ a Grażyna ADLER. Liddle syndrome caused by P616R mutation of the epithelial sodium channel β subunit. *Pediatric Nephrology* [online]. 2005, **20**(6), 837-838 [cit. 2023-06-19]. ISSN 0931-041X. Dostupné z: doi:10.1007/s00467-004-1793-5

CÍFKOVÁ, Renata, Jan BRUTHANS, Peter WOHLFAHRT, et al. 30-year trends in major cardiovascular risk factors in the Czech population, Czech MONICA and Czech post-MONICA, 1985 – 2016/17. *PLOS ONE* [online]. 2020, **15**(5) [cit. 2023-04-19]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0232845

CÍFKOVÁ, Renata, Zdenka ŠKODOVÁ, Jan BRUTHANS, et al. Longitudinal trends in major cardiovascular risk factors in the Czech population between 1985 and 2007/8. Czech MONICA and Czech post-MONICA. *Atherosclerosis* [online]. 2010, **211**(2), 676-681 [cit. 2023-05-14]. ISSN 00219150. Dostupné z: doi:10.1016/j.atherosclerosis.2010.04.007

CHIONG, Jun R.; ARONOW, Wilbert S.; KHAN, Ijaz A.; NAIR, Chandra K.; VIJAYARAGHAVAN, Krishnaswami et al. Secondary hypertension: Current diagnosis and treatment. Online. *International Journal of Cardiology*. 2008, roč. 124, č. 1, s. 6-21. ISSN 01675273. Dostupné z: https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2007.01.119. [cit. 2023-10-09].

ENSLOW, Benjamin T; STOCKAND, James D a BERMAN, Jonathan M. Liddle's syndrome mechanisms, diagnosis and management. Online. *Integrated Blood Pressure Control*. 2019, roč. 12, s. 13-22. ISSN 1178-7104. Dostupné z: https://doi.org/10.2147/IBPC.S188869. [cit. 2023-10-03].

FAN, Peng, Chao-Xia LU, Di ZHANG, et al. Liddle syndrome misdiagnosed as primary aldosteronism resulting from a novel frameshift mutation of SCNN1B. *Endocrine Connections* [online]. 2018, **7**(12), 1528-1534 [cit. 2023-06-13]. ISSN 2049-3614. Dostupné z: doi:10.1530/EC-18-0484

FLINT, Alexander C., Carol CONELL, Xiushui REN, Nader M. BANKI, Sheila L. CHAN, Vivek A. RAO, Ronald B. MELLES a Deepak L. BHATT. Effect of Systolic and Diastolic Blood Pressure on Cardiovascular Outcomes. *New England Journal of Medicine* [online]. 2019, 2019-07-18, **381**(3), 243-251 [cit. 2023-09-19]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa1803180

GIRALDEZ, Teresa, Patricio ROJAS, Jonathan JOU, Carlos FLORES a Diego ALVAREZ DE LA ROSA. The epithelial sodium channel δ-subunit: new notes for an old song. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* [online]. 2012, **303**(3), F328-F338 [cit. 2023-05-22]. ISSN 1931-857X. Dostupné z: doi:10.1152/ajprenal.00116.2012

GONG, Ling, Jinxing CHEN, Liying SHAO, Weihua SONG, Rutai HUI a Yibo WANG. Phenotype–genotype analysis in two Chinese families with Liddle syndrome. *Molecular Biology Reports* [online]. 2014, **41**(3), 1569-1575 [cit. 2023-06-13]. ISSN 0301-4851. Dostupné z: doi:10.1007/s11033-013-3003-7

GUO, Zeng, Marko POGLITSCH, Diane COWLEY, Oliver DOMENIG, Brett C. MCWHINNEY, Jacobus P.J. UNGERER, Martin WOLLEY a Michael STOWASSER. Effects of Ramipril on the Aldosterone/Renin Ratio and the Aldosterone/Angiotensin II Ratio in Patients With Primary Aldosteronism. *Hypertension* [online]. 2020, **76**(2), 488-496 [cit. 2023-06-17]. ISSN 0194-911X. Dostupné z: doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.14871

HAMILTON, K. L. a D. C. EATON. Single-channel recordings from amiloride-sensitive epithelial sodium channel. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* [online]. 1985, **249**(3), C200-C207 [cit. 2023-05-22]. ISSN 0363-6143. Dostupné z: doi:10.1152/ajpcell.1985.249.3.C200

HANSSON, J H, L SCHILD, Y LU, et al. A de novo missense mutation of the beta subunit of the epithelial sodium channel causes hypertension and Liddle syndrome, identifying a proline-rich segment critical for regulation of channel activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 1995, **92**(25), 11495-11499 [cit. 2023-06-13]. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.92.25.11495

HANUKOGLU, AARON. Type I Pseudohypoaldosteronism Includes Two Clinically and Genetically Distinct Entities with either Renal or Multiple Target Organ Defects. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [online]. 1991, **73**(5), 936-944 [cit. 2023-06-06]. ISSN 0021-972X. Dostupné z: doi:10.1210/jcem-73-5-936

HANUKOGLU, Israel a Aaron HANUKOGLU. Epithelial sodium channel (ENaC) family: Phylogeny, structure–function, tissue distribution, and associated inherited diseases. *Gene* [online]. 2016, **579**(2), 95-132 [cit. 2023-05-22]. ISSN 03781119. Dostupné z: doi:10.1016/j.gene.2015.12.061

HARRISON, David G.; COFFMAN, Thomas M. a WILCOX, Christopher S. Pathophysiology of Hypertension. Online. *Circulation Research*. 2021, roč. 128, č. 7, s. 847-863. ISSN 0009-7330. Dostupné z: https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.318082. [cit. 2023-09-30].

JEUNEMAITRE, Xavier, Frédéric BASSILANA, Alexandre PERSU, Cécile DUMONT, Guy CHAMPIGNY, Michel LAZDUNSKI, Pierre CORVOL a Pascal BARBRY. Genotype–phenotype analysis of a newly discovered family with Liddle's syndrome. *Journal of Hypertension* [online].

1997, **15**(10), 1091-1100 [cit. 2023-06-18]. ISSN 0263-6352. Dostupné z: doi:10.1097/00004872-199715100-00007

JIN, Hyun-Seok, Kyung-Won HONG, Ji-Eun LIM, Sue-Yun HWANG, Sang-Ho LEE, Chol SHIN, Hun Kuk PARK a Bermseok OH. Genetic Variations in the Sodium Balance-Regulating Genes *ENaC*, *NEDD4L*, *NDFIP2* and *USP2* Influence Blood Pressure and Hypertension. *Kidney and Blood Pressure Research* [online]. 2010, **33**(1), 15-23 [cit. 2023-06-21]. ISSN 1420-4096. Dostupné z: doi:10.1159/000275706

KAMYNINA, Elena a Olivier STAUB. Concerted action of ENaC, Nedd4–2, and Sgk1 in transepithelial Na + transport. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* [online]. 2002, **283**(3), F377-F387 [cit. 2023-06-06]. ISSN 1931-857X. Dostupné z: doi:10.1152/ajprenal.00143.2002

KEREM, Eitan, Tzvy BISTRITZER, Aaron HANUKOGLU, et al. Pulmonary Epithelial Sodium-Channel Dysfunction and Excess Airway Liquid in Pseudohypoaldosteronism. *New England Journal of Medicine* [online]. 1999, **341**(3), 156-162 [cit. 2023-06-06]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJM199907153410304

KLEYMAN, Thomas R., Ossama B. KASHLAN a Rebecca P. HUGHEY. Epithelial Na + Channel Regulation by Extracellular and Intracellular Factors. *Annual Review of Physiology* [online]. 2018, **80**(1), 263-281 [cit. 2023-05-31]. ISSN 0066-4278. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-physiol-021317-121143

KOTSEVA, Kornelia, David WOOD, Dirk DE BACQUER, et al. EUROASPIRE IV: A European Society of Cardiology survey on the lifestyle, risk factor and therapeutic management of coronary patients from 24 European countries. *European Journal of Preventive Cardiology* [online]. 2015, **23**(6), 636-648 [cit. 2023-04-19]. ISSN 2047-4873. Dostupné z: doi:10.1177/2047487315569401

KOTSEVA, Kornelia, Guy DE BACKER, Dirk DE BACQUER, et al. Lifestyle and impact on cardiovascular risk factor control in coronary patients across 27 countries: Results from the European Society of Cardiology ESC-EORP EUROASPIRE V registry. *European Journal of Preventive Cardiology* [online]. 2019, **26**(8), 824-835 [cit. 2023-04-19]. ISSN 2047-4873. Dostupné z: doi:10.1177/2047487318825350

LALIOTI, Maria D, Junhui ZHANG, Heather M VOLKMAN, et al. Wnk4 controls blood pressure and potassium homeostasis via regulation of mass and activity of the distal convoluted tubule. *Nature Genetics* [online]. 2006, **38**(10), 1124-1132 [cit. 2023-06-05]. ISSN 1061-4036. Dostupné z: doi:10.1038/ng1877

LEVANOVICH, Peter E., Alexander DIACZOK a Noreen F. ROSSI. Clinical and Molecular Perspectives of Monogenic Hypertension. *Current Hypertension Reviews* [online]. 2020, **16**(2), 91-107 [cit. 2023-05-22]. ISSN 15734021. Dostupné z: doi:10.2174/1573402115666190409115330

LIN, Shih-Hua, Sung-Sen YANG, Tom CHAU a Mitchell L. HALPERIN. An Unusual Cause of Hypokalemic Paralysis: Chronic Licorice Ingestion. *The American Journal of the Medical Sciences* [online]. 2003, **325**(3), 153-156 [cit. 2023-06-05]. ISSN 00029629. Dostupné z: doi:10.1097/00000441-200303000-00008

LIU, F, X YANG, X MO, et al. Associations of epithelial sodium channel genes with blood pressure: the GenSalt study. *Journal of Human Hypertension* [online]. 2015, **29**(4), 224-228 [cit. 2023-06-22]. ISSN 0950-9240. Dostupné z: doi:10.1038/jhh.2014.78

LIU, Kai; QIN, Fang; SUN, Xiaolu; ZHANG, Yang; WANG, Jizheng et al. Analysis of the genes involved in Mendelian forms of low-renin hypertension in Chinese early-onset hypertensive patients. Online. *Journal of Hypertension*. 2018, roč. 36, č. 3, s. 502-509. ISSN 0263-6352. Dostupné z: https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000001556. [cit. 2023-10-01].

MAREŠ, Štěpán, Jan FILIPOVSKÝ, Kateřina VLKOVÁ, Martin PEŠTA, Václava ČERNÁ, Jaroslav HRABÁK, Jitka MLÍKOVÁ SEIDLEROVÁ a Otto MAYER. A novel nonsense mutation in the β-

subunit of the epithelial sodium channel causing Liddle syndrome. *Blood Pressure* [online]. 2021, **30**(5), 291-299 [cit. 2023-06-13]. ISSN 0803-7051. Dostupné z: doi:10.1080/08037051.2021.1942785

MARTINEZ-AGUAYO, Alejandro, Marlene AGLONY, Carmen CAMPINO, et al. Aldosterone, Plasma Renin Activity, and Aldosterone/Renin Ratio in a Normotensive Healthy Pediatric Population. *Hypertension* [online]. 2010, **56**(3), 391-396 [cit. 2023-06-17]. ISSN 0194-911X. Dostupné z: doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.155135

MILLS, Katherine T.; STEFANESCU, Andrei a HE, Jiang. The global epidemiology of hypertension. Online. *Nature Reviews Nephrology*. 2020, roč. 16, č. 4, s. 223-237. ISSN 1759-5061. Dostupné z: https://doi.org/10.1038/s41581-019-0244-2. [cit. 2023-10-09].

NESTEROV, Viatcheslav, Anke DAHLMANN, Bettina KRUEGER, Marko BERTOG, Johannes LOFFING a Christoph KORBMACHER. Aldosterone-dependent and -independent regulation of the epithelial sodium channel (ENaC) in mouse distal nephron. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* [online]. 2012, **303**(9), F1289-F1299 [cit. 2023-06-05]. ISSN 1931-857X. Dostupné z: doi:10.1152/ajprenal.00247.2012

NORENG, Sigrid, Arpita BHARADWAJ, Richard POSERT, Craig YOSHIOKA a Isabelle BACONGUIS. Structure of the human epithelial sodium channel by cryo-electron microscopy. *ELife* [online]. 2018, **7** [cit. 2023-05-22]. ISSN 2050-084X. Dostupné z: doi:10.7554/eLife.39340

PALMER, Biff F. Regulation of Potassium Homeostasis. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* [online]. 2015, **10**(6), 1050-1060 [cit. 2023-06-05]. ISSN 1555-9041. Dostupné z: doi:10.2215/CJN.08580813

PAPADAKIS, Maxine A., Stephen J. MCPHEE, Michael W. RABOW, a Kenneth R. MCQUAID *Current Medical Diagnosis & Treatment 2023*. Edited by Maxine A. Papadakis, Stephen J. McPhee, Michael W. Rabow, and Kenneth R. McQuaid. New York: McGraw-Hill, 2023.

PATEL, Seema, Abdur RAUF, Haroon KHAN a Tareq ABU-IZNEID. Renin-angiotensin-aldosterone (RAAS): The ubiquitous system for homeostasis and pathologies. *Biomedicine & Pharmacotherapy* [online]. 2017, **94**, 317-325 [cit. 2023-04-11]. ISSN 07533322. Dostupné z: doi:10.1016/j.biopha.2017.07.091

PERSU, Alexandre, Pascal BARBRY, Frédéric BASSILANA, Anne-Marie HOUOT, Raymond MENGUAL, Michel LAZDUNSKI, Pierre CORVOL a Xavier JEUNEMAITRE. Genetic Analysis of the β Subunit of the Epithelial Na + Channel in Essential Hypertension. *Hypertension* [online]. 1998, **32**(1), 129-137 [cit. 2023-06-19]. ISSN 0194-911X. Dostupné z: doi:10.1161/01.HYP.32.1.1

PRITCHARD, D. J. a KORF, Bruce R. *Základy lékařské genetiky*. Druhé české vydání. Praha: Galén, [2021]. ISBN 978-80-7492-513-9.

PROCHÁZKA, Martin; VODIČKA, Radek a VRTĚL, Radek. *Základy lékařské genetiky pro studenty všeobecného lékařství*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2018. ISBN 978-80-244-5368-2.

PUGH, Charles P. Pseudohypoaldosteronism Type 1: The Presentation and Management of a Neonate With a Novel Mutation of the SCNN1B Gene Found in Two Hispanic Siblings. *Cureus* [online]. [cit. 2023-06-06]. ISSN 2168-8184. Dostupné z: doi:10.7759/cureus.23918

RAINA, Rupesh, Vinod KRISHNAPPA, Abhijit DAS, Harshesh AMIN, Yeshwanter RADHAKRISHNAN, Nikhil R. NAIR a Kirsten KUSUMI. Overview of Monogenic or Mendelian Forms of Hypertension. *Frontiers in Pediatrics* [online]. 2019, **7** [cit. 2023-05-22]. ISSN 2296-2360. Dostupné z: doi:10.3389/fped.2019.00263

REINCKE, Martin, Irina BANCOS, Paolo MULATERO, Ute I SCHOLL, Michael STOWASSER a Tracy Ann WILLIAMS. Diagnosis and treatment of primary aldosteronism. *The Lancet Diabetes & Endocrinology* [online]. 2021, **9**(12), 876-892 [cit. 2023-06-13]. ISSN 22138587. Dostupné z: doi:10.1016/S2213-8587(21)00210-2

RIEPE, Felix G. Clinical and Molecular Features of Type 1 Pseudohypoaldosteronism. *Hormone Research in Paediatrics* [online]. 2009, **72**(1), 1-9 [cit. 2023-06-06]. ISSN 1663-2818. Dostupné z: doi:10.1159/000224334

ROSSIER, Bernard C. a Laurent SCHILD. Epithelial Sodium Channel. *Hypertension* [online]. 2008, **52**(4), 595-600 [cit. 2023-05-31]. ISSN 0194-911X. Dostupné z: doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.097147

ROTIN, Daniela, Olivier STAUB. Function and Regulation of the Epithelial $Na^+$ Channel ENaC. *Compr. Physiol.* 2021;11:2017–2045. doi: 10.1002/cphy.c200012.

RUIZ-SÁNCHEZ, Jorge Gabriel, Alfonso Luis CALLE-PASCUAL, Miguel Ángel RUBIO-HERRERA, María Paz DE MIGUEL NOVOA, Emilia GÓMEZ-HOYOS a Isabelle RUNKLE. Clinical manifestations and associated factors in acquired hypoaldosteronism in endocrinological practice. *Frontiers in Endocrinology* [online]. 2022, **13** [cit. 2023-06-17]. ISSN 1664-2392. Dostupné z: doi:10.3389/fendo.2022.990148

SALIH, Mahdi; GAUTSCHI, Ivan; VAN BEMMELEN, Miguel X.; DI BENEDETTO, Michael; BROOKS, Alice S. et al. A Missense Mutation in the Extracellular Domain of αENaC Causes Liddle Syndrome. Online. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2017, roč. 28, č. 11, s. 3291-3299. ISSN 1046-6673. Dostupné z: https://doi.org/10.1681/ASN.2016111163. [cit. 2023-10-01].

SCHILD, L, C M CANESSA, R A SHIMKETS, I GAUTSCHI, R P LIFTON a B C ROSSIER. A mutation in the epithelial sodium channel causing Liddle disease increases channel activity in the Xenopus laevis oocyte expression system. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 1995, **92**(12), 5699-5703 [cit. 2023-06-13]. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.92.12.5699

ŠAMÁNEK, Milan, Zuzana URBANOVÁ, Oleg REICH, Ivana RUŠAVÁ, Jan ŠKOVRÁNEK a Petr TAX. Doporučení pro diagnostiku a léčbu hypertenze v dětství a dospívání. Vypracované pracovní skupinou dětské kardiologie. *Cor et Vasa* [online]. 2009, **51**(3), 227-235 [cit. 2023-06-13]. ISSN 00108650. Dostupné z: doi:10.33678/cor.2009.054

TETTI, Martina, Silvia MONTICONE, Jacopo BURRELLO, Patrizia MATARAZZO, Franco VEGLIO, Barbara PASINI, Xavier JEUNEMAITRE a Paolo MULATERO. Liddle Syndrome: Review of the Literature and Description of a New Case. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2018, **19**(3) [cit. 2023-06-13]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms19030812

TOBIN, Martin D., Maciej TOMASZEWSKI, Peter S. BRAUND, et al. Common Variants in Genes Underlying Monogenic Hypertension and Hypotension and Blood Pressure in the General Population. *Hypertension* [online]. 2008, **51**(6), 1658-1664 [cit. 2023-06-21]. ISSN 0194-911X. Dostupné z: doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.112664

TORPY, D.J.; STRATAKIS, C.A. a CHROUSOS, G.P. Familial hyperaldosteronism. Online. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2000, roč. 33, č. 10, s. 1149-1155. ISSN 0100-879X. Dostupné z: https://doi.org/10.1590/S0100-879X2000001000004. [cit. 2023-09-30].

TROJAN, Stanislav. *Lékařská fyziologie*. Vyd. 4., přeprac. a dopl. Praha: Grada, 2003. ISBN 80-247-0512-5.

TUKA, Vladimir, Aleš LINHART. Proč stále nedosahujeme cílových hodnot krevního tlaku. *Vnitřní lékařství* [online]. 2021;67(6):368-371. ISSN 1801–7592.

TŮMOVÁ, Eva, Michal VRÁBLÍK. Stratifikace kardiovaskulárního rizika a nové cílové hodnoty sérových lipidů. *Kardiologická revue – Interní medicína* [online]. 2017, 19(3): 152-156. ISSN 2336-2898.

VEHASKARI, V. Matti. Heritable forms of hypertension. *Pediatric Nephrology* [online]. 2009, **24**(10), 1929-1937 [cit. 2023-05-22]. ISSN 0931-041X. Dostupné z: doi:10.1007/s00467-007-0537-8

VESELÝ, Jaroslav. *Tlaková diuréza a arteriální hypertenze*. Olomouc: EPAVA, 2002. ISBN 80-86297-11-X.

VOILLEY, N, E LINGUEGLIA, G CHAMPIGNY, M G MATTÉI, R WALDMANN, M LAZDUNSKI a P BARBRY. The lung amiloride-sensitive Na+ channel: biophysical properties, pharmacology, ontogenesis, and molecular cloning. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 1994, **91**(1), 247-251 [cit. 2023-05-22]. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.91.1.247

WANG, Lin-Ping, Kun-Qi YANG, Xiong-Jing JIANG, et al. Prevalence of Liddle Syndrome Among Young Hypertension Patients of Undetermined Cause in a Chinese Population. *The Journal of Clinical Hypertension* [online]. 2015, **17**(11), 902-907 [cit. 2023-06-17]. ISSN 15246175. Dostupné z: doi:10.1111/jch.12598

WELLING, Paul A. Regulation of Renal Potassium Secretion: Molecular Mechanisms. *Seminars in Nephrology* [online]. 2013, **33**(3), 215-228 [cit. 2023-06-05]. ISSN 02709295. Dostupné z: doi:10.1016/j.semnephrol.2013.04.002

WIDIMSKÝ, Jiří. *Hypertenze*. 5. vydání. Praha: Maxdorf, [2019]. Jessenius. ISBN 978-80-7345-621-4.

