

**Univerzita Karlova**  
**Lékařská fakulta v Plzni**

**Dizertační práce**

**Plzeň, 2019**

**MUDr. Aneta Sýkorová**

**Univerzita Karlova**

**Lékařská fakulta v Plzni**

Studijní program: Pediatrie

Vyhledávání a hodnocení závažnosti endoteliální dysfunkce u dětí s  
chronickým autoimunitním onemocněním

Searching for and evaluating the severity of endothelial dysfunction in  
children with chronic autoimmune disease

## **Dizertační práce**

Školitel: MUDr. Petr Jehlička, PhD.

**Plzeň, 2019**

**MUDr. Aneta Sýkorová**

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala 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, 16.1.2019

ANETA SÝKOROVÁ

Podpis

## **Poděkování**

Na tomto místě bych ráda poděkovala svým kolegům z Dětské kliniky, jejichž rady přispěly k dokončení disertační práce.

Především děkuji svému školiteli MUDr. Petru Jehličkovi, PhD. za pomoc během mého studia a za poskytnuté materiály a výsledky z předchozích studií.

Dále děkuji MUDr. Michalu Humlovi, PhD. za jeho velkou pomoc při shromažďování dat a zpracování výsledků.

Mé velké díky patří přednostovi Dětské kliniky prof. MUDr. Josefu Sýkorovi, PhD., a dále prof. MUDr. Jiřímu Kobrovi, PhD. za podporu a cenné rady během celého mého studia.

A v neposlední řadě děkuji ing. Ladislavu Trefilovi za zajištění imunoanalytických metod a zpracování laboratorních vzorků a ing. Stanislavu Kormundovi za statistické zpracování výsledků.

## OBSAH

1. Úvod.....	5
2. Současný stav problematiky .....	6
2.1. Ateroskleróza v dětském věku .....	6
2.2. Funkce endotelu.....	8
2.3. Endoteliální dysfunkce a možnosti její detekce.....	8
2.3.1. Endoteliální dysfunkce.....	9
2.3.2. Možnosti detekce.....	10
2.3.2.1. Zobrazovací metody.....	10
2.3.2.2. Biochemické metody.....	10
2.4. Vybrané skupiny onemocnění a riziko endoteliální dysfunkce v těchto skupinách.....	12
2.4.1. Diabetes mellitus 1. typu.....	12
2.4.2. Crohnova choroba.....	13
2.4.3. Cystická fibróza.....	13
2.4.4. Familiární hypercholesterolémie.....	14
2.4.5. Akutní lymfoblastická leukémie.....	15
3. Cíle disertační práce.....	16
4. Soubory pacientů.....	17
4.1. Diabetes mellitus 1. typu.....	17
4.2. Crohnova choroba.....	17
4.3. Cystická fibróza.....	18
4.4. Familiární hypercholesterolémie.....	18
4.5. Akutní lymfoblastická leukémie.....	18
4.6. Kontrolní skupina dětí.....	19
5. Použité metody.....	20
5.1. Měření RHI.....	20

5.2.	Laboratorní měření.....	24
5.3.	Statistické hodnocení.....	25
5.4.	Etické aspekty.....	25
6.	Výsledky.....	26
6.1.	Demografická data.....	26
6.2.	Hodnocení funkce endotelu – výsledky k primárním cílům dizertační práce...	29
6.3.	Výsledky k sekundárním cílům disertační práce.....	49
7.	Diskuze.....	52
8.	Závěry.....	58
9.	Souhrn.....	59
10.	Summary.....	61
11.	Použitá literatura.....	63
12.	Seznam zkratk.....	71
13.	Publikační činnost.....	72
14.	Curriculum vitae.....	75

Studie byla podpořena výzkumným projektem MSMT CZ- No. 0021620816, PRVOUK P36 a PROGRES Q39.

## 1. Úvod

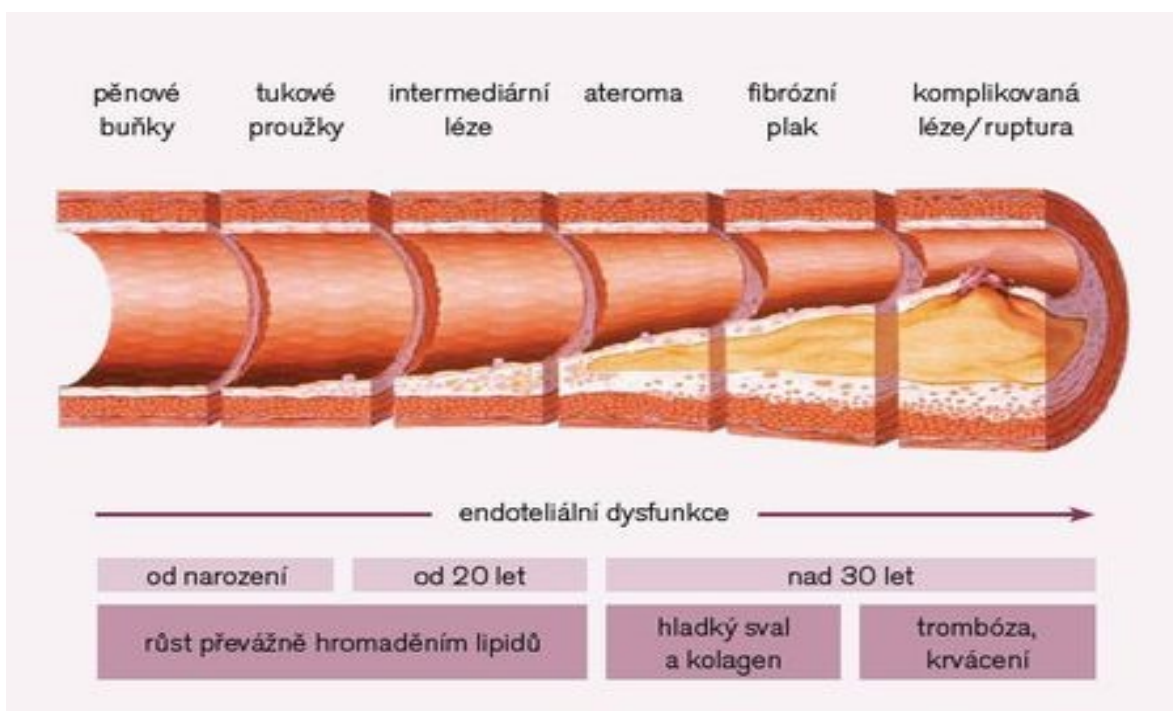
Snaha o časnou detekci aterosklerózy souvisí s průkazem morfologických projevů již v dětském věku (1). Klinický průběh je v tomto období nenápadný, endoteliální dysfunkce (ED) je však jejím časným funkčním preklinickým projevem. Je tedy snaha detekovat patologické procesy ještě v tomto reverzibilním stádiu a eliminovat či alespoň oddálit klinicky manifestní projevy aterosklerózy.

Původní záměr práce pokusit se o detekci endoteliální dysfunkce u dětí s chronickým autoimunitním onemocněním jsme v průběhu studie rozšířili o další rizikové skupiny dětí, u kterých jsme na základě dostupných dat (především v dospělé populaci) předpokládali možné kardiovaskulární riziko.

## 2. Současný stav problematiky

### 2.1. Ateroskleróza v dětském věku

Ateroskleróza je onemocnění polygenní, ovlivněné genetickými a environmentálními faktory. Pro aterosklerózu je typické dlouhé asymptomatické období, které může být následováno rychlou klinickou manifestací. Na rozvoji aterosklerotických lézí se podílejí procesy na úrovni celulární, subcelulární, molekulární a genové. Nejčastěji je ateroskleróza popisována jako chronická zánětlivá a proliferativní reakce stěny tepen na různé inzulty. Jde o reakci endotelu a intimy s následným zvláštním typem akumulace lipidů v intimě a subintimální části stěny tepen.



Obr. 1. Aterogeneze (2) (3)



Histopatologicky lze rozlišit šest stádií vývoje ateromatozních lézí:

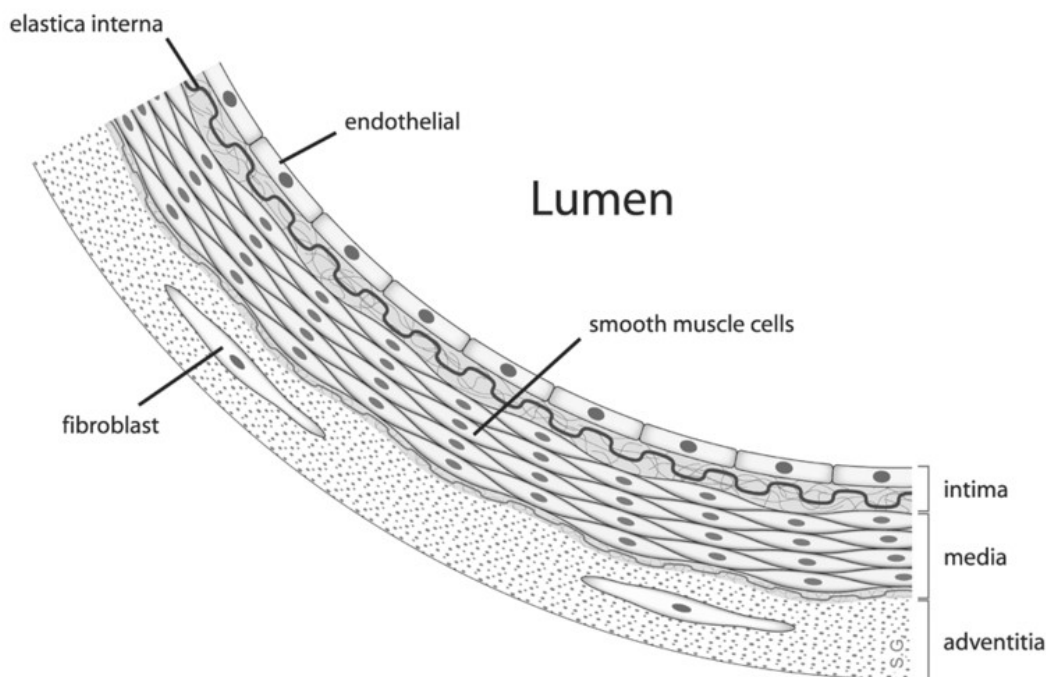
- I. Iniciální léze se zvýšeným počtem izolovaných pěnových buněk odvozených z makrofágů
- II. Lipidní proužky - hromadění pěnových buněk obsahujících intracelulárně akumulované lipidy
- III. Preaterom s malými extracelulárními depozity lipidů
- IV. Aterom
- V. Fibroaterom - proliferace buněk hladkého svalstva v intimě a zvýšená syntéza extracelulární matrix, obsahující kolagenní a elastická vlákna, která vytváří vazivovou vrstvu nad lipidovým jádrem
- VI. Komplikovaná léze – kalcifikace, ruptura nebo exulcerace, krvácení do ateromu, vznik trombu

Na vzniku a vývoji aterosklerózy se podílí celá řada rizikových faktorů. Nejzávažnějším z nich jsou dyslipoproteinémie – primární či sekundární poruchy metabolismu lipidů. Mezi sekundární příčiny hyperlipoproteinémií patří endokrinopatie (hypothyreóza, deficit růstového faktoru a další), onemocnění jater, chronická onemocnění ledvin a další. Další rizikové faktory pro dětský věk uvádí Bogalusa Heart Study (4). Mezi neovlivnitelné rizikové faktory aterosklerózy patří věk, pohlaví (mužské) a faktory genetické. Za pozitivní rodinnou anamnézu je považován výskyt infarktu myokardu nebo náhlé smrti u otce nebo prvostupňového mužského příbuzného ve věku nižším než 55 let. U matky a prvostupňových příbuzných ženského pohlaví je věkovou hranicí 65 let. Mezi ovlivnitelné faktory se řadí kouření, arteriální hypertenze, diabetes mellitus (především 2. typu) a porušená glukózová tolerance a obezita (především typ obezity s velkým množstvím abdominálního tuku). (3)

Díky intenzivní mezioborové spolupráci jednotlivých lékařských odvětví se v posledních letech podařilo v České republice významně snížit úmrtnost na kardiovaskulární onemocnění (KVO). Stále však zůstávají nejčastější příčinou úmrtí u dospělých a představují závažný zdravotní a sociálně-ekonomický problém (5). Vyskytují se stále v nižším věku. Nejúčinnějším způsobem snižování úmrtnosti na kardiovaskulární onemocnění je prevence (6) (7).

## 2.2. Funkce endotelu

Endotel tvoří jednovrstevnou vnitřní výstelku cévního lumen. Dlouhou dobu se předpokládalo, že endotel tvoří pouze buněčnou bariéru, která odděluje cévní stěnu od krve a zajišťuje nesmáčivý povrch cévního lumen. Výzkum v posledních letech však ukázal, že endotel je endokrinně a metabolicky velmi aktivní orgán s celou řadou fyziologických funkcí. Je známa řada endoteliálních působků, které se uplatňují v procesu řízení metabolických, hemodynamických, protizánětlivých a antitrombogenních procesů. Důležitým působkem je endoteliální syntáza oxidu dusnatého, jejíž aktivace (například hypoxií) vede k vazodilataci, ale i adhezi a agregaci trombocytů. Mezi další endoteliální působky ovlivňující průtok krve cévou patří endotelin-1 a prostacyklin. V procesu hemokoagulace se uplatňuje von-Willebrandův faktor (vWf), v procesu fibrinolýzy hraje důležitou roli tkáňový aktivátor plasminogenu (t-PA) a jeho inhibitor (PAI-1). Na povrchu endotelu je též vázán angiotenzin-konvertující enzym a endotel může prostřednictvím změny jeho aktivity ovlivňovat hladiny angiotenzinu II a bradykininu. Intaktní endotel je dokonale nesmáčivým povrchem, a tak zajišťuje integritu cévního řečiště. V neposlední řadě může endotel zasahovat i do reparativních procesů a procesů angiogeneze. (8)



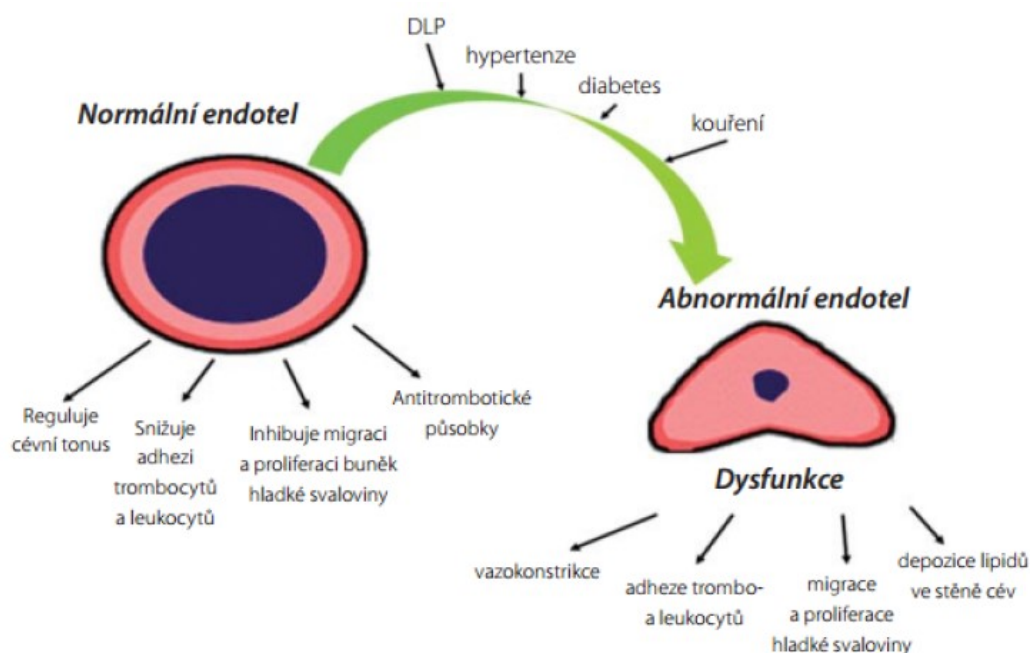
**Obr. 2.** Stavba tepny (9)

## 2.3. Endoteliální dysfunkce a možnosti její detekce

### 2.3.1. Endoteliální dysfunkce

Endoteliální dysfunkce (ED) hraje důležitou roli v rozvoji předčasné aterosklerózy, hypertenze a srdečního selhání (10). Na rozvoji endoteliální dysfunkce se podílí nerovnoměrné rozdělení aterogenních a ateroprotektivních faktorů u jedince, přesný mechanismus vzniku ED však dosud není znám (11) (12). Výzkum ukazuje, že endoteliální výstelka hraje klíčovou roli ve vývoji nekontrolovaného chronického zánětu (13). Dysfunkční endotel vede ke zvýšené produkci prozánětlivých cytokinů, vazoadhezivních a protrombogenních molekul majících za následek poškození cévní stěny (14) (15). Rozhodující roli hraje snížená dostupnost endoteliálního oxidu dusnatého (NO) vedoucí k poruše vazodilatace. Klinicky je ED nejčastěji popisována jako snížená schopnost odpovědi cévní stěny na příslušný podnět (10).

Snaha o časnou detekci endoteliální dysfunkce souvisí s její potenciální reverzibilitou. Primárním cílem současných studií je tedy optimalizace terapie a snížení kardiovaskulárního rizika v rizikových skupinách dětí (16).



Obr. 3. Vznik a důsledky endoteliální dysfunkce (17)

### **2.3.2. Možnosti detekce ED**

Pro detekci endoteliální dysfunkce je možno využít metod zobrazovacích (invazivních a neinvazivních) a biochemických.

#### **2.3.2.1. Zobrazovací metody**

Zobrazovací metody můžeme dále dělit na invazivní a neinvazivní. Invazivní metody jako angiografie, koronarografie, intravaskulární ultrazvuk či virtuální histologie mohou poskytnout poměrně přesnou informaci o stavu koronárního řečiště. Nicméně, i s ohledem na nízký věk pacientů, je snahou zavést do praxe metodiky neinvazivní, které by byly zároveň technicky i finančně méně náročné. Mezi neinvazivní metody je zařazeno například CT vyšetření, hodnocení Intima Media Thickness (IMT) a také metody sledující funkční projevy cévy. Příkladem je metoda Flow Mediated Dilatation (FMD), kdy je ultrasonograficky hodnocena postokluzní dilatace brachiální arterie. Tato metoda je však závislá na zkušenostech sonografisty a je zatížena intra- a interindividuální chybou. Všechny tyto metody jsou zároveň technicky poměrně náročné.

Nová metoda měření reaktivního hyperemického indexu (RHI) je založena na neinvazivním měření postokluzních změn periferního arteriálního řečiště, přičemž využívá pletyzmografický princip měření periferního arteriálního tonu (PAT) (18). Nedostatečné zvýšení PAT amplitudy během reaktivní hyperémie, následující po fázi přechodné okluze, je spojeno s ED. Tento fakt potvrzují již dříve publikované studie, při kterých byly konfirmačně použity též invazivní metody měření (19). Literárně udávaná vysoká senzitivita a specificita, společně s minimální závislostí na vyšetřujícím personálu, dává předpoklad pro dobrou použitelnost této metody v klinické praxi (20) (10) (21).

#### **2.3.2.2. Biochemické metody**

Endoteliální funkci můžeme také hodnotit pomocí měření koncentrace endoteliálních působků. Nejlépe vypovídají o funkci endotelu vzorky krve získané přímo z postiženého místa (např. při koronarografii), což však vyžaduje invazivní přístup. V praxi je proto více využíváné stanovení plazmatických či sérových koncentrací z žilní krve. Nevýhodou je

biotransformace či nestabilita některých působků. V současné době je možno hodnotit známé stabilní a dostupné biochemické markery spojené s endoteliální dysfunkcí, jakými jsou například t-PA, PAI-1, trombomodulin, vWf, endoteliny a podobně.

Jedním z novějších biochemických parametrů hodnocených v souvislosti s endoteliální dysfunkcí je asymetrický dimethylarginin (ADMA). Jedná se o kompetitivní inhibitor endoteliální syntázy oxidu dusnatého s biochemickou vazbou na homocystein. Signifikantně zvýšené hodnoty ADMA ukazují na zvýšený oxidativní stres, vedoucí k inhibici syntázy oxidu dusnatého, a v důsledku toho na snížení postokluzní vazodilatace. Toto tvrzení je ve shodě s experimentálními studiemi, které potvrzují vztah mezi biochemickými a funkčními změnami endotelu (22). Podobně jsme našli signifikantně zvýšené hodnoty ADMA v naší předchozí studii u dětí s Crohnovou chorobou (23) (24). Stejně tak byly nalezeny zvýšené hodnoty ADMA i v předchozích studiích, které probíhaly na Dětské klinice FN Plzeň u dětí s diabetem mellitem 1. typu a familiární hypercholesterolémií (25). Dalším z biochemických parametrů, které je možno hodnotit v souvislosti s funkcí endotelu, je E-selectin. Ten je odpovědný za adhezi leukocytů v endoteliálních buňkách založenou na imunologicko- zánětlivých interakcích. Dalšími adhezními molekulami je ICAM1 (intercellular adhesion molecule-1) a VCAM1 (vascular cytoadhesion molecule-1). Tyto molekuly jsou exprimovány na povrchu buněk a jsou důležité pro průběh celé řady imunitních a zánětlivých reakcí. Jejich zvýšená exprese na buněčném povrchu je stimulována některými cytokiny. Nadměrná a nepřiměřená exprese vede k poškození tkání, poruše mikrocirkulace a celé řadě dalších imunologicko-zánětlivých procesů. (26)

Vysoce senzitivní C-reaktivní protein (hsCRP) také souvisí s aterogenním procesem a zvýšená hladina hsCRP je zřejmě prediktivním faktorem morbidity a mortality při kardiovaskulárních příhodách u zdánlivě zdravých jedinců, bez ohledu na konvenční obecně známé rizikové faktory (27) (12) (28). V klinické praxi je však nutno brát v úvahu fakt, že zvýšená hodnota hsCRP v plazmě může svědčit pro akutně probíhající zánětlivé změny a nemusí vždy souviset s endoteliální dysfunkcí. Tuto skutečnost jsme se snažili eliminovat měřením dalších parametrů zánětu (prokalcitonin, interleukin-6). Vzhledem k nízké specificitě faktoru je však hsCRP považován za pomocný faktor pro detekci ED.

## **2.4. Vybrané skupiny a jejich souvislost s endoteliální dysfunkcí**

Literární údaje potvrzují, že chronická zánětlivá a imunologická onemocnění, jako autoimunitní revmatická onemocnění (29), chronická renální onemocnění (30), systémový lupus erythematosus (31), progresivní systémová skleróza (32), diabetes mellitus (33), autoimunní thyroditida (34) a další, jsou spojena se zvýšeným rizikem ED a předčasných změn cévní stěny.

Do naší studie jsme vybrali celkem pět skupin dětí s různými diagnózami, u kterých jsme na základě dostupných dat v dětské i dospělé populaci předpokládali možnost endoteliální dysfunkce.

### **2.4.1. Diabetes mellitus**

Diabetes mellitus 1. typu (DM1) je chronické autoimunitní onemocnění způsobené poškozením beta buněk Langerhansových ostrůvků pankreatu (autoimunitní inzulitida) nebo idiopatickým procesem, vedoucí k nedostatku inzulinu a rozvoji klinického obrazu diabetu. DM1 vzniká nejčastěji v dětském věku. Celosvětově je evidován narůstající počet dětských pacientů s tímto typem diabetu (35) (36). Dále se popisuje ještě tzv. LADA (latent autoimmune diabetes of adults) varianta DM1, která se manifestuje v kterémkoliv věku a obvykle progreduje pozvolna. DM1 představuje jeden z rizikových faktorů pro vznik předčasné aterosklerózy (37). I přes intenzivní inzulinoterapii se u velké skupiny dětí nedaří udržet hladinu glykémie v normálních hodnotách. V důsledku nedostatku inzulinu se snížením aktivity lipoproteinové lipázy je přítomna významně vyšší hladina triglyceridů, IDL a LDL. Zároveň je často přítomna nízká hladina HDL. Deficit inzulinu je také spojen se zvýšenou nabídkou volných mastných kyselin, neboť inzulín je významným inhibítorem lipolýzy v adipocytech, což následně vede ke stimulaci jater k vyšší tvorbě VLDL. Změny jsou i ve složení lipoproteinových částic s převahou cholesterolu a triglyceridů v jednotlivých frakcích. Na procesu aterogeneze se podílí také neenzymatická glykace proteinů s produkcí konečných produktů AGE (advanced glycation products), která probíhá na volných aminoskupinách a je závislá na poločasu proteinů v plazmě a na stupni hyperglykémie. Glykace LDL omezuje klasické odbourávání LDL cestou LDL receptorů. Následně dochází ke kumulaci LDL v plazmě, což vede k náhradnímu odbourávání cestou scavengerových receptorů s tvorbou pěnových buněk a

aterosklerotických lézí. Glykované LDL částice, především malé denzní LDL, jsou náchylnější k oxidaci a podílí se tak na zvýšení oxidativního stresu u diabetiků. Z těchto důvodů se endoteliální dysfunkce se u pacientů s DM1 často vyskytuje již v dětském věku.

#### **2.4.2. Crohnova choroba**

Idiopatické střevní záněty (ISZ) představují skupinu chronických, imunitně podmíněných onemocnění postihujících primárně gastrointestinální trakt. Mezi dvě hlavní formy ISZ řadíme Crohnovu chorobu (CD) a ulcerózní kolitidu (UC). CD je charakterizována přítomností segmentálního, granulomatózního, transmurálního zánětu střevní stěny, a to v jakékoli části trávicího traktu od dutiny ústní po rektum. Vzhledem k tomu, že zánět může prostupovat celou stěnou střeva, jsou pro onemocnění typické komplikace jako píštěle, abscesy či stenotické úseky (38). Současné znalosti o etiopatogenezi těchto onemocnění však zatím nejsou dostatečné. Současné pojetí CD chápe její vznik jako poruchu, kdy dochází k abnormální slizniční imunitní odpovědi na běžnou střevní mikroflóru u predisponovaných jedinců (39).

Ze studie Moriho et al. (40) víme, že pokles průtoku krve během experimentální kolitidy může mít za následek sníženou kapacitu arteriol tlustého střeva reagovat na endotel-dependentní vazodilatátory jako je bradykinin. Nikotinamidadeninukleotidfosfát oxidázou derivovaný superoxid hraje zásadní roli v indukci zánětem indukované, na endotelu dependentní dysfunkce arteriol. Výzkum ukazuje, že endoteliální výstelka hraje klíčovou roli ve vývoji nekontrolovaného chronického zánětu (13). V současné době je k dispozici jen málo studií, které by se zabývaly endoteliální dysfunkcí u dětských pacientů s Crohnovou chorobou.

#### **2.4.3. Cystická fibróza**

Cystická fibróza (CF) je závažné autozomálně recesivně dědičné multiorgánové onemocnění postihující zejména horní a dolní dýchací cesty, potní žlázy a pankreas. Jedná se o chronické zánětlivé onemocnění, jehož prognóza se výrazně zlepšila zavedením novorozeneckého screeningu v září 2009, s možností časného zahájení komplexní terapie již v raném kojeneckém věku a následně možnostmi nové terapie potenciátory a

modulátory CFTR proteinu. V současné době je CF onemocněním, které lze léčbou ovlivnit, ale nelze zcela vyléčit. Incidence je 1 na 2700 narozených dětí. Každý 27. člověk v české populaci je zdravým nosičem mutace genu pro CF. Pro CF je charakteristická tvorba abnormálně vazkého hlenu nejen v dýchacím a trávicím ústrojí. Základem terapie je péče o dobrý stav výživy, dobrou průchodnost dýchacích cest, potlačení a léčba infekce. Nové, finančně náročné, léčebné metody zatím mohou pouze doplnit klasický přístup terapie. Onemocnění bývá spojeno s vyšším rizikem kardiovaskulárního onemocnění, možná i v souvislosti s často nadprůměrně dobrým stavem výživy nemocných při hyperalimentaci ve snaze udržet a nezhoršit stávající plicní funkce, které jsou přímo úměrné nutričnímu stavu nemocného.

#### **2.4.4. Familiární hypercholesterolémie (FH)**

Familiární hypercholesterolémie je z klinického hlediska nejzávažnější formou vrozené poruchy metabolismu lipidů. Jedná se o autosomálně dominantně dědičné onemocnění, jehož příčinou je nejčastěji mutace v genu pro LDL-receptor, o něco méně často pak mutace v genu pro jeho ligandu – apolipoprotein B 100 (apo B). Vzácně může být příčinou i specifický typ mutace v genu pro proteinkonvertázu subtilisin-kexin typu 9 (PCSK9). V důsledku výše uvedených mutací je v hepatocytech zásadně zpomaleno odstraňování lipoproteinů o nízké hustotě (LDL) z krve a hladina LDL-cholesterolu (a tedy i celkového cholesterolu) se tak velmi výrazně zvyšuje. Velmi vysoká hladina LDL-cholesterolu výrazně akceleruje rozvoj aterosklerózy, a protože pacienti s FH jsou exponováni velmi vysoké hladině cholesterolu prakticky celý život, mohou se u nich kardiovaskulární onemocnění (především infarkt myokardu) manifestovat již ve velmi časném věku (41).



#### **2.4.5. Akutní lymfoblastická leukémie**

Akutní lymfoblastická leukémie představuje jednu čtvrtinu všech dětských maligních onemocnění (42). Sofistikované léčebné protokoly v současné době výrazně zlepšují prognózu u dětí s tímto onemocněním, kompletní remise je možno u dětí dosáhnout ve více než 85%. (43) Se stoupajícím počtem pacientů po ukončené úspěšné léčbě ALL však jde ruku v ruce i vzrůstající počet pozdních nežádoucích účinků léčby (chemoterapie, radioterapie) (44) (45) (46). Antracykliny indukovaná toxicita může vést k srdečnímu selhání a dilatační kardiomyopatii (47). S ohledem na tuto skutečnost mohou antracykliny vyvolávat také změny v endotelu cév, a být tak spojeny s endoteliální dysfunkcí a předčasnou manifestací aterosklerózy u dětí po ukončené úspěšné léčbě ALL (48) (49) (50) (51). Proto je nutné další sledování těchto rizikových dětí, na což poukazují i další studie (52) (53). Literárních údajů o sledování endoteliální dysfunkce jako možného projevu kardiovaskulárního postižení u těchto pacientů je však zatím k dispozici jen velmi málo. (54) (55)

### **3. Cíle dizertační práce**

Na základě dostupných poznatků týkajících se endoteliální dysfunkce ve zvolených rizikových skupinách dětí a zároveň možnosti využití nového přístroje EndoPAT® a laboratorního vyšetření biochemických markerů byly stanoveny následující cíle dizertační práce.

#### **Primární cíle:**

- Stanovení hodnot RHI v souboru zdravých jedinců
- Stanovení a porovnání RHI u vybraných rizikových skupin dětí s diabetem mellitem 1. typu (DM1), Crohnovou chorobou (CD), cystickou fibrózou (CF), familiární hypercholesterolémií (FH) a u dětí po ukončené úspěšné léčbě akutní lymfoblastické leukémie (ALL) s kontrolním souborem dětí odpovídajících věkově jednotlivým skupinám
- Stanovení a porovnání biochemických ukazatelů endoteliální dysfunkce ve všech studovaných souborech

#### **Sekundární cíle:**

- Korelace hodnot RHI s biochemickými markery endoteliální dysfunkce v jednotlivých souborech pacientů
- Ověření, zda by kombinace měření RHI a specifických biochemických parametrů mohla být vhodnou metodou pro detekci endoteliální dysfunkce u vybraných rizikových skupin dětí

## **4. Soubory pacientů**

Pro studii bylo vybráno celkem 106 pacientů, kteří byli podle diagnózy rozděleni do pěti věkově odpovídajících studijních souborů. Dalším souborem pak byla skupina osmnácti zdravých kontrol.

### **4.1. Diabetes mellitus 1. typu**

Soubor pacientů s DM1 zahrnoval 13 dětí z diabetologické poradny Dětské kliniky Fakultní nemocnice Plzeň. Průměrný věk dětí byl 15,08 let. Jedinci byli léčeni intenzifikovaným inzulínovým režimem po dobu  $6,3 \pm 2,3$  roku. Žádný z pacientů neměl prokázanu retinopatii, mikroalbuminurii ani jiné přidružené onemocnění.

### **4.2. Crohnova choroba**

Do studie bylo zařazeno celkem 18 pacientů s CD sledovaných v gastroenterologické poradně Dětské kliniky FN Plzeň. Diagnóza CD byla založena na standardních klinických, radiologických, endoskopických a histologických kritériích (56). Aktivita onemocnění byla hodnocena pomocí pediatrického indexu aktivity Crohnovy choroby (PCDAI), kde hodnota PCDAI vyšší nebo rovna 10 byla považována za aktivní onemocnění (57). V souladu s Pařížskou klasifikací mělo 12 pacientů zánětlivou formu CD, 4 pacienti stenózující formu a 2 pacienti fistulující formu CD. Dva pacienti z této skupiny dětí byli pro CD operováni. Trvání CD bylo definováno jako doba mezi stanovením diagnózy a zařazením pacienta do studie (58). Do studie byli zařazeni pouze pacienti s trváním choroby  $3.2 \pm 2.6$  let, kteří během studie pokračovali v zavedené protizánětlivé a imunosupresivní léčbě CD. 11 z našich 18 pacientů bylo léčeno imunomodulátory (azathioprinem) a mesalazinem, u 4 pacientů probíhala terapie steroidy a zbytek pacientů byl léčen pouze mesalazinem. Žádný z pacientů nikdy nebyl léčen biologickou léčbou (infliximab, adalimumab).

### **4.3. Cystická fibróza**

Tuto skupinu tvořilo 15 dětí s cystickou fibrózou na standardní komplexní symptomatické terapii, ve věku 12 až 19 let, bez ohledu na kolonizaci dýchacích cest. Z celkového počtu CF souboru byly 4 dívky s chronickou infekcí *Pseudomonas aeruginosa*, ostatní bez kolonizace dýchacích cest. Průměrný věk CF nemocných byl 15,96 let. Stav výživy byl dobrý. Všechny děti byly sledovány v respirační poradně Dětské kliniky Fakultní nemocnice v Plzni.

### **4.4. Familiární hypercholesterolémie**

Do této skupiny bylo zařazeno celkem 20 dětí z ambulance preventivní kardiologie Dětské kliniky FN Plzeň. Průměrný věk v této skupině byl 14,66 let. U všech pacientů probíhala dietní intervence. Pacienti byli již před měřením léčeni Ezetolem, tento lék byl však vysazen minimálně 3 měsíce před provedením měření.

### **4.5. Akutní lymfoblastická leukémie**

Další skupina zahrnovala celkem 22 pacientů po úspěšné ukončené léčbě akutní lymfoblastické leukémie, sledovaných v hematologické poradně Dětské kliniky Fakultní nemocnice Plzeň. Pacienti byli léčeni podle protokolů BFM ALL 95 nebo ALL IC-BFM 2002. Léčebné protokoly zahrnují kombinaci chemoterapie včetně antracyklinových cytostatik (daunorubicin, doxorubicin) a cyklofosfamidu. Kumulativní dávky antracyklinů byly 240–360 mg/m<sup>2</sup> a cyklofosfamidu 3000 mg/m<sup>2</sup>. Všichni zařazení pacienti byli minimálně 2 roky po absolvování komplexní cytostatické terapie. Do studie nebyl zařazen žádný pacient s relapsem onemocnění či sekundární ALL. U všech pacientů bylo v průběhu léčby i po jejím ukončení opakovaně provedeno kardiologické vyšetření, nálezy u všech dětí zařazených do studie byly v normě.

#### 4.6. Kontrolní skupina dětí

Kontrolní skupina obsahovala děti bez anamnézy zánětlivého, metabolického nebo neoplastického onemocnění. Probandi neužívali antibiotika, protizánětlivé ani další léky, včetně anticytokinové biologické terapie, které by mohly ovlivnit funkci endotelu (59). Mezi kritéria vylučující zařazení do výzkumné studie patřila kardiovaskulární onemocnění a jejich předčasná manifestace v rodinné anamnéze, dyslipidémie, autoimunitní onemocnění, onemocnění jater, recidivující bolesti břicha, gastrická infekce *Helicobacter pylori*, renální dysfunkce, onkologické onemocnění, kouření, obezita a dále nebyli zařazeni pacienti, u kterých nebyla možná komunikace a spolupráce během studie. Skupinu zdravých kontrol jsme vybrali tak, aby skupinám odpovídala věkem a hodnotou BMI (body mass index) (23). Osika et al. ve své studii, zahrnující 248 zdravých dětí, demonstroval, že nejsou žádné rozdíly v hodnotách RHI mezi pohlavími (60). V případě biochemických parametrů dle předchozích studií také nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly mezi pohlavími. U VCAM to byly například studie JW Ho et. al. a Bannanova studie. (61) (62) Podobně je tomu v případě hodnot ADMA ve studiích Teerlinga et al. a Deneva-Kochyeva (63) (64). Chiriboga et al. ve své studii demonstrovali, že nejsou rozdíly v hsCRP mezi pohlavími (65). Proto jsme náš kontrolní soubor dětí považovali za odpovídající k daným skupinám pacientů.

## **5. Použité metody**

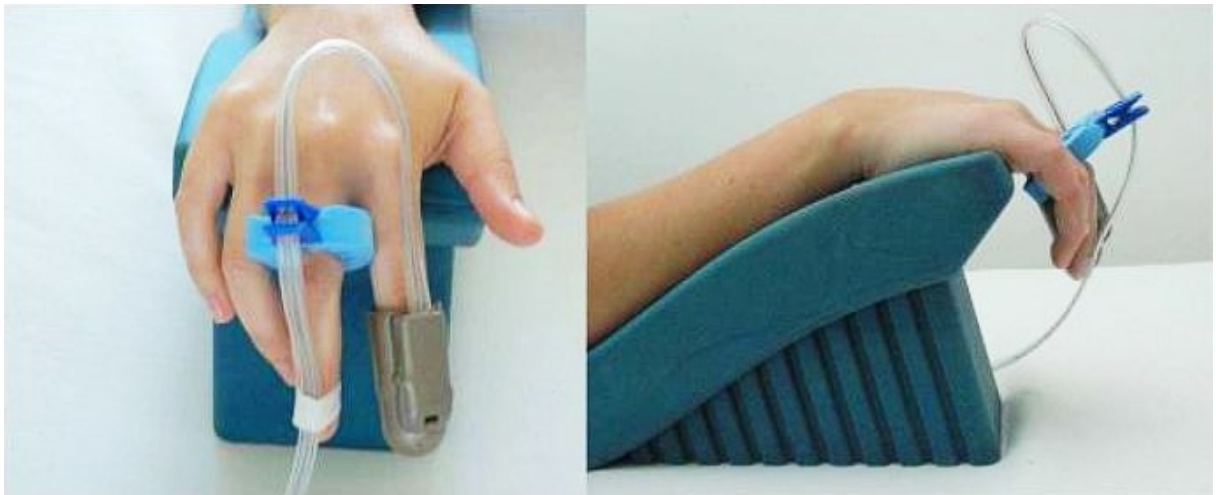
Pro hodnocení endoteliální funkce dětí zařazených do studie jsme použili kombinovaný diagnostický přístup – měření reaktivního hyperemického indexu (RHI) a laboratorní hodnocení vybraných biochemických parametrů.

### **5.1. Měření RHI**

Měření jsme prováděli pomocí přístroje EndoPAT® (ItamarCaesarea®, Israel). Metoda měření je založena na principu pletyzmografického hodnocení změny postokluzního arteriálního tonu v periferním řečišti (PAT) za použití biosenzorů umístěných na ukazováčcích obou rukou. Vyšetření probíhalo v tiché, termoneutrální místnosti. Iniciálně byly změřeny hodnoty body mass indexu (BMI) a krevního tlaku (TK). Dále během patnáctiminutové klidové fáze byly zaznamenány vstupní hodnoty PAT na obou rukou. Poté byla na nedominantní končetině provedena pětiminutová okluze pomocí manžety nafouknuté 60 mmHg nad hodnotu systolického tlaku, nejméně však 200 mmHg. Po jejím ukončení měření pokračovalo pětiminutovou postokluzní fází, manifestující se jako reaktivní hyperémie, s výpočtem reaktivního hyperemického indexu (RHI). Ten je vypočítán automaticky pomocí softwaru (EndoPAT®) z poměru hodnot post- a preokluzního arteriálního průtoku, které jsou vztaženy k hodnotám na simultánně měřené, neokludované kontralaterální končetině (18). Tak je minimalizováno riziko nežádoucích změn cévního tonu exogenního původu v průběhu měření.



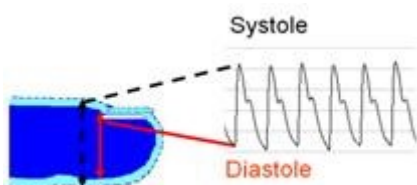
**Obr. 4.** Přístroj EndoPAT® (ItamarCaesarea®, Israel) (66)



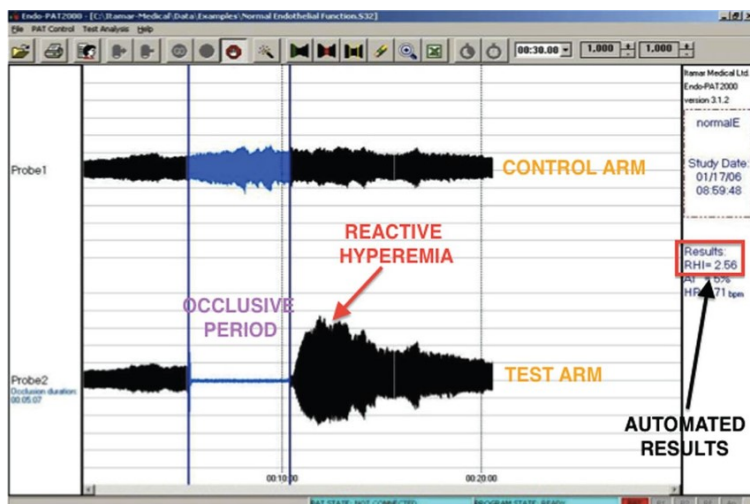
**Obr. 5.** Senzory jsou během vyšetření umístěné na ukazováčcích obou horních končetin. (67)



Obr. 6. Průběh měření (68)

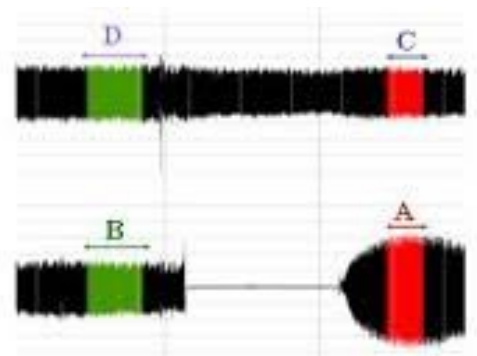


Obr. 7. PAT signál snímáný z PAT senzorů umístěných na ukazováčcích obou rukou (69)



Obr. 8. Měření. PAT signál v průběhu vyšetření. Na horní křivce záznam na kontrolní paži a na dolní křivce záznam na vyšetřované paži s patrnou okluzí a následnou reaktivní hyperémií. (70)





$$RHI = \frac{A}{B} / \frac{C}{D} \times \text{Baseline Correction Factor}$$

**Obr. 9.** RHI – poměr hodnot post- a preokluzního arteriálního průtoku vztažených k simultánně měřené kontralaterální končetině. (71)

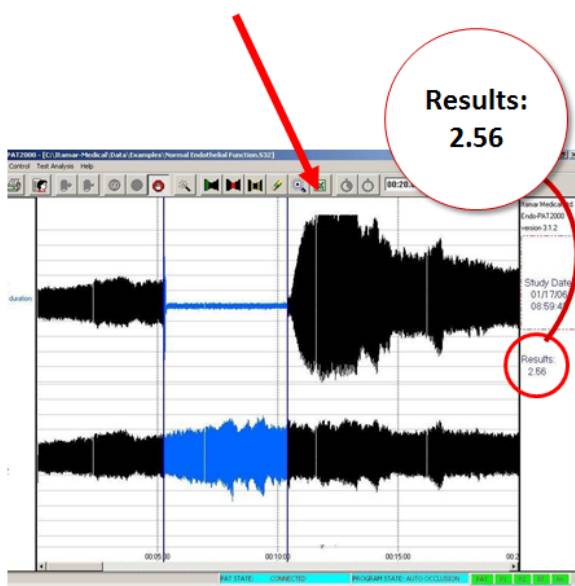
A – amplituda PAT postokluzního průtoku v čase mezi 90-150 s na okludované končetině,

B – amplituda PAT v preokluzní fázi na okludované končetině,

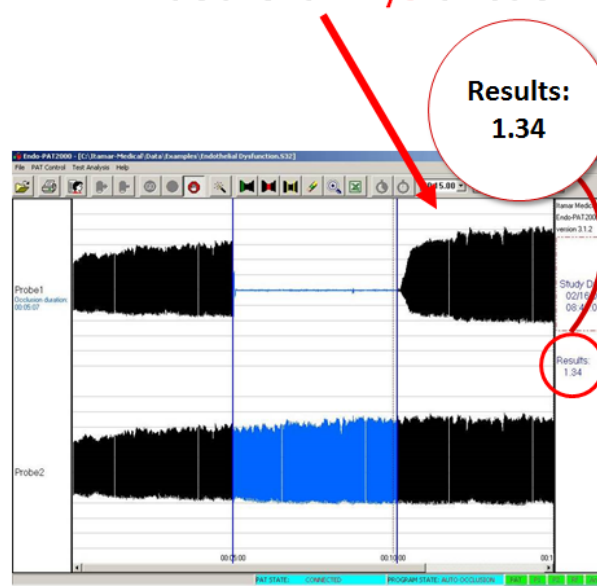
C - amplituda PAT postokluzního průtoku v čase mezi 90-150 s na kontrolní neokludované končetině,

D - amplituda PAT v preokluzní fázi na kontrolní neokludované končetině

### Normal Endothelial Function



### Endothelial Dysfunction



**Obr. 10.** Porovnání křivek jedince s normální endoteliální funkcí a pacienta s endoteliální dysfunkcí (72)

## 5.2. Laboratorní měření

Vzorky krve jsme získávali od všech účastníků studie po nočním lačnění za standardních klinických podmínek. Mezi biochemické parametry, které jsme hodnotili v souvislosti s ED, patřil asymetrický dimethylarginin (ADMA), E-selectin a vazoadhezivní molekuly VCAM-1, měřené metodou Elisa (OLD Diagnostica®, BioVendor®). Vysoce senzitivní C-reaktivní protein (hs-CRP) byl hodnocen pomocí imunoturbidimetrického stanovení (Orion Diagnostica®). Sérové hladiny celkového cholesterolu, triglyceridů, HDL a LDL byly stanoveny v klinické laboratoři pomocí autoanalyzátoru (enzymaticassay GTP Human® and CHOD-PAP Dialab®).

Všechny vzorky byly shromážděny kvalifikovaným personálem, analýza byla provedena certifikovaným biochemickým pracovištěm v rámci zaslepené studie bez znalosti klinického stavu jednotlivých probandů.

## 5.3. Statistické hodnocení

Statistická analýza byla provedena s užitím software SAS 9.4 (Cary, NC, USA) ®. Vybrané grafy byly zpracovány pomocí SW Statistica (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA)®.

Pro měřené parametry v celém souboru a v jednotlivých skupinách a podskupinách byly počítány základní statistické údaje jako průměr, směrodatná odchylka, rozptyl, medián, mezikvartilové rozpětí, minimum, maximum. U kategorických proměnných byly zkoumány jejich frekvence. Vybrané statistické údaje byly též zpracovány graficky do tzv. Box & Whisker plot diagramů a koláčových grafů.

Na porovnání distribucí jednotlivých parametrů v různých skupinách a podskupinách, vzhledem k distribucím těchto proměnných, byly použity neparametrické testy (Wilcoxon Two Sample Test nebo jeho zobecněná varianta, tzv. Kruskal – Wallis Test). Rozdíl věku mezi zkoumanými skupinami byl zkoumán pomocí parametrické analýzy rozptylu (T-test). Hypotézy o shodě (ekvivalenci) věku mezi zkoumanými skupinami byly testovány pomocí TOST metody. Rozdíl v % zastoupení kategorických proměnných byl testován pomocí Chi-kvadrát Testu a Fisherova Exaktního Testu.

Pro zjištění závislostí zkoumaných znaků, vzhledem k negausovskému rozdělení těchto proměnných, byl použit Spearmanův koeficient korelace.

Referenční meze (cut-off) mezi zkoumanými skupinami jsme stanovovali jednak pomocí specificit a senzitivit, tak následně také pomocí maximalizace rizika průkazu onemocnění ve vztahu k dané cut-off (Odds Ratio + 95% konfidenční interval). Tyto výsledky byly graficky zpracovány do tzv. ROC křivek. Pro určení modelů s více parametry (tj. kombinace více markerů) jsme použili tzv. “OR” statistiku.

Statistická významnost byla stanovena na hranici 5%.

#### **5.4. Etické aspekty**

Studie byla provedena v souladu se zásadami Helsinské deklarace. Protokol studie byl schválen lokální etickou komisí. Rodiče i děti jsme podrobně seznámili s obsahem studie a byla jim nabídnuta účast ve studii. Před zahájením studie byl poté u všech účastníků zákonnými zástupci dětí a dětmi nad 14 let podepsán informovaný souhlas. Výzkum nebyl sponzorován žádnou společností.

## 6. Výsledky

### 6.1. Demografická data

Do studie bylo zařazeno celkem 124 dětí (z toho 106 pacientů rozdělených do pěti skupin podle diagnózy a 18 zdravých dětí kontrolní skupiny). Základní demografické a klinické charakteristiky souborů pacientů jsou shrnuty v následujících tabulkách.

Data	DM1	Kontroly	p
<b>Jedinci</b>	13	18	
<b>Pohlaví</b> (chlapci/dívky)	6/7	5/13	
<b>Věk</b> (roky)	15,08 (2,19)	15,45 (2,33)	NS
<b>BMI</b> (kg/m <sup>2</sup> )	19,41 (2,67)	21,22 (3,77)	NS
<b>Arteriální krevní tlak</b> (mmHg)	105(8)/56 (5)	114(11)/63(8)	p < 0.05
<b>Celkový cholesterol</b> (mmol/l)	3,99 (0,52)	4,24 (0,85)	NS
<b>LDL cholesterol</b> (mmol/l)	2,09(0,42)	2,21 (0,55)	NS
<b>HDL cholesterol</b> (mmol/l)	1,55 (0,30)	1,62 (0,27)	NS
<b>TG</b> (mmol/l)	0,78 (0,29)	1,24 (0,58)	NS

**Tab. 1** Diabetes mellitus 1. typu

Čísla vyjadřují průměrné hodnoty se směrodatnými odchylkami.

BMI - body mass index, DM1 – diabetes mellitus 1. typu, HDL – high density lipoprotein cholesterol, LDL – low density lipoprotein cholesterol, NS -nesignifikantní výsledekTG - triglyceridy

Data	CD	Kontroly	p
<b>Jedinci</b>	18	18	
<b>Pohlaví</b> (chlapci/dívky)	13/5	5/13	
<b>Věk</b> (roky)	15,51 (1,75)	15,45 (2,33)	NS
<b>BMI</b> (kg/m <sup>2</sup> )	18,95 (2,52)	21,22 (3,77)	NS
<b>Délka trvání onemocnění</b> (roky)	3,2(2,6)	-	
<b>PCDAI</b>	6,0(4,8)	-	
<b>Arteriální krevní tlak</b> (mmHg)	114(9)/66 (8)	114(11)/63(8)	NS
<b>Celkový cholesterol</b> (mmol/l)	3,99 (0,68)	4,24 (0,85)	NS
<b>LDL cholesterol</b> (mmol/l)	2,09(0,56)	2,21 (0,55)	NS
<b>HDL cholesterol</b> (mmol/l)	1,47 (0,38)	1,62 (0,27)	NS
<b>TG</b> (mmol/l)	1,18 (0,94)	1,24 (0,58)	NS

**Tab. 2** Crohnova choroba

Čísla vyjadřují průměrné hodnoty se směrodatnými odchylkami.

BMI - body mass index, CD – Crohnova choroba, HDL – high density lipoprotein cholesterol, LDL – low density lipoprotein cholesterol, NS -nesignifikantní výsledek, PCDAI - pediatrický index aktivity Crohnovy choroby, TG – triglyceridy

Data	CF	Kontroly	p
<b>Jedinci</b>	15	18	
<b>Pohlaví</b> (chlapci/dívky)	4/11	5/13	
<b>Věk</b> (roky)	15,96 (2,04)	15,45 (2,33)	NS
<b>BMI</b> (kg/m <sup>2</sup> )	20,21 (3,28)	21,22 (3,77)	NS
<b>Arteriální krevní tlak</b> (mmHg)	109(12)/61 (10)	114(11)/63(8)	NS
<b>Celkový cholesterol</b> (mmol/l)	<b>3,48 (0,62)</b>	4,24 (0,85)	<b>p &lt; 0.05</b>
<b>LDL cholesterol</b> (mmol/l)	1,95 (0,58)	2,21 (0,55)	NS
<b>HDL cholesterol</b> (mmol/l)	<b>1,25 (0,39)</b>	1,62 (0,27)	<b>p &lt; 0.05</b>
<b>TG</b> (mmol/l)	1,10 (0,40)	1,24 (0,58)	NS

**Tab. 3** Cystická fibróza

Čísla vyjadřují průměrné hodnoty se směrodatnými odchylkami.

BMI - body mass index, CF – cystická fibróza, HDL – high density lipoprotein cholesterol, LDL – low density lipoprotein cholesterol, NS -nesignifikantní výsledek, TG - triglyceridy

Data	FH	Kontroly	p
<b>Jedinci</b>	20	18	
<b>Pohlaví</b> (chlapci/dívky)	9/11	5/13	
<b>Věk</b> (roky)	14,66 (1,84)	15,45 (2,33)	NS
<b>BMI</b> (kg/m <sup>2</sup> )	20,13 (3,41)	21,22 (3,77)	NS
<b>Arteriální krevní tlak</b> (mmHg)	109(8)/62 (5)	114(11)/63(8)	NS
<b>Celkový cholesterol</b> (mmol/l)	<b>6,23 (1,58)</b>	4,24 (0,85)	<b>p &lt; 0.05</b>
<b>LDL cholesterol</b> (mmol/l)	<b>4,28 (1,46)</b>	2,21 (0,55)	<b>p &lt; 0.05</b>
<b>HDL cholesