

# Jak posoudit non-compliance k farmakoterapii u těžké rezistentní hypertenze?

Branislav Štrauch<sup>1</sup>, Lukáš Chytil<sup>2</sup>, Ivana Kurcová<sup>2</sup>, Ondřej Petrák<sup>1</sup>, Tomáš Zelinka<sup>1</sup>, Ján Rosa<sup>1</sup>, Zuzana Šomlóová<sup>1</sup>, Robert Holaj<sup>1</sup>, Jiří Widimský<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centrum pro výzkum, diagnostiku a léčbu arteriální hypertenze, III. interní klinika, Všeobecná fakultní nemocnice a 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha, Česká republika

<sup>2</sup> Ústav soudního lékařství a toxikologie, Toxikologické oddělení, 1. LF UK a VFN, Praha, Česká republika

Štrauch B, Chytil L, Kurcová I, et al. **Jak posoudit non-compliance k farmakoterapii u těžké rezistentní hypertenze?** *Cor Vasa* 2011;53:429–432.

Rezistentní arteriální hypertenze je definována nemožností normalizace krevního tlaku, kdy i přes užívání alespoň trojkombinace antihypertenziv (včetně diuretik) jsou hodnoty krevního tlaku 140/90 mm Hg nebo vyšší. U všech pacientů je vhodné vyloučit potenciálně reverzibilní sekundární formy hypertenze. Vedle fenoménu bílého pláště je častou, ale obtížně prokazatelnou příčinou pseudorezistence hypertenze částečné nebo úplné neužívání doporučené medikace. Stupeň adherence k farmakoterapii je ovlivněn mnoha faktory, zejména jde o chyby na straně pacienta, vlastní medikace a vzácně předepisujícího lékaře. Metod k ověření compliance byla navržena celá řada, dosud však nebyl definován zlatý standard. V posledních letech je k dispozici metoda kvantitativního stanovení sérových koncentrací antihypertenziv pomocí kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí (LC-MS/MS). Jde o vysoce senzitivní a specifickou analytickou metodu, která v sobě spojuje separační schopnosti kapalinové chromatografie a vysoce selektivní detekci hmotnostním spektrometrem v tandemovém uspořádání. V současné době lze na Toxikologickém oddělení Ústavu soudního lékařství a toxikologie 1. LF UK a VFN kvantitativně stanovit následující antihypertenziva: amlodipin, verapamil, metoprolol, betaxolol, bisoprolol, hydrochlorothiazid, losartan, telmisartan, doxazosin, rilmenidin, ramiprilát a perindoprilát. Kvalitativně lze prokázat přítomnost metabolitu spironolaktonu (kanrenon). Pro správnou interpretaci naměřených dat je nutné znát farmakokinetické údaje, na jejichž základě je navržena vhodná doba odběru krve. V letech 2009–2010 jsme vyšetřili 120 hospitalizovaných pacientů s rezistentní hypertenzí (48 žen) a 73 ambulantních pacientů odeslaných ke konziliárnímu vyšetření s rezistentní hypertenzí (35 žen). Zatímco u hospitalizovaných pacientů byla všechna antihypertenziva prokázána v 83 %, u ambulantních pacientů pouze v 39 %. Non-compliance je tedy velmi častým fenoménem. Vyšetření koncentrací antihypertenziv v séru je u těžké hypertenze potenciálně užitečnou metodou posouzení non-compliance k antihypertenzní terapii a v indikovaných případech (zejména rezistentní hypertenze) by mělo najít uplatnění v naší klinické praxi i přes finanční nákladnost.

**Klíčová slova:** Rezistentní hypertenze – Compliance k antihypertenzní léčbě – Kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí

Štrauch B, Chytil L, Kurcová I, et al. **How to assess non-compliance with the pharmacotherapy in severe resistant hypertension?** *Cor Vasa* 2011;53:429–432.

Resistant arterial hypertension is defined by impossibility to normalize blood pressure to normal limits (140/90 mmHg) using at least combination of three antihypertensive drugs including a thiazide diuretic. Exclusion of potentially reversible secondary hypertension is needed in patients with resistant hypertension. Partial or total non-compliance of patients with regularly intake antihypertensive drugs is, besides white coat phenomenon, a frequent form of pseudoresistance to the treatment. There are many factors which contribute to the level of adherence, including the characteristics of the patients, prescribed medication and rarely prescribing physicians. Although many methods for assessment of compliance have been used in our practice, no golden standard was determined. A rapid and sensitive method using liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) for determination of antihypertensive drugs in human serum has been developed recently. Quantitative determination of following antihypertensive drugs is currently available at the Institute of Forensic Medicine and Toxicology, 1<sup>st</sup> Faculty of Medicine, Charles University in Prague: amlodipine, verapamil, metoprolol, betaxolol, bisoprolol, hydrochlorothiazide, losartan, telmisartan, doxazosine, rilmenidine, ramiprilate a perindoprilate. Qualitative determination of canrenoate is also available. For correct interpretation of measured data, good knowledge of pharmacokinetic characteristics of the drugs is needed to be able to determine appropriate timing of blood sampling. 120 hospitalized patients (48 females) with resistant hypertension admitted for exclusion of a secondary cause and 73 out-patients (35 females) with resistant hypertension investigated in our out-patient department were investigated during 2009–2010. While in hospitalized patients all antihypertensive drugs were positive in 83%, we observed a surprisingly very low compliance with the antihypertensive treatment among investigated out-patients with severe hypertension – all drugs were positive only in 39% of them. In conclusion, the evaluation of antihypertensive drugs concentrations is a useful and very precise method for assessment of a possible non-compliance with the antihypertensive treatment and should be, despite its expensiveness, more widely used in our practice to reveal non-compliance in patients with resistant hypertension.

**Key words:** Resistant hypertension – Compliance with antihypertensive treatment – Liquid chromatography–tandem mass spectrometry

**Adresa:** MUDr. Branislav Štrauch, Ph.D., III. interní klinika, VFN a 1. LF UK, U Nemocnice 1, 128 08 Praha 2, e-mail: branislav.strauch@vfn.cz

Rezistentní arteriální hypertenze je relativně častým, mnohdy však opomíjeným fenoménem.<sup>1</sup> Je definována jako stav, kdy i přes užívání alespoň trojkombinace antihypertenziv (včetně diuretik) jsou hodnoty krevního tlaku (TK) 140/90 mm Hg nebo vyšší. U starších hypertoniků s izolovanou systolickou hypertenzí je rezistence na léčbu definována jako přetrvávání systolického TK 140 mm Hg a více, navzdory podávání trojkombinace léků s využitím diuretik. U osob s diabetes mellitus a renální insuficiencí je cílová hodnota TK jen 130/80 mm Hg.<sup>2</sup> Přes existenci osmi tříd různých antihypertenzních léčiv se v klinické praxi stále setkáváme s nemocnými, u nichž nejsme schopni snížit krevní tlak do normálního rozmezí ani při použití kombinace pěti a více antihypertenziv (včetně diuretik) ve vysokých dávkách.

U všech pacientů s těžkou rezistentní hypertenzí je vhodné vyloučit potenciálně reverzibilní sekundární formy hypertenze – z endokrinních příčin nejčastěji primární hyperaldosteronismus, ale i feochromocytom a hyperkortisolismus, dále i renovaskulární hypertenzi. Je-li sekundární etiologie vyloučena, je indikována kombinační antihypertenzní léčba, často vyžadující více než čtyřkombinaci antihypertenziv.

Prevalence rezistentní hypertenze v obecné populaci není známa, v literatuře se setkáváme v menších studiích s velmi rozdílnými údaji, které oscilují v rozmezí 3–50 %.<sup>3,4</sup> Je velmi pravděpodobné, že tyto rozdíly mohou být způsobeny výběrem zkoumané populace. Dle naší studie provedené v Centru pro hypertenzi činil výskyt rezistentní hypertenze 9,8 %.<sup>5</sup>

Na rozdíl od pacientů se sekundární a těžkou esenciální hypertenzí se skutečnou rezistencí k léčbě musíme odlišit tzv. pseudorezistenci, zejména u podskupiny pacientů s fenoménem bílého pláště. V tomto případě můžeme k odlišení použít buď 24hodinové monitorování TK, anebo domácí měření TK. Relativně častou, ale obtížně prokazatelnou příčinou pseudorezistence hypertenze však může být částečné nebo úplné neužívání doporučené medikace nemocnými, non-compliance. Výsledky dostupných studií konstatují, že až 40 % nově diagnostikovaných hypertoniků ukončí antihypertenzní léčbu během prvního roku léčby a pouze 40 % pokračuje v antihypertenzní léčbě v následující dekádě.<sup>6-8</sup> Analýza 4 783 hypertoniků zařazených do IV. fáze klinických studií se sledováním po dobu 30–330 dní vedla k závěru, že u 50 % pacientů došlo k přerušení antihypertenzní terapie do jednoho roku.<sup>9</sup> Navíc byla zjištěna inverzní korelace mezi počtem denních dávek a frekvencí přerušení léčby.

Faktorů, které se podílejí na stupni adherence k farmakoterapii, může být celá řada, lze je rozdělit na chyby na straně pacienta, vlastní medikace a vzácně i na straně předepisujícího lékaře.<sup>10-11</sup> Mezi nejdůležitější faktory na straně pacienta ovlivňující compliance patří etnický původ, rodinný stav, závislost na lécích či drogách, nízké vzdělání, nepochopení nutnosti léčby, nedostatečná důvěra v lékaře i léčbu, psychické problémy, nízká motivace ke změně chování a nízký socioekonomický status. Mezi faktory medikace patří složitost denního dávkování, počet tablet za den, nežádoucí účinky a cena. Na straně lékaře to pak mohou být nedostatek empatie a špatná komunikace neumožňující podpoření pacientovy motivace a spoluodpovědnosti

za léčbu. Bohužel, v některých případech může být příčinou neužívání farmakoterapie čistě účelové jednání – při trvající nekontrované hypertenzi možnost získání nebo udržení invalidního důchodu, případně dlouhodobá pracovní neschopnost. Prokázat non-compliance pacienta může však být relativně náročné. Existuje řada postupů ke zhodnocení compliance, ale každý z nich má svá omezení a v podstatě neexistuje zlatý standard.<sup>12</sup> Pomoci mohou dotazníkové metody (self-reporting), počítání tablet, srovnání počtu předepsaných a vyzvednutých balení, elektronická kontrola užívání tablet (mikroprocesory v balení léků, detekující otevření) – tyto metody však nemohou jednoznačně prokázat, zda lék byl skutečně užit. Mezi klinické ukazatele vhodné k posouzení compliance patří 24hodinová monitorace TK a dále i některé klinické známky – absence bradykardie při terapii beta-blokátory, absence otoků při terapii vyšší dávkou blokátorů kalciového kanálu. Přesnější metodou je orientační stanovení přítomnosti antihypertenziv/metabolitů v moči.

V posledních letech je k dispozici metoda kvantitativního stanovení koncentrací antihypertenziv v séru pomocí kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí (LC-MS/MS).<sup>13-14</sup> Jde o vysoce senzitivní a specifickou analytickou metodu, která v sobě spojuje separační schopnosti kapalinové chromatografie a vysoce selektivní detekci hmotnostním spektrometrem v tandemovém uspořádání. S využitím této metody lze kvantifikovat konkrétní léčiva v séru, aniž by došlo k interferencím, které mohou být způsobeny přítomností jiných, současně podávaných medikamentů a dalších endogenních substancí. Zatím však byla používána převážně ke studiu farmakokinetiky a farmakodynamiky antihypertenziv a o jejím využití při monitoraci compliance k léčbě hypertenze není mnoho literárních údajů. Až v poslední době byla publikována retrospektivní studie,<sup>15</sup> kde v souboru 84 ambulantních pacientů s farmakorezistentní hypertenzí 65,5 % pacientů splnilo kritéria non-compliance, 34,5 % pacientů mělo negativní všechna stanovená antihypertenziva.

V současné době lze na Toxikologickém oddělení Ústavu soudního lékařství a toxikologie I. LF UK a VFN stanovit koncentrace následujících antihypertenziv: amlodipinu, verapamilu, metoprololu, betaxololu, bisoprololu, hydrochlorothiazidu, losartanu, telmisartanu, doxazosinu, rilmenidinu. Vzhledem k rychlé metabolizaci inhibitorů ACE jsou stanovovány jejich metabolity ramiprilát a perindoprilát. Dále je k dispozici kvalitativní analýza přítomnosti metabolitu spironolaktону (kanrenon) v séru.

Kvantifikační postupy užívané pro ověření compliance jsou validovány podle mezinárodně platných kritérií a ověřovaly se u nich všechny důležité parametry (matricový efekt, výtěžnost extrakčního postupu, opakovatelnost, správnost, korelační koeficient kalibrační závislosti, selektivita a senzitivita). Validace a podrobný popis vývoje metod pro doxazosin, rilmenidin a verapamil byly uvedeny v publikovaných sděleních.<sup>16,17</sup>

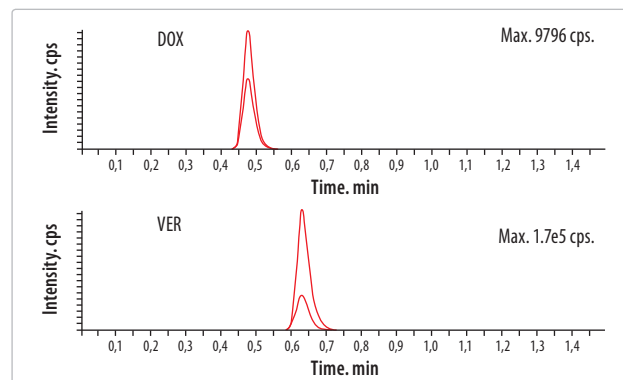
Obzvláště důležitými validačními parametry jsou konkrétně v této aplikaci limit detekce (LOD) a dolní limit kvantifikace (LLOQ). LOD je minimální hodnota koncentrace léčiva ve vzorku, která může být ještě detekovatelná (senzitivita metody). LLOQ je nejnížší hodnota koncentrace analytu

v analyzovaném vzorku, která může být stanovena (vyčíslena) s požadovanou správností. Hodnoty stanovené nad LLOQ jsou interpretovány číselně, hodnoty nacházející se pod LLOQ, avšak nad LOD, jsou interpretovány jako hodnoty pod limitem kvantifikace a výsledky nedosahující LOD jsou interpretovány jako negativní. Číselný výsledek je pak porovnán s terapeutickými rozmezími, která jsou dostupná v literatuře.<sup>18</sup> Následně je výsledek interpretován buď jako hodnota v terapeutickém rozmezí, nebo jako hodnota pod nebo nad terapeutickým rozmezím, nebo jako hodnota nedetekovatelná (nulová). Podrobněji shrnuje LOD, LLOQ a terapeutická rozmezí pro jednotlivá léčiva *tabulka 1*. Pro některé analyty (kanrenon, telmisartan, perindoprilát, ramiprilát a rilmenidin) nejsou bohužel hodnoty terapeutických rozmezí dosud k dispozici, bylo tedy nutné výsledek ponechat bez interpretace. S každým vzorkem séra pacienta je zároveň analyzován vzorek séra bez přítomnosti léčiva (tzv. blank) pro porovnání s patientským vzorkem, což je mimo jiné nutné pro správné posouzení případné negativity. Chromatogramy pacientů s terapeutickou a nulovou sérovou koncentrací verapamilu, doxazosinu a rilmenidinu jsou znázorněny na *obrázcích 1, 2 a 3*.

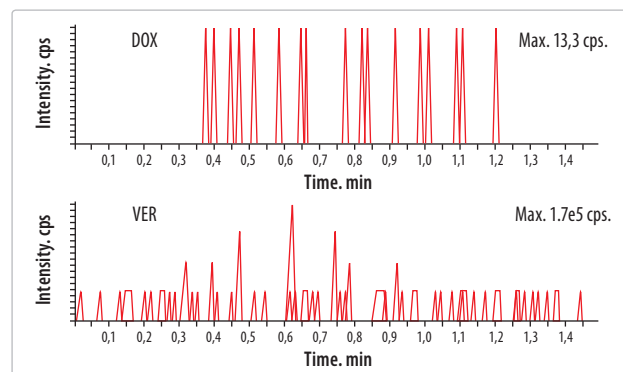
Pro správnou interpretaci naměřených dat je nutné znát farmakokinetické údaje, na jejichž základě je navržena vhodná doba odběru séra. Nezbytná je znalost biologického poločasu léčiva ( $t_{1/2}$ ), maximální sérové koncentrace ( $C_{max}$ ) a času do dosažení  $C_{max}$  ( $t_{max}$ ). Aby měl výsledek vypovídající hodnotu ve smyslu průkazu non-compliance, je nutné odběr uskutečnit mezi očekávaným  $t_{max}$  a časem, kdy koncentrace v séru neklesne pod detekovatelnou mez analytické metody. Na základě velmi nízkých hodnot  $t_{1/2}$  pro některá léčiva se místo původních forem stanovovaly

**Tabulka 1** Limity a terapeutická rozmezí pro stanovená léčiva (vysvětlení zkratk v textu)

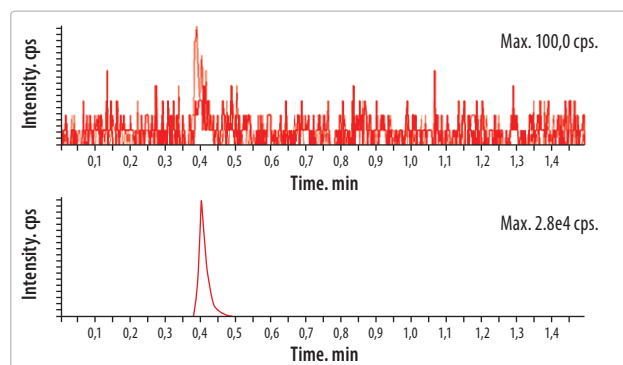
Terapeutická skupina	Léčivo	LOD (ng/ml)	LLOQ (ng/ml)	Terapeutické rozmezí (ng/ml)
Blokátory vápníkových kanálů	amlodipin	0,5	1	5–15
	verapamil	0,5	1	10–400
Beta-blokátory	betaxolol	0,5	1	5–50
	bisoprolol	1	4	10–100
	metoprolol	2	10	35–500
Diuretika	kanrenon	1	4	–
	hydrochlorothiazid	2	4	40–2 000
Blokátory receptorů AT <sub>1</sub> pro angiotensin II	losartan	1	4	< 200
	telmisartan	1	4	–
Inhibitory ACE	perindoprilát	0,5	1	–
	ramiprilát	0,5	1	–
Blokátory $\alpha_1$ -adrenergických receptorů	doxazosin	0,5	1	10–150
Centrálně působící antihypertenziva	rilmenidin	0,04	0,1	–



**Obrázek 1** LC-MS/MS SRM chromatogramy získané analýzou séra pacienta obsahujícího 21,4 ng/ml doxazosinu (DOX) a 44,8 ng/ml verapamilu (VER)



**Obrázek 2** LC-MS/MS SRM chromatogramy získané analýzou séra pacienta s negativním nálezem doxazosinu a verapamilu



**Obrázek 3** LC-MS/MS SRM chromatogramy získané analýzou séra pacienta s negativním nálezem rilmenidinu (nahore) a s nálezem 1,8 ng/ml

jejich metabolity s delším  $t_{1/2}$ . V literatuře se uvádí hodnota  $t_{1/2}$  pro spironolakton v rozmezí 1–2 h, zatímco pro metabolit kanrenon, vzniklý odtržením thioacetalové skupiny od mateřské látky, se tato hodnota pohybuje v rozmezí 14–20 hodin.<sup>19</sup> Z tohoto důvodu se u pacientů užívajících spironolakton stanovuje pouze kanrenon. Obdobná je i situace u inhibitorů ACE perindoprilu a ramiprilu, jejichž  $t_{1/2}$  se nachází v rozmezí 0,8–1,5 h pro perindopril a 1–5 h pro ramipril.<sup>17</sup> Obě léčiva jsou zařazována mezi tzv. proléčiva, jejichž metabolizací vznikají vlastní účinné látky s delšími  $t_{1/2}$ . V těchto konkrétních případech vznikají hydrolyzou esterové vazby aktivní substance perindoprilát a ramiprilát, které se stanovují místo původních forem. V případě losar-



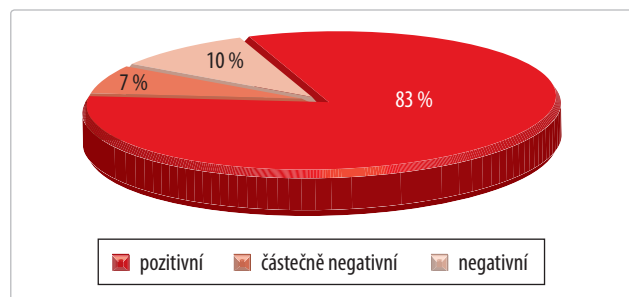
tanu se  $t_{1/2}$  pohybuje v rozmezí 1–4 hodin,<sup>20</sup> což vede opět k jisté opatrnosti při posuzování compliance. Vzhledem ke komerční nedostupnosti metabolitu losartanu, sloučeniny EXP3174, se doporučuje odebírat krev pacientům pouze v rozmezí 1–6 hodin od užití poslední dávky. U dalších léčiv není nutné vzhledem k příznivým farmakokinetickým parametrům konkretizovat čas odběru.

Dalším problémem může být různá rychlost metabolismu léčiv (pomalí vs. rychlí metabolizátoři). Obvykle se odběry provádějí 3–6 hodin po podání léku. U látek s dlouhým poločasem je však detekce možná i v delším časovém intervalu.

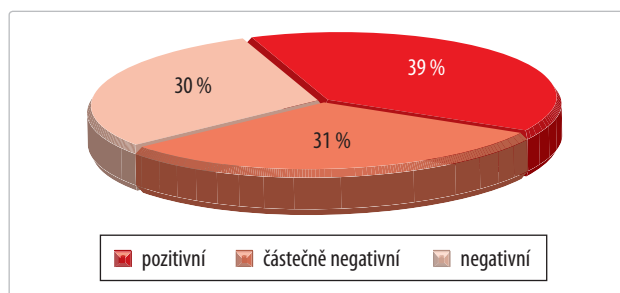
Limitem metody je stanovení koncentrace antihypertenziv pouze v okamžiku odběru, což může vzhledem k možnému zvýšení compliance v období kontroly u některých pacientů (adherence bílého pláště) výskyt non-compliance k dlouhodobé pravidelné léčbě spíše podhodnocovat.

Pokud jde o naše aktuální zkušenosti, za období 2009–2010 jsme vyšetřili 120 hospitalizovaných pacientů s rezistentní hypertenzí (48 žen) a 73 ambulantních pacientů s rezistentní hypertenzí (35 žen). U všech pacientů byl po klinickém vyšetření s jejich souhlasem proveden neplánovaný odběr krve ke stanovení koncentrací antihypertenziv. Výsledky jsou znázorněny na obrázku 4 (hospitalizovaní pacienti) a obrázku 5 (ambulantní pacienti). Je patrné, že adherence k terapii byla u hospitalizovaných mnohem vyšší, což může být dáno jejich vyšší motivací. Velkým zklamáním a překvapením však byla nízká úroveň compliance u pacientů odeslaných do naší specializované ambulance s rezistentní hypertenzí k vyloučení sekundární etiologie. Naše výsledky jsou plně v souladu s výsledky recentní studie.<sup>15</sup> Příčin může být celá řada, jak již bylo uvedeno výše, mezi nejčastější patrně patří nízká motivace k léčbě, neuvědomění si dlouhodobých následků neléčené hypertenze, ale u některých pacientů máme podezření na účelové jednání s cílem sekundárních zisků (invalidní důchody, dlouhodobá pracovní neschopnost).

Závěrem lze konstatovat, že vzhledem k častému výskytu non-compliance je vyšetření sérových koncentrací antihypertenziv u těžké hypertenze potenciálně užitečnou metodou k posouzení non-compliance k antihypertenzní terapii, a v indikovaných případech (zejména rezistentní hypertenze) by mělo najít uplatnění v naší klinické praxi i přes finanční nákladnost. Mělo by být zvaženo ještě před zahájením vyšetřovacího programu sekundární hypertenze k racionalizaci výběru pacientů vyšetřovaných komplexními



Obrázek 4 Výsledky stanovení koncentrace antihypertenziv u hospitalizovaných pacientů s rezistentní hypertenzí



Obrázek 5 Výsledky stanovení koncentrace antihypertenziv u ambulantních pacientů s těžkou rezistentní hypertenzí

metodami, a tím k úspoře nákladů na tato vyšetření. Metoda by tedy mohla najít i uplatnění v oblasti posudkového lékařství.

## Literatura

1. Widimský J jr. Rezistentní hypertenze – nepříliš častý, avšak stále existující problém. *Cor Vasa* 2002;44:265–266.
2. Widimský J jr, Cífková R, Špinar J, et al. Doporučení diagnostických a léčebných postupů u arteriální hypertenze – verze 2007. Doporučení České společnosti pro hypertenzi. *Cor Vasa* 2008;50:K5–22.
3. Vidt DG. Contributing factors in resistant hypertension. *Postgrad Med* 2000;107:57–65.
4. Kaplan NM. Resistant hypertension. *J Hypertens* 2005; 23:1441–1444.
5. Pikus T, Widimský J jr, Zelinka T, et al. Prevalence a klinická charakteristika rezistentní hypertenze ve specializovaném centru. *Cor Vasa* 2007;49:351–354.
6. Caro JJ, Salas M, Speckman JL, et al. Persistence with treatment for hypertension in actual practice. *Can Med Assoc J* 1999;160:31–37.
7. Mazzaglia G, Mantovani LG, Sturkenboom MC, et al. Patterns of persistence with antihypertensive medications in newly diagnosed hypertensive patients in Italy: a retrospective cohort study in primary care. *J Hypertens* 2005;23:2093–2100.
8. Van Wijk BL, Klungel OH, Heerdink ER, de Boer A. Rate and determinants of 10-year persistence with antihypertensive drugs. *J Hypertens* 2005;23:2101–2107.
9. Vrijens B, Vincze G, Kristanto P, et al. Adherence to prescribed antihypertensive drug treatments: longitudinal study of electronically compiled dosing histories. *Br Med J* 2008;336:1114–1117.
10. Zimmerman GL, Olsen CG, Bosworth MF. A “stages of change” approach to helping patients change behavior. *Am Fam Physician* 2000;61:1409–1416.
11. TEC Assessment Program. Special report: interventions to improve patient adherence with medications for chronic cardiovascular disorders. Chicago: Blue Cross and Blue Shield Association; 2003.
12. Osterberg L, Blaschke T. Adherence to medication. *N Engl J Med* 2005;353:487–497.
13. Gonzalez O, Iriarte G, Ferreirós N, et al. Optimization and validation of a SPE-HPLC-PDA-fluorescence method for the simultaneous determination of drugs used in combined cardiovascular therapy in human plasma. *J Pharm Biomed Anal* 2009;50:630–639.
14. Iriarte G, Gonzalez O, Ferreirós N, et al. Validation of a fast liquid chromatography-UV method for the analysis of drugs used in combined cardiovascular therapy in human plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2009;877:3045–3053.
15. Ceral J, Habrdova V, Vorisek V, et al. Difficult-to-control arterial hypertension or uncooperative patients? The assessment of serum antihypertensive drug levels to differentiate non-responsiveness from non-adherence to recommended therapy. *Hypertens Res* 2011;34:87–90.
16. Chytil L, Štrauch B, Cvačka J, et al. Determination of doxazosin and verapamil in human serum by fast LC-MS/MS: application to document non-compliance of patients. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2010;878:3167–3173.
17. Chytil L, Cvačka J, Marešová V, et al. Development of a fast LC-MS/MS method for quantification of rilmenidine in human serum: elucidation of fragmentation pathways by HRMS. *J Mass Spectrom* 2010;45:1179–1185.
18. Schulz M, Schmoldt A. Therapeutic and toxic blood concentrations of more than 800 drugs and other xenobiotics. *Pharmazie* 2003;58:447–474.
19. Cohen JS, Insel PA. The Physicians’ Desk Reference. Problems and possible improvements. *Arch Intern Med* 1996;156:1375–1380.
20. Ohtawa M, Takayama F, Saitoh K, et al. Pharmacokinetics and biochemical efficacy after single and multiple oral administration of losartan, an orally active nonpeptide angiotensin II receptor antagonist, in humans. *Br J Clin Pharm* 1993;35:290–297.

Došlo do redakce 24. 7. 2011

Přijato 1. 8. 2011