WIDIMSKÝ, Jiří, CERAL, Jiří, FILIPOVSKÝ Jan, SOUČEK, Miroslav, CÍFKOVÁ, Renata, et al. Diagnostické a léčebné postupy u arteriální hypertenze ČSH 2022. *Hypertenze & kardiovaskulární prevence.* [online]. 2022. ISSN 1805–4129

YANG, Wenchao, Zhenmin ZHU, Jin WANG, Wei YE a Yong DING. Evaluation of the relationship between T663A polymorphism in the alpha-epithelial sodium channel gene and essential hypertension. *Saudi Medical Journal* [online]. 2015, **36**(9), 1039-1045 [cit. 2023-06-22]. ISSN 0379-5284. Dostupné z: doi:10.15537/smj.2015.9.11822

# 5 Přílohy

## Příloha 1

**Liddleův syndrom**

MAREŠ, Štěpán a FILIPOVSKÝ, Jan. Liddle syndrome. Online. *Vnitřní lékařství*. 2022, roč. 68, č. 8, s. E08-E11. ISSN 0042773X. Dostupné z: https://doi.org/10.36290/vnl.2022.115. [cit. 2023-10-05].

## Příloha 2

**A novel nonsense mutation in the β-subunit of the epithelial sodium channel causing Liddle syndrome**

MAREŠ, Štěpán; FILIPOVSKÝ, Jan; VLKOVÁ, Kateřina; PEŠTA, Martin; ČERNÁ, Václava et al. A novel nonsense mutation in the β-subunit of the epithelial sodium channel causing Liddle syndrome. Online. *Blood Pressure*. 2021, roč. 30, č. 5, s. 291-299. ISSN 0803-7051. Dostupné z: https://doi.org/10.1080/08037051.2021.1942785. [cit. 2023-10-05].

https://doi.org/10.36290/vnl.2022.115

# Liddleův syndrom

**Štěpán Mareš, Jan Filipovský**
II. interní klinika LF UK a FN Plzeň

Liddleův syndrom je dědičná forma arteriální hypertenze s autozomálně dominantním typem dědičnosti. Je způsoben aktivační mutací genů kódujících epiteliální sodíkový kanál v distálním nefronu. Důsledkem mutace kanálu je zvýšená resorpce sodíkových iontů a volumová expanze rezultující v arteriální hypertenzi. Dalším typickým nálezem je hypokalemie, nízká hladina aldosteronu a metabolická alkalóza. Interindividuální variabilita těchto projevů činí diagnostiku nemoci obtížnou a neadekvátní léčba hypertenze může vést k časným orgánovým komplikacím již v mladém věku. K definitivnímu potvrzení diagnózy je zapotřebí genetické vyšetření potvrzující mutaci. Terapie je založena na podávání blokátoru epiteliálního sodíkového kanálu amiloridu.

**Klíčová slova:** aldosteron, amilorid, arteriální hypertenze, epiteliální sodíkový kanál, hypokalemie, Liddleův syndrom, NEDD4.

## Liddle syndrome

Liddle syndrome is an inherited form of arterial hypertension with autosomal dominant pattern of inheritance. It is caused by activating mutation of genes coding of the epithelial sodium channel in distal nephron. Mutation leads to excessive reabsorbtion of sodium ions and volume expansion resulting in arterial hypertension. Antoher typical laboratory findings are hypokalaemia, low levels of serum aldosteron and metabolic alkalosis. Phenotypic variability makes it difficult to identify patients with Liddle syndrome, often resulting in misdiagnosis and severe complications at early age. Genetic studies should be done to confirm the diagnosis. Therapy of Liddle syndrome is based on administration of epithelial sodium channel blocker amilorid.

**Key words:** aldosterone, amilorid, arterial hypertension, epithelial sodium channel, hypokalaemia, Liddle syndrome, NEDD4.

## Epidemiologie

Ačkoli je Liddleův syndrom považován za poměrně vzácné onemocnění, jeho přesná prevalence není známa. Vzhledem k nutnosti provedení genetického vyšetření k potvrzení diagnózy, které se však v praxi rutině neprovádí, lze očekávat, že prevalence je ve skutečnosti podhodnocena. Lze si představit, že většina pacientů s Liddleovým syndromem je vedena jako rezistentní hypertonici, aniž by se pomýšlelo na možnou dědičnou formu hypertenze. Důvodů může být několik. Rozvoj hypertenze až v dospělém věku nebudí takové podezření na možnou genetickou poruchu jako hypertenze manifestovaná v dětství a například těžká hypokalemie jako jeden z doprovodných projevů se zdaleka nevyskytuje u všech pacientů s LS. Hypokalemie v případě pacientů již užívajících diuretika může být navíc brána jako léčbou indukovaná.

Skutečná prevalence LS v populaci není známa. Bylo provedeno několik studií v čínské populaci hypertoniků s různou další mírou selekce vyšetřovaných jedinců (přítomnost hypokalemie, časná manifestace hypertenze atd.). Prevalence Liddleova syndromu se pohybovala kolem 1,5 %. Studie na běloŝské populaci provedeny nebyly (1, 2).

## Epiteliální sodíkový kanál (ENaC)

Epiteliální sodíkový kanál je vysoce selektivní pro sodné ionty. Nachází se na luminální straně epiteliálních buněk různých tkání (střevo, plíce, ledviny) a resorpcí natria ovlivňuje extracelulární volum. Například v ciliárních buňkách dýchacích cest je správná funkce kanálu nezbytná k tvorbě sekretu a mukociliární clearance. ENaC v ledvinách zajišťuje zpětnou resorpci natria z moči, čímž zvyšuje volum extracelulární tekutiny.

Kanál se skládá z 3 podjednotek – alfa, beta a gamma. Podjednotky spolu v poměru 1 : 1 : 1 tvoří heterotrimer a každá z nich se skládá z extracelulární smyčky, dvou transmembránových jednotek a cytoplazmatického C- a N- konce (3, 4) (Obr. 1).

KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA: MUDr. Štěpán Mareš, maress@fnplzen.cz
II. interní klinika LF UK a FN Plzeň
Edvarda Beneše 13, 305 99 Plzeň

Cit. zkr: Vnitř Lék. 2022;68(8):E8-E11
Článek přijat redakcí: 31. 8. 2022
Článek přijat po recenzích: 24. 10. 2022

## Patogeneze

V patogenezi LS hraje rozhodující úlohu funkce kanálu lokalizovaného v ledvinách. Nachází se na luminální straně hlavních tubulárních buněk v distálních částech nefronu a jeho funkcí je resorpce natria z moči. Exprese kanálu je regulována aldosteronem jakožto finálním efektorem osy renin-angiotenzin-aldosterton (RAAS). Fyziologická aktivace RAAS vede k udržení volumu a krevního tlaku. Aldosteron se váže na mineralokortikoidní jaderný receptor, což spouští kaskádu dějů vedoucí k inhibici ubikvitinázy NEDD4, která by za normálních okolností snižovala počet aktivních kanálů procesem ubikvitinace a následné internalizace. Tímto mechanismem aldosteron přispívá k vyššímu počtu aktivních kanálu na membráně vedoucí ke zvýšené resorpci natria (5, 6).

Naopak v případě, kdy není volumová expanze žádoucí, hladina aldosteronu klesá – nedochází k inhibici NEDD4 skrze aldosteron – kanál je ve zvýšené míře degradován a resorpce natria klesá.

Tato rovnováha fungující na základě zpětnovazebných mechanismů je typicky narušena u primárního aldosteronismu, kdy dochází k neregulované nadprodukci aldosteronu.

U LS však dochází k nadměrné aktivitě kanálu i bez přítomnosti vysokých hladin aldosteronu. Jak je to možné?

Mutovaný ENaC postrádá kritické sekvence aminokyselin podjednotek beta nebo gamma, na které by se ubikvitináza NEDD4 navázala. ENaC nemůže být označen k degradaci a je tak narušena jeho zpětnovazebná regulace. Výsledkem je vysoké množství aktivních kanálů na membráně i přes nízké hladiny aldosteronu. Dochází ke zvýšené resorpci sodíku z moči se všemi z toho plynoucími konsekvencemi podobně jako u hyperaldosteronismu. Proto je někdy LS nazýván pseudohyperaldosteronismem. Klinický obraz imituje primární hyperaldosteronismus, na rozdíl od něj jsou však u LS hladiny aldosteronu v krvi nízké (7).

Základní charakteristika LS je následující:

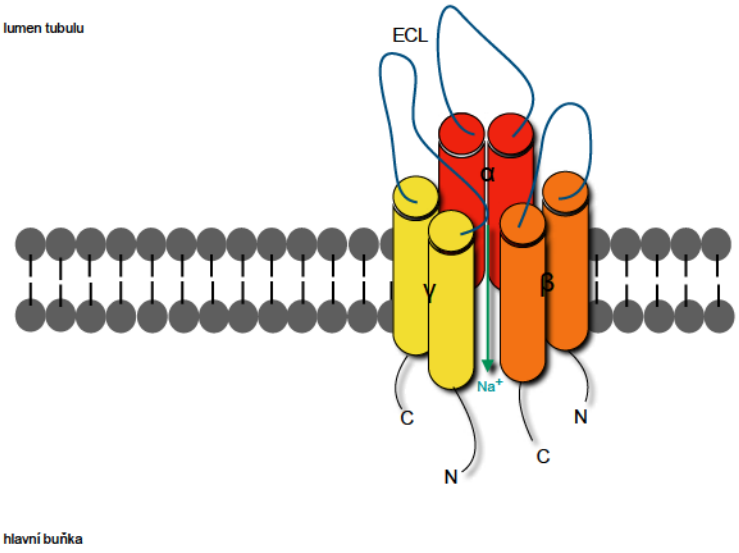
- zvýšenou resorpcí natria dochází k volumové expanzi a hypertenzi,
- zpětnovazebně dochází k supresi produkce reninu a aldosteronu,
- zvýšené vstřebávání natria favorizuje exkreci kalia a následně i protonů. Rozvíjí se hypokalemie a metabolická alkalóza.

## Klinický obraz

Typický pacient s Liddleovým syndromem je hypertonik s anamnézou vysokého krevního tlaku již od dětství či časné dospělosti. Hypertenze je u něj obtížně kontrolovaná navzdory kombinované antihypertenzní léčbě. V krvi bychom u něj nalezli různě vyjádřenou hypokalemii, snížený aldosteron a renin. Poměr aldosteron/renin (ARR) nebude na rozdíl od primárního aldosteronismu zvýšený. Při vyšetření ABR bychom zjistili metabolickou alkalózu. Vzhledem k tomu, že Liddleův syndrom je dědičné onemocnění, patrně by nám pacient při odebírání anamnézy prozradil, že jeden z rodičů má také dlouhá léta diagnostikovanou hypertenzi anebo hůře – již podlehl některé z komplikací dlouhodobě zvýšeného krevního tlaku, například iktu.

Jak tomu však bývá, pacienti stonají podle učebnice málokdy. A tak nacházíme různou variabilitu výskytu klinických a laboratorních abnormit u konkrétního jedince, tvořící různě závažný výsledný fenotyp nemoci: od mírného zvýšení TK u dospělého jedince po těžkou rezistentní hypertenzi s život ohrožující hypokalemií u dítěte.

Obr. 1. *Epiteliální sodíkový kanál*




*Kanál je tvořen třemi podjednotkami (alfa, beta, gamma). Každá podjednotka je dále tvořena extracelulární smyčkou (ECL), dvěma transmembránovými jednotkami a C a N- koncem.*
*Sodíkové ionty jsou kanálem resorbovány z moči do hlavní buňky tubulu.*

## Arteriální hypertenze

Arteriální hypertenze je nejčastější manifestací Liddleova syndromu a je přítomna u více než 90 % postižených jedinců (7). Manifestuje se většinou již v mladém věku. Je zajímavým faktem, že někteří pacienti s genotypem Liddleova syndromu vlastně nemají vyjádřený fenotyp, jehož hlavním projevem je vysoký krevní tlak. Bývají to osoby mladší, u kterých zřejmě převyšují regulační mechanismy proti rozvoji hypertenze. S přibývajícím věkem začnou převažovat prohypertenzní vlivy jako stárnutí tepen, progrese aterosklerózy aj., které jsou zodpovědné za rozvoj esenciální hypertenze. Na druhou stranu jsou známy případy těžké hypertenze u dětí v předškolním věku (8).

Pacienti s rozvinutou hypertenzí se dále významně liší v její tíži. Od lehké hypertenze s TK málo přes 140/90 mm Hg po těžké hypertoniky s TK přes 200/120 mm Hg a časnými orgánovými komplikacemi.

Nebyl prokázán vliv konkrétní mutace na výsledný fenotyp a rovněž platí, že existuje významná variabilita příznaků v rámci jedné rodiny nesoucí stejnou mutaci (9).

## Hypokalemie a metabolická alkalóza (MAL)

Hypokalemie definovaná jako K < 3,5 mmol/l je popisována jako 2. nejčastější projev LS (7). Její výskyt je však znatelně vyšší v čínské populaci, u které je popisována většina literárních případů Liddleova syndromu. V evropské a americké populaci zdaleka tak častá není. Prevalence kolísá kolem 50–75 % případů (10). Hypokalemie se rozvíjí na podkladě zvýšené exkrece draselných iontů do moči. K té dochází kvůli zvyšující se elektronegativitě lumen vlivem resorpce $Na^+$. Draselné ionty tímto mechanismem udržují elektroneutralitu moči za cenu rozvoje hypokalemie. Vylučování kalia je zprostředkováno kanály ROMK a BK. Spolu s $K^+$ dochází i k exkreci $H^+$ resultující v metabolickou alkalózu (11).

## Nízká hladina aldosteronu a reninu

Až doposud jsou atributy Liddleova syndromu a nejčastější formy sekundární hypertenze, primárního aldosteronismu, podobné. Co je odlišuje, je hladina aldosteronu. Zatímco vysoká hladina aldosteronu, respektive ARR, jsou diagnostickým kritériem pro primární hyperaldosteronismus, u Liddleova syndromu nacházíme naopak hladiny aldosteronu nízké (Tab. 1). Suprese aldosteronu a reninu jsou výrazem negativní zpětné vazby spouštěné volumovou expanzí. Na rozdíl od čínské populace je nízký aldosteron konstantním nálezem u euroamerické populace pacientů s LS (12), vyskytující se ve více než 90 % případů, a tudíž je znakem senzitivnějším než hypokalemie (10). Dolní hranice normálu pro sérový aldosteron byla v popsaných případech stanovena na 0,17 nmol/l měřená v poloze vleže (7).

**Tab. 1.** *Podobnosti a rozdíly mezi Liddleovým syndromem a primárním hyperaldosteronismem*

| | Liddleův syndrom | Primární hyperaldosteronismus |
|---|---|---|
| kalemie | ↓ | ↓ |
| aldosteron | ↓ | ↑ |
| renin | ↓→ | ↓ |
| efekt spironolaktonu | ne | ano |

## Genetické pozadí

Na rozdíl od polygenní dědičnosti esenciální arteriální hypertenze, kdy se na rozvoji nemoci podílí mix polymorfismů genů malého účinku a environmentální vlivy, je situace u monogenních forem hypertenze jednodušší. U těchto nemocí známe tzv. geny velkého účinku, jejichž specifické mutace jsou prokazatelně spojeny s konkrétní nemocí. Liddleův syndrom je způsoben mutacemi genů kódujících epiteliální sodíkový kanál. Každá podjednotka kanálu (alfa, beta, gamma) je kódována odlišným genem (SCNN1A, SCNN1B, SCNN1C).

Doposud bylo popsáno přes 30 různých mutací těchto podjednotek, které jsou spojeny s rozvojem nemoci. Většinou jde o nonsense mutace, které zařazením stop kodonu zkracují výsledný protein (podjednotku beta nebo gamma) a kanál tak přichází o své důležité regulační místo, kam se normálně váže NEDD4 (4, 13, 14). Nedávno byl popsán případ LS spojený s mutací alfa podjednotky, která se na samotné regulaci kanálu nepodílí. Tato mutace však způsobí změnu konformace kanálu, která několikanásobně zvyšuje jeho propustnost pro sodné ionty (15).

## Terapie

Liddleův syndrom, respektive jeho projev, arteriální hypertenze, je léčitelný. Základem terapie jsou blokátory epiteliálního sodíkového kanálu amilorid a triamteren (16). Amilorid je v ČR používaný v kombinaci s chlortalidonem jako přípravek Amicloton 2,5/25 mg. Tato kombinace pro léčbu Liddleova syndromu není optimální vzhledem k možnému prohloubení hypokalemie účinkem chlortalidonu. Amilorid je v ČR nicméně dostupný i samostatně – připravovaný magistraliter. Dle zkušeností z publikovaných případů k normalizaci TK většinou postačují nízké dávky amiloridu, tj. od 2,5 do 10 mg/den. Stejnou zkušenost máme i na našem pracovišti.

Na rozdíl od ostatních skupin antihypertenziv amilorid v případě LS cílí přímo na patofyziologický podklad arteriální hypertenze u tohoto onemocnění. Ostatní skupiny antihypertenziv jsou ze své podstaty málo účinné. Typicky je pacient s LS léčen kombinací antihypertenziv včetně spironolaktonu s minimálním účinkem, zatímco po podání nízké dávky amiloridu dojde promptně k úpravě TK. Současně s krevním tlakem dochází i k normalizaci kalemie a případné MAL. V lehčích případech LS však může být běžná antihypertenzní terapie dostačující i bez užití amiloridu (10).

Pro léčbu hypertenze v těhotenství existuje nízká úroveň důkazů. Bezpečné je použití metyldopy a blokátorů kalciových kanálů (17). Doporučení pro skupinu diuretik se týkají pouze hydrochlorothiazidu. Ten není kontraindikován, nicméně terapie jím by měla být zahájena již před těhotenstvím. Iniciace léčby až v těhotenství je riziková z hlediska možného navození hypovolemie (18).

Data ohledně bezpečnosti léčby amiloridem v těhotenství existují pouze na úrovni kazuistických sdělení, nicméně jeho užívání se zdá být bezpečné. Obecně vzato pokud není antihypertenzivum kontraindikováno, mělo by být zváženo, pokud představuje pro nemocnou patrný benefit (19).

## Závěr

Liddleův syndrom je dědičná forma hypertenze s variabilní tíhou fenotypu. Ačkoliv je prevalence stejně jako u jiných forem monogenních hypertenzí nízká, mělo by se na toto onemocnění v rámci diferenciální diagnostiky (sekundární) hypertenze myslet. Podezření by měl vzbudit pacient se současnou hypokalemií, metabolickou alkalózou a pozitivní rodinnou anamnézou arteriální hypertenze. Na rozdíl od primárního aldosteronismu nacházíme v krvi zpravidla nízké hladiny aldosteronu. Lékem volby je blokátor epiteliálního sodíkového kanálu amilorid.

## LITERATURA

**1.** Wang LP, Yang KQ, Jiang XJ, Wu HY, Zhang HM, Zou YB et al. Prevalence of Liddle Syndrome Among Young Hypertension Patients of Undetermined Cause in a Chinese Population. J Clin Hypertens (Greenwich). 2015 Nov;17(11):902-7.
**2.** Liu K, Qin F, Sun X, Zhang Y, Wang J, Wu Y et al. Analysis of the genes involved in Mendelian forms of low-renin hypertension in Chinese early-onset hypertensive patients. J Hypertens. 2018 Mar;36(3):502-9.
**3.** Canessa CM, Schild L, Buell G, Thorens B, Gautschi I, Horisberger JD et al. Amiloride-sensitive epithelial Na+ channel is made of three homologous subunits. Nature. 1994 Feb 3;367(6462):463-7.
**4.** Hanukoglu I, Hanukoglu A. Epithelial sodium channel (ENaC) family: Phylogeny, structure-function, tissue distribution, and associated inherited diseases. Gene. 2016 Apr 1;579(2):95-132.
**5.** Ceccato F, Mantero F. Monogenic Forms of Hypertension. Endocrinol Metab Clin North Am. 2019 Dec;48(4):795-810.
**6.** Palmer BF, Alpern RJ. Liddle's syndrome. Am J Med. 1998 Mar;104(3):301-9.
**7.** Tetti M, Monticone S, Burrello J, Matarazzo P, Veglio F, Pasini B et al. Liddle Syndrome: Review of the Literature and Description of a New Case. Int J Mol Sci. 2018 Mar 11;19(3).
**8.** Fan P, Pan XC, Zhang D, Yang KQ, Zhang Y, Tian T et al. Pediatric Liddle Syndrome Caused by a Novel SCNN1G Variant in a Chinese Family and Characterized by Early-onset Hypertension. Am J Hypertens. 2020 Mar 12.
**9.** Gong L, Chen J, Shao L, Song W, Hui R, Wang Y. Phenotype-genotype analysis in two Chinese families with Liddle syndrome. Mol Biol Rep. 2014 Mar;41(3):1569-75.
**10.** Mareš Š, Filipovský J, Vlková K, Pešta M, Černá V, Hrabák J et al. A novel nonsense mutation in the β-subunit of the epithelial sodium channel causing Liddle syndrome. Blood Press. 2021 Oct;30(5):291-9.
**11.** Enslow BT, Stockand JD, Berman JM. Liddle's syndrome mechanisms, diagnosis and management. Integr Blood Press Control. 2019;12:13-22.
**12.** Cui Y, Tong A, Jiang J, Wang F, Li C. Liddle syndrome: clinical and genetic profiles. J Clin Hypertens (Greenwich). 2017 May;19(5):524-9.
**13.** Yang KQ, Xiao Y, Tian T, Gao LG, Zhou XL. Molecular genetics of Liddle's syndrome. Clin Chim Acta. 2014 Sep 25;436:202-6.
**14.** Schild L, Lu Y, Gautschi I, Schneeberger E, Lifton RP, Rossier Bc. Identification of a PY motif in the epithelial Na channel subunits as a target sequence for mutations causing channel activation found in Liddle syndrome. Embo j. 1996 May 15;15(10):2381-7.
**15.** Salih M, Gautschi I, van Bemmelen MX, Di Benedetto M, Brooks AS, Lugtenberg D, et al. A Missense Mutation in the Extracellular Domain of alphaENaC Causes Liddle Syndrome. J Am Soc Nephrol. 2017 Nov;28(11):3291-9.
**16.** Botero-Velez M, Curtis JJ, Warnock DG. Brief report: Liddle's syndrome revisited--a disorder of sodium reabsorption in the distal tubule. N Engl J Med. 1994 Jan 20;330(3):178-81.
**17.** Al Khaja KA, Sequeira RP, Alkhaja AK, Damanhori AH. Drug treatment of hypertension in pregnancy: a critical review of adult guideline recommendations. J Hypertens. 2014 Mar;32(3):454-63.
**18.** Podymow T, August P. Hypertension in pregnancy. Adv Chronic Kidney, DiS. 2007 Apr;14(2):178-90.
**19.** Caretto A, Primerano L, Novara F, Zuffardi O, Genovese S, Rondinell, M.A. Therapeutic Challenge: Liddle's Syndrome Managed with Amiloride during Pregnancy. Case Rep Obstet Gynecol. 2014;2014:156250.

BLOOD PRESSURE

Blood Pressure

ISSN: (Print) (Online) Journal homepage: https://www.tandfonline.com/loi/iblo20

# A novel nonsense mutation in the ь-subunit of the epithelial sodium channel causing Liddle syndrome

Štěpán Mareš, Jan Filipovský, Kateřina Vlková, Martin Pešta, Václava Černá, Jaroslav Hrabák, Jitka Mlíková Seidlerová & Otto Mayer

To cite this article: Štěpán Mareš, Jan Filipovský, Kateřina Vlková, Martin Pešta, Václava Černá, Jaroslav Hrabák, Jitka Mlíková Seidlerová & Otto Mayer (2021) A novel nonsense mutation in the ь-subunit of the epithelial sodium channel causing Liddle syndrome, Blood Pressure, 30:5, 291-299, DOI: 10.1080/08037051.2021.1942785

To link to this article: https://doi.org/10.1080/08037051.2021.1942785

Published online: 05 Jul 2021.

Submit your article to this journal

Article views: 836

View related articles

View Crossmark data

Citing articles: 2 View citing articles

Full Terms & Conditions of access and use can be found at
https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=iblo20

BLOOD PRESSURE
2021, VOL. 30, NO. 5, 291–299
https://doi.org/10.1080/08037051.2021.1942785

Taylor & Francis
Taylor & Francis Group

ORIGINAL ARTICLE

Check for updates

# A novel nonsense mutation in the β-subunit of the epithelial sodium channel causing Liddle syndrome

Štěpán Mareš[a,b*], Jan Filipovský[a,b*], Kateřina Vlková[b,c], Martin Pešta[b,d], Václava Černá[d], Jaroslav Hrabák[b,c], Jitka Mlíková Seidlerová[a,b] and Otto Mayer[a,b]

[a]Second Department of Internal Medicine, University Hospital, Pilsen, Czech Republic; [b]Biomedical Center, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University, Pilsen, Czech Republic; [c]Department of Microbiology, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University, Pilsen, Czech Republic; [d]Institute of Biology, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University, Pilsen, Czech Republic

**ABSTRACT**

**Purpose:** Liddle syndrome is a hereditary form of arterial hypertension caused by mutations in the genes coding of the epithelial sodium channel – SCNN1A, SCNN1B and SCNN1G. It is characterised by early onset of hypertension and variable biochemical features such as hypokalaemia and low plasma concentrations of renin and aldosterone. Phenotypic variability is large and, therefore, LS is probably underdiagnosed. Our objective was to examine a family suspected from Liddle syndrome including genetic testing and evaluate clinical and biochemical features of affected family members.

**Materials and methods:** Thirteen probands from the Czech family, related by blood, underwent physical examination, laboratory tests, and genetic testing. Alleles of SCNN1B and SCNN1G genes were examined by PCR amplification and Sanger sequencing of amplicons.

**Results:** We identified a novel mutation in the β-subunit of an epithelial sodium channel coded by the SCNN1B gene, causing the nonsense mutation in the protein sequence p.Tyr604*. This mutation was detected in 7 members of the family. The mutation carriers differed in the severity of hypertension and hypokalaemia which appeared only after diuretics in most of them; low aldosterone level (< 0.12 nmol/l) was, however, present in all.

**Conclusions:** This finding expands the spectrum of known mutations causing Liddle syndrome. Hypoaldosteronemia was 100% sensitive sign in the mutation carriers. Low levels are observed especially in the Caucasian population reaching 96% sensitivity. Assessment of plasma aldosterone concentration is helpful for differential diagnosis of arterial hypertension.

**CONDENSED ABSTRACT:** Liddle syndrome is a hereditary form of arterial hypertension caused by mutations in the genes encoding the epithelial sodium channel's α-, β- and γ-subunit. It is usually manifested by early onset of hypertension accompanied by low potassium and aldosterone levels. We performed a physical examination, laboratory tests and genetic screening in 13 members of a Czech family. We found a new mutation of the SCNN1B gene which encodes the β-subunit of the epithelial sodium channel. We describe the variability of each family member phenotype and point out the relevance of using aldosterone levels as a high sensitivity marker of Liddle syndrome in Caucasians.

**ARTICLE HISTORY**
Received 23 February 2021
Revised 30 May 2021
Accepted 7 June 2021

**KEYWORDS**
Aldosterone; β-subunit; ENaC; hypertension; Liddle syndrome; nonsense mutation; SCNN1B

## Introduction

Liddle syndrome (LS) is a hereditary form of arterial hypertension. Its key clinical characteristics are early onset of hypertension, hypokalaemia and suppressed plasma renin and aldosterone levels. It is a monogenic form of hypertension with an autosomal dominant pattern of inheritance [1]. LS is caused by activating mutations of epithelial sodium channel (ENaC) which is mainly expressed in aldosterone-sensitive distal nephron (Figure 1). ENaC is responsible for reabsorption of sodium, maintaining body salt and water homeostasis. This channel is composed of three homologous subunits (α-, β-, γ-) encoded by the genes SCNN1A, SCNN1B and SCNN1G [2,3]. Each subunit consists of cytoplasmic amino acid and carboxyl termini, two transmembrane domains, and a large extracellular loop. Carboxyl terminus contains sites of interaction with other proteins and signal transduction molecules that regulate ENaC function. Within the C-terminus of all three subunits there is a

CONTACT ŠTĚPÁN Mareš stepanmares92@seznam.cz Department of Internal Medicine II, University Hospital, E. Beneše 13, Pilsen 305 99, Czech Republic
*Those authors are contributed equally to the work.

© 2021 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

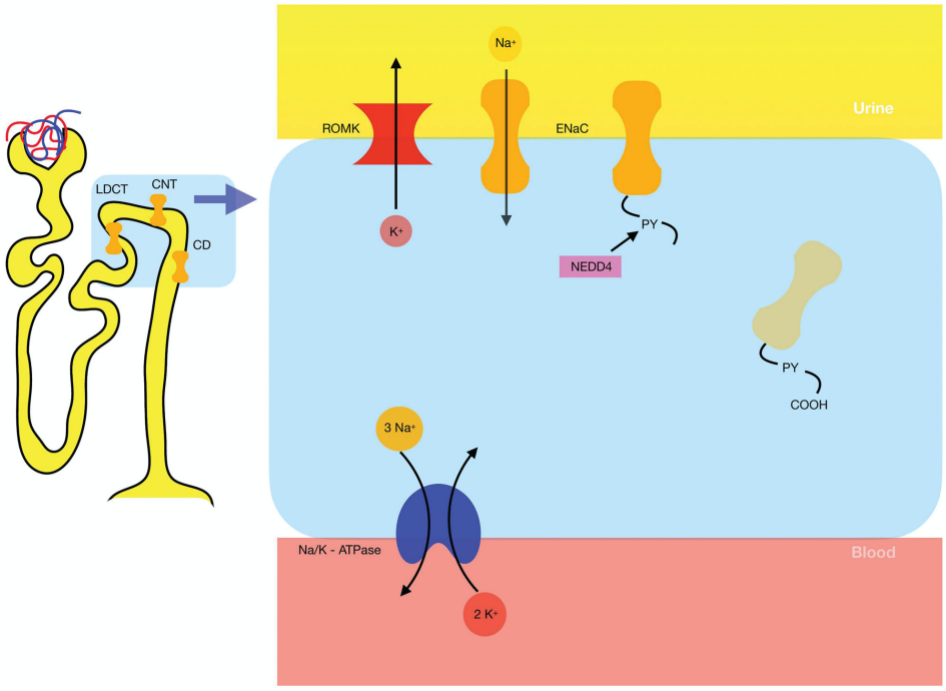



**Figure 1.** Localisation of ENaC in distal nephron and principal cell. Left side: ENaC is expressed in principal cells of aldosterone-sensitive distal nephron including late distal convoluted tubule (LDCT), connecting tubule (CNT) and collecting duct (CD). Right side: ENaC allows the flow of Na+ from the lumen into the cell across the apical cell membrane. PY motif serves as binding site for ubiquitin ligase NEDD4, which mediates internalization and degradation of the channel.

highly conserved sequence of amino acids named "PY motif" – a proline rich sequence which is a binding site for ubiquitin-protein ligase NEDD4 [3,4]. NEDD4 mediates the internalisation and degradation of ENaC. In general, mutations causing Liddle syndrome result in increased activity of ENaC. Most of them cause disruption or loss of PY motif of β or γ subunits and therefore impaired channel degradation (Figure 2). Additional mechanism such as disruption of disulphide bridge in extracellular loop of α subunit leading to elevation of channel open probability has been described as well [5–7].

Increased activity of ENaC leads to excessive reabsorbtion of sodium ions resulting in volume expansion and hypertension. Consequently, hyporeninemia and hypoaldosteronemia develop. Hypokalaemia is a result of potassium excretion *via* ROMK channels, which is driven by transepithelial lumen-negative voltage generated by increased sodium reabsorption [7,8].

Another typical feature of Liddle syndrome is responsiveness to amiloride treatment and resistance to spironolactone. Taken together clinical, biochemical and anamnestic features can raise suspicion for possible Liddle syndrome, however, genetic analysis should always be performed in order to confirm the diagnosis [9,10]. Variability in phenotypes can be great [2,11]: from early manifested severe hypertension with life-threatening hypokalaemia to normotensive individuals with normal plasma potassium and aldosterone levels. LS is considered to be a rare disease, but the fact that both severe and mild phenotypes exist makes the diagnosis more difficult [12] and LS is probably underdiagnosed. So far, various mutations in either the α-, β- or γ-subunit of ENaC have been reported [6,10,13]. Herein, we present a novel mutation in gene SCNN1B, which encodes the β-subunit of ENaC.

## Materials and methods

### *Compliance with ethical standards*

All the participants agreed to clinical evaluation, biochemical examination and genetic testing. This study

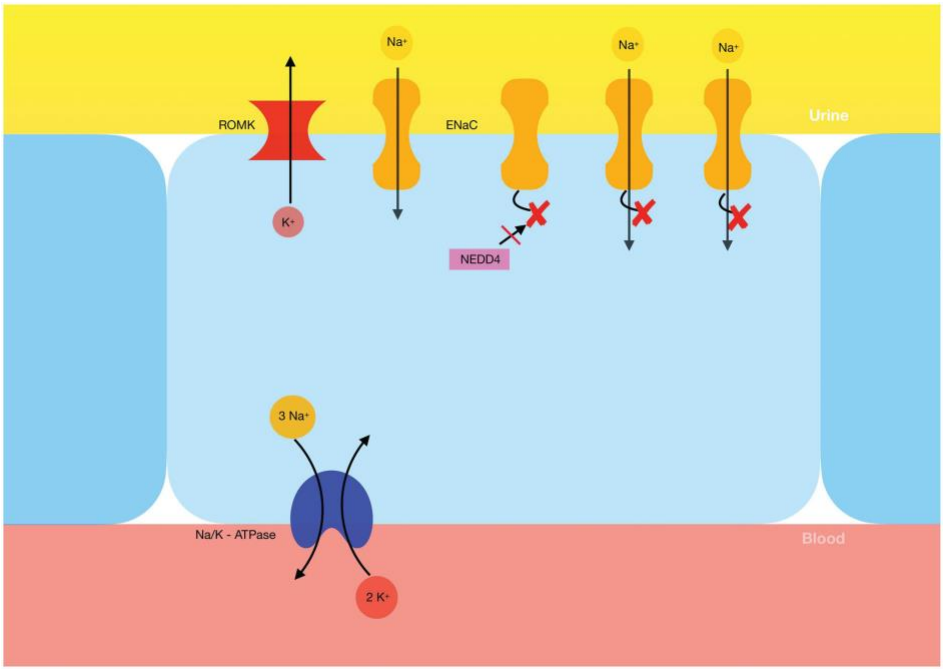



Figure 2. Overexpression of mutated channel at the cell membrane. Mutated channel lacking PY motif cannot be targeted by NEDD4. This results in accumulation of the channel at the membrane leading to increased Na+ flow into the cell.

has been performed in accordance with the Declaration of Helsinki.

### *Clinical findings and history of the family*

Thirteen probands selected from 3 generations of a Czech family related by blood (7 males, and 6 females), where hypertension and tendency to low potassium levels were present in several members, were examined on one visit in our centre (see Table 1 for characteristics). Fasting for ten hours was required, but no other restrictions in diet prior to examination were demanded. No current therapy was discontinued. Blood samples were obtained in supine position. Their ages ranged between 8 and 64 years. In 7 of them, the novel mutation was found (Figure 3).

In proband I-1, born in 1954, hypertension was diagnosed at 12 years of age; when she was 20 years old, she was hospitalised for symptomatic acceleration, with blood pressure (BP) values of up to 200/100 mmHg. She was referred to our centre at 39 years of age for difficult-to-treat hypertension. Plasma aldosterone, renin and metanephrines concentrations were assessed in order to exclude primary aldosteronism and pheochromocytoma. Additionally, Doppler ultrasound of kidneys and adrenal glands was performed. No pathology of renal parenchyma and vessels or adrenal expansion was found. She was treated initially with a combination of 3 drugs (perindopril, felodipine and betaxolol) and with this treatment, hypertension was successfully controlled. She had normal kidney function tests, potassium level and other basic laboratory values. The only pathology was hyperlipidaemia with LDL levels exceeding 4 mmol/l despite treatment with statin. At the age of 50 years, indapamide was added due to BP values exceeding 150/90 mmHg; hypokalaemia (2.7 mmol/l) appeared for the first time after the dose of indapamide had been increased to 2.5 mg daily. Potassium supplementation was started, and the dose of potassium chloride was gradually increased from 500 mg up to 3000 mg daily. In the meantime, she put on weight and type 2 diabetes was manifested. She has had mild heart failure and permanent atrial fibrillation since 2017.

**Table 1.** Clinical and biochemical characteristics of the family members with and without mutation at the time of investigation.

| Patient | Current age years | Age at onset of HT years | BP mmHg | Serum $K^+$ mmol/l | Plasma aldosterone nmol/l | Plasma renin ng/l | Amiloride treatment mg/day | $K^+$ supplementation mg of KCl/day | Other clinical features | Other current therapy |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Affected | | | | | | | | | | |
| I-1 | 64 | 12 | 109/62 | 4.3 | 0.07 | 15.1 | – | 2000 | AF, CHF, HLP, T2D, obesity | AB, ACEI, BB, CCB, TLD, insulin |
| II-2 | 41 | 14 | 110/70 | 4.7 | 0.07 | 1.8 | 5 | – | HLP, ventricular extrasystoles | BB |
| II-3 | 36 | 11 | 123/78 | 4.0 | 0.08 | 3.3 | – | 500 | – | CCB |
| III-4 | 22 | 22 | 146/103 | 4.0 | 0.06 | 28.5 | – | – | 7 weeks after childbirth, lactation | – |
| III-5 | 17 | 5 | 124/73 | 4.1 | 0.11 | 33.9 | 1.25 | – | – | chlortalidone |
| III-6 | 10 | – | 108/70(50.-90.perc.) | 4.2 | 0.08 | 7.9 | – | – | – | – |
| III-8 | 8 | – | 108/72(50.-90.perc.) | 3.7 | 0.07 | 1.1 | – | – | ADHD, prematurity (29 + 2) | atomoxetine |
| Unaffected | | | | | | | | | | |
| I-2 | 64 | 18 | 114/72 | 4.2 | 1.00 | 119.7 | – | 500 | HLP, T2D, obesity, gout | ACEI, BB, CCB, PSD, TLD, insulin, metformin |
| II-1 | 43 | 36 | 127/79 | 3.7 | 0.85 | 212.0 | – | 500 | HLP, obesity, sclerosis multiplex | ACEI, CCB, TLD, SSRI, statin |
| III-1 | 20 | – | 107/71 | 4.6 | 0.10 | 2.5 | – | – | obesity | – |
| III-2 | 13 | 13 | 130/70 (95. perc.) | 4.4 | 0.16 | 8.0 | – | – | obesity | – |
| III-3 | 10 | 10 | 126/78 (95. perc.) | 4.3 | 0.31 | 10.9 | – | – | obesity | – |
| III-7 | 8 | – | 99/71 (10.-25. perc.) | 4.3 | 0.39 | 60.7 | – | – | autism, prematurity (29 + 2) | risperidone |

Serum $K^+$ reference values: 3.6–5.0 mmol/l.
Plasma aldosterone levels measured in supine postition. Laboratory reference values: 0.03 - 0.65 nmol/l.
Plasma renin levels measured in supine position. Laboratory reference values: 1.77 - 25 ng/l.
AB: alpha-blocker; ACEI: angiotensin converting enzyme inhibitor; BB: beta-blocker; CCB: calcium channel blocker.; PSD: potassium sparing diuretic (spironolactone); SSRI: selective serotonin reuptake inhibitor; TLD: thiazide-like diuretic (indapamide); ADHD: attention deficit hyperactivity disorder; AF: atrial fibrillation; CHF: chronic heart failure; HLP: hyperlipoproteinemia; HT: hypertension; T2D: type 2 diabetes.

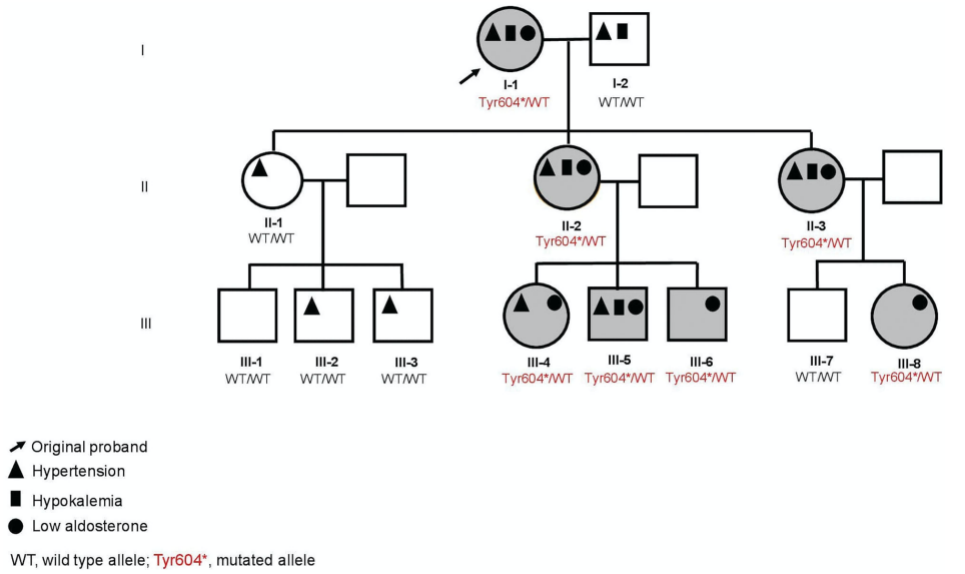



**Figure 3.** Genealogy of the family with Liddle syndrome.

Proband I-1 has a positive family history of hypertension and premature cardiovascular events: her mother had hypertension from childhood and died of stroke at 36 years of age. Her brother had repeated myocardial infarction and stroke and died aged 43 years.

Proband II-2, born in 1977, had hypertension diagnosed at 14 years of age; she had a tendency to spontaneous hypokalaemia (3.4 mmol/l at 17 years old without diuretic treatment). At this time, she also had severe hyperlipidaemia (total and LDL cholesterol levels were 7.9 and 6.0 mmol/l, respectively). Hypertension worsened during her first pregnancy despite ongoing treatment (BP was up to 166/112 mmHg), but during two other pregnancies BP on treatment was normal. She was treated with felodipine and betaxolol, her BP was well controlled, and her potassium level was normal. When she was 23 years old, indapamide together with potassium supplementation was added. Later on, indapamide could be downtitrated to a minimal dose of 2.5 mg twice a week, but despite continuing potassium chloride supplementation of 500 mg daily, her serum potassium level oscillated between 3.1 and 3.9 mmol/l. In 2009, amiloride 5 mg (single drug formulation) daily was started, indapamide and potassium were withdrawn and since that time, she has had a satisfactory hypertension and potassium control.

In proband II-3, born in 1982, hypertension was diagnosed at 11 years of age; there was no spontaneous hypokalaemia. She had the highest BP measured when she was 19 years old: 174/122 mmHg. At that time, indapamide was added to the combination therapy in high doses (felodipine, perindopril, betaxolol and rilmenidine) and afterwards, her potassium level dropped to 3.1 mmol/l, but it was normalised after potassium supplementation with 500 to 1000 mg daily. Since 2013, when she substantially reduced weight, antihypertensive therapy could also be reduced, now being only a dose of felodipine 2.5 mg daily.

Proband III-5, born in 2001, was hospitalised for hypertension when he was 5 years old. His 24-hour mean BP was 128/72 mmHg, thus markedly exceeding the 95$^{th}$ percentile for his age (113/72 mmHg). Marginally decreased potassium (3.8 mmol/l), low aldosterone and renin activity were found. Liddle syndrome was suspected but genetic assessment was not available in the Czech Republic. Treatment with a fixed combination of chlortalidone and amiloride was started (6.25/1.25 mg). Serum potassium has been normal, and hypertension has been well controlled since that time.

In proband III-4, born in 1996, hypertension was first detected during the examination of the whole family in 2018. This was discovered 2 months after proband III-4 gave birth; her pregnancy was, however, normal, including BP values.

Probands III-6 and III-8 (born in 2008 and 2010, respectively) are asymptomatic.

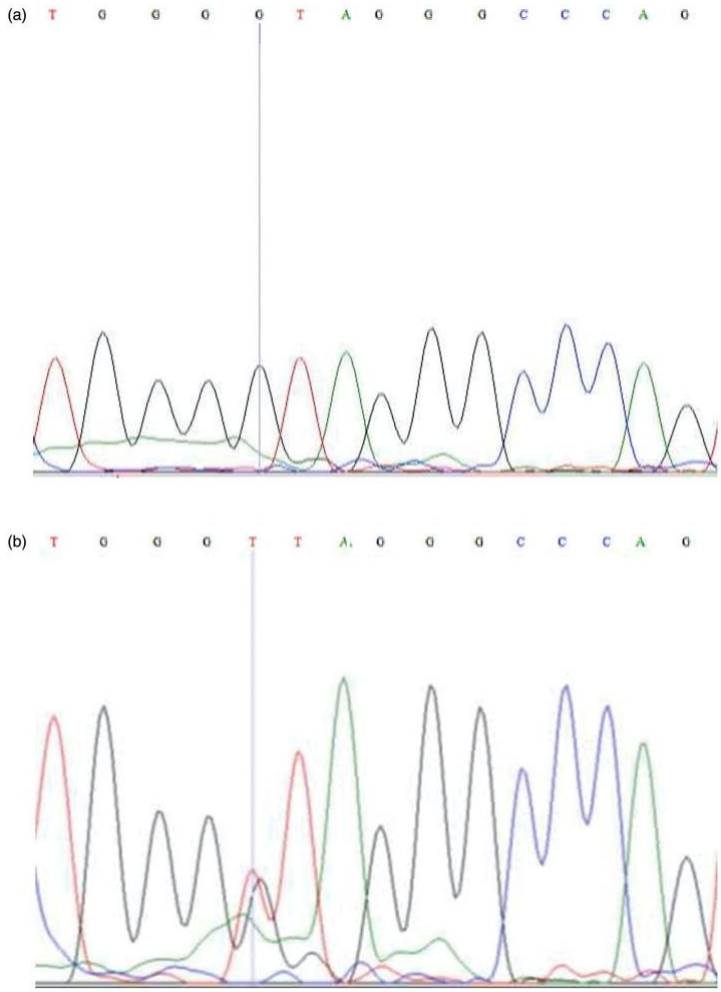



Figure 4. Nonsense mutation c.C1988A found using Sanger sequencing. Results in patients without mutation WT/WT (a), and with mutation p.Tyr604*/WT (b).

### *Genetic analysis*

Alleles of SCNN1B and SCNN1G genes were examined. SCNN1A was excluded from the screening because only two mutations of α subunit causing LS have been reported so far [6].

200 µL blood samples were obtained from all 13 probands, and genomic DNA was extracted using a NucleoSpin® Blood Kit (Macherey – Nagel) according to the manufacturer's protocol. 2 µl of the isolated DNA were used as a template for PCR amplification. The PCR reactions were run on a T100 Thermal Cycler (Bio-rad, California, USA), performed to amplify regions with previously described mutations with specific oligonucleotide sets (SCNN1B_Forward ATC ATCAAGCTGGTGGCCTT, SCNN1B_Reverse ATG GCATCACCCTCACTGTC and SCNN1G_Forward GTCTGTGTGCAAGGAAGCCT, SCNN1G_Reverse CTCCAAGCGCAAGGTATTG). Amplicons were purified by an AMPure XP PCR purification kit (Beckman Coulter) and subjected for Sanger

Figure 5. Amino acid sequence (640 aa) of the β-subunit of the epithelial sodium channel, coded by the gene SCNN1B. The deleted terminal sequence due to p.Tyr604* mutation is marked in grey.

sequencing of both strands using BigDyeTM Terminator v3.1 chemistry on a 3500 Genetic Analyser (ThermoFischer Scientific). Sequences were assembled against reference sequence NM_000336.2 (SCNN1B gene) and NM_001039.3 (SCNN1G gene) using Nucleotide BLAST.

## Results

The genetic investigation identified a novel mutation c.C1988A (NM_000336.2) in the 13$^{th}$ exon of the β-subunit of an epithelial sodium channel coded by the SCNN1B gene, causing the nonsense mutation in the protein sequence p.Tyr604*. This mutation was present in 7 out of 13 tested blood related members of one family (Figure 3).

Family members I-1, II-2, II-3, III-4, III-5, III-6, and III-8 all carry this mutation, while members I-2, II-1, III-1, III-2, III-3, and III-7 do not (Figure 4). This nonsense mutation, c.C1988A, is supposed to generate a premature stop codon at amino acid position 604, resulting in a truncated β-subunit of ENaC from 640 to 603 amino acids (Figure 5).

## Discussion

We discovered a new mutation p.Tyr604* in the β-subunit of ENaC which gives rise to a premature stop codon at position 604. This nonsense mutation erases the part of C-terminus of the β-subunit, where the PY motif is located (p.614-621 in exon 13) [14]. ENaC lacking this spot cannot be targeted for ubiquitination and, therefore, it is accumulated on the cell surface and causes excessive $Na^+$ reabsorption [4,15,16]. The most powerful proof of the effect of mutations is functional characterisation. Numerous functional studies with mutated β ENaC have already been performed and confirmed increased activity of the channel. The studied mutations were located before and behind the position 604 of SCNN1B [17–19]. This, in our opinion, justifies the attribution of the Liddle syndrome phenotype to the mutation we have described.

Numerous different mutations have been reported so far since the first one described by Shimkets in 1994 [2] and new ones are probably still waiting to be discovered. In 2020, another 2 mutations in SCNN1B and SCNN1G have been described [20,21]. Cases of LS are reported worldwide; this is the second case of a Czech family published so far [22]. Large epidemiologic studies on the prevalence of LS syndrome in the general population, however, are not available; only data from 2 well characterised Chinese cohorts of hypertensive patients have been published. In the first one [23], Liu et al. showed a 1.72% prevalence of LS (7 patients) of the 407 patients with hypertension diagnosed before the age of 30; among the probands' relatives, 10 additional LS patients were identified. The second study by Wang et al. [24] studied 330 hypertensive patients aged 14–40 years, in whom common causes of secondary hypertension were excluded. 48 subjects with hypokalaemia (<3.5 mmol/l) were genetically tested for LS; some probands were treated, but the authors do not specify whether hypokalaemia was spontaneous or after diuretics. They identified 5 cases of LS; in their 69 relatives, genetic analysis was also performed, and another 12 cases were found. Thus, LS in this highly selected group was not rare.

Phenotypic heterogeneity in terms of hypertension severity and biochemical abnormalities is great [2,11]. It varies among families and even within a family with the same mutation [25]. Therefore, something like "mutation severity" is questionable, and clinical manifestation rather

depends on expressivity, genetic modifiers and environmental factors of each individual [2,26].

Our findings confirm the phenotypic variability. 5 of 7 (71%) carriers of the mutation have hypertension which ranges from mild to severe; 1 to 5 antihypertensive drugs are necessary to have a satisfactory control of hypertension. Low potassium level was found in 4 of them during the follow-up (57%), but spontaneous hypokalaemia without treatment appeared in only 1 (proband II-2); in the remaining 3 subjects, it was manifested only after treatment with a thiazide-like diuretic. Interestingly, all members have a low aldosterone level, defined as plasma concentration in supine position $\leq$ 0.12 nmol/l, despite drug treatment, including thiazide-like diuretic, in some of them. On the contrary, plasma renin level was not suppressed in 3 carriers of whom 2 take thiazide-like diuretic (I-1 and III-5) and one was examined early after childbirth (III-4, see Table 1). The 2 youngest family members aged 8 and 10 (III-6 and III-8) are not yet hypertensive but they have low aldosterone levels. This indicates involvement of compensatory mechanisms preventing hypertension, which will probably develop in the future. In accordance with literature, early onset of hypertension seems to be important for the diagnosis, since 4 of 5 symptomatic mutation carriers had hypertension diagnosed by the age of 14. All the family members have a relatively good quality of life – this is due to effective drug treatment of hypertension, although ENaC blockers were not used in all of them before the genetic assessment. Therefore, the new mutation may seem to cause a relatively mild form of Liddle syndrome. It should be noted, however, that the mother and brother of proband I-1, potential carriers of the mutation, had severe hypertension and died of cardiovascular events at the ages of 36 and 43 years, respectively.

Tetti et al. [10] reviewed systematically the prevalence of various phenotypes including hypertension, hypokalaemia and hypoaldosteronemia in reported cases of genetically confirmed LS. In total, low plasma aldosterone levels defined as $<$0.17 nmol/l were described in 85 of 146 (58.2%) of cases; hypertension and hypokalaemia occurred in 92.4% and 71.8% of cases respectively. So far, hypokalaemia has been considered as a more sensitive sign in LS than low aldosterone level. The phenotypes may differ among populations: in Chinese patients, hypoaldosteronemia is present only in 21 of 72 patients with LS (29%), but on the contrary, it is present in 45 of 47 patients (96%) from USA and Europe. This fact favours measurement of aldosterone levels as a screening method for its sensitivity which is probably highest in the Caucasian population. These findings correlate with a higher prevalence of hypokalaemia in Chinese patients (81% vs. 58%), which may be promoted by relatively higher levels of circulating aldosterone. Although hypokalaemia is neither a sensitive nor specific sign of LS, measurement of the serum potassium level is a cheap and routinely assessed blood test. Hypokalaemia can be a warning sign indicating a possible secondary cause of hypertension.

When the diagnosis of LS is made early, organ complications may be prevented by adequate treatment. It is based on the administration of an ENaC blocker – either amiloride or triamterene. Restriction of salt intake can further enhance the effect of antihypertensives [1,10,27]. Other antihypertensive drugs are less effective. This also applies for spironolactone, which is used for resistant hypertension, since mutated ENaC is not sensitive to aldosterone [9,28]. Amiloride should also be considered in pregnant women with LS if first line treatment such as metyldopa, calcium channel blockers or labetalol fails to control BP. Although we lack randomised clinical trials, prescription of amiloride appears to be safe and effective in pregnancy [29]. Serum electrolytes should be monitored during treatment.

## Conclusion

Our findings expand the mutation spectrum causing Liddle syndrome. We have shown the heterogeneity of LS phenotypes in the family where 7 members are carriers of the mutation. In patients who have a tendency to low potassium levels, either spontaneous or after diuretics, serum aldosterone level should be assessed as its low level is a sensitive test for LS. Genetic screening is appropriate in patient with typical clinical presentation, however, it can ultimately confirm or exclude LS independently of clinical features. It should always be performed in first-degree relatives of a patient carrying mutation. The prevalence of LS may be higher than supposed, especially in patients with early manifestation of hypertension. Treatment with ENaC blockers is highly effective.

## Acknowledgments

The authors thank all the co-workers for their valuable contribution to this work.

## Disclosure statement

The authors report no conflict of interest.

## Funding

This study was supported by the Charles University Research Fund under project name "Progres Q39" and by the Ministry of Education Youth and Sports of the Czech Republic under project Nr. "CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000787".

## ORCID

Štěpán Mareš http://orcid.org/0000-0003-4730-2375
Otto Mayer http://orcid.org/0000-0002-8023-3749

## References

[1] Botero-Velez M, Curtis JJ, Warnock DG. Brief report: Liddle's syndrome revisited-a disorder of sodium reabsorption in the distal tubule. N Engl J Med. 1994;330(3):178–181.
[2] Shimkets RA, Warnock DG, Bositis CM, et al. Liddle's syndrome: heritable human hypertension caused by mutations in the beta subunit of the epithelial sodium channel. Cell. 1994;79(3):407–414.
[3] Canessa CM, Schild L, Buell G, et al. Amiloride-sensitive epithelial Na + channel is made of three homologous subunits. Nature. 1994;367(6462):463–467.
[4] Hanukoglu I, Hanukoglu A. Epithelial sodium channel (ENaC) family: phylogeny, structure-function, tissue distribution, and associated inherited diseases. Gene. 2016;579(2):95–132.
[5] Enslow BT, Stockand JD, Berman JM. Liddle's syndrome mechanisms, diagnosis and management. Integr Blood Press Control. 2019; 12:13–22.
[6] Salih M, Gautschi I, van Bemmelen MX, et al. A missense mutation in the extracellular domain of αENaC causes Liddle syndrome. J Am Soc Nephrol. 2017;28(11):3291–3299.
[7] Palmer BF, Alpern RJ. Liddle's syndrome. Am J Med. 1998;104(3):301–309.
[8] Ceccato F, Mantero F. Monogenic forms of hypertension. Endocrinol Metab Clin North Am. 2019; 48(4):795–810.
[9] Warnock DG. Liddle syndrome: an autosomal dominant form of human hypertension. Kidney Int. 1998;53(1):18–24.
[10] Tetti M, Monticone S, Burrello J, et al. Liddle syndrome: review of the literature and description of a new case. Int J Mol Sci. 2018;19(3):812.
[11] Fan P, Lu CX, Zhang D, et al. Liddle syndrome misdiagnosed as primary aldosteronism resulting from a novel frameshift mutation of SCNN1B. Endocr Connect. 2018;7(12):1528–1534.
[12] Pepersack T, Allegre S, Jeunemaître X, et al. Liddle syndrome phenotype in an octogenarian. J Clin Hypertens (Greenwich)). 2015;17(1):59–60.
[13] Hansson JH, Nelson-Williams C, Suzuki H, et al. Hypertension caused by a truncated epithelial sodium channel gamma subunit: genetic heterogeneity of Liddle syndrome. Nat Genet. 1995;11(1):76–82.
[14] Cui Y, Tong A, Jiang J, et al. Liddle syndrome: clinical and genetic profiles. J Clin Hypertens. 2017; 19(5):524–529.
[15] Schild L, Lu Y, Gautschi I, et al. Identification of a PY motif in the epithelial Na channel subunits as a target sequence for mutations causing channel activation found in Liddle syndrome. Embo J. 1996; 15(10):2381–2387.
[16] Rotin D, Staub O. Role of the ubiquitin system in regulating ion transport. Pflugers Arch. 2011;461(1): 1–21.
[17] Hansson JH, Schild L, Lu Y, et al. A de novo missense mutation of the beta subunit of the epithelial sodium channel causes hypertension and Liddle syndrome, identifying a proline-rich segment critical for regulation of channel activity. Proc Natl Acad Sci U S A. 1995;92(25):11495–11499.
[18] Schild L, Canessa CM, Shimkets RA, et al. A mutation in the epithelial sodium channel causing Liddle disease increases channel activity in the Xenopus laevis oocyte expression system. Proc Natl Acad Sci U S A. 1995;92(12):5699–5703.
[19] Tamura H, Schild L, Enomoto N, et al. Liddle disease caused by a missense mutation of beta subunit of the epithelial sodium channel gene. J Clin Invest. 1996;97(7):1780–1784.
[20] Fan P, Pan XC, Zhang D, et al. Pediatric liddle syndrome caused by a novel SCNN1G variant in a chinese family and characterized by early-onset hypertension. Am J Hypertens. 2020;33:670–675.
[21] Fan P, Zhang D, Pan XC, et al. Premature stroke secondary to severe hypertension results from liddle syndrome caused by a novel SCNN1B mutation. Kidney Blood Press Res. 2020;45(4):603–611.
[22] Ciechanowicz A, Dolezel Z, Placha G, et al. Liddle syndrome caused by P616R mutation of the epithelial sodium channel beta subunit. Pediatr Nephrol. 2005;20(6):837–838.
[23] Wang LP, Yang KQ, Jiang XJ, et al. Prevalence of Liddle syndrome among young hypertension patients of undetermined Cause in a Chinese population. J Clin Hypertens. 2015;17(11):902–907.
[24] Liu K, Qin F, Sun X, et al. Analysis of the genes involved in Mendelian forms of low-renin hypertension in Chinese early-onset hypertensive patients. J Hypertens. 2018;36(3):502–509.
[25] Gong L, Chen J, Shao L, et al. Phenotype-genotype analysis in two Chinese families with Liddle syndrome. Mol Biol Rep. 2014;41(3):1569–1575.
[26] Bogdanovic R, Kuburovic V, Stajic N, et al. Liddle syndrome in a Serbian family and literature review of underlying mutations. Eur J Pediatr. 2012;171(3): 471–478.
[27] Yang KQ, Lu CX, Fan P, et al. Genetic screening of SCNN1B and SCNN1G genes in early-onset hypertensive patients helps to identify Liddle syndrome. Clin Exp Hypertens. 2018;40(2):107–111.
[28] Mulatero P, Verhovez A, Morello F, et al. Diagnosis and treatment of low-renin hypertension. Clin Endocrinol (Oxf)). 2007;67(3):324–334.
[29] Caretto A, Primerano L, Novara F, et al. A therapeutic challenge: Liddle's syndrome managed with amiloride during pregnancy. Case Rep Obstet Gynecol. 2014;2014:156250.

# 6 Poděkování

Tímto bych chtěl poděkovat mému školiteli profesoru Janu Filipovskému za vedení v průběhu celého studia a dále mému školiteli docentu Martinu Peštovi za cenné rady a pomoc se zpracováním zejména části práce týkající se genetiky. Zde nemohu opomenout ani tým Biomedicínského centra v čele s docentem Jaroslavem Hrabákem, který se na genetickém vyšetření podílel.

V neposlední řadě děkuji mé přítelkyni za to, že při mně vždy stála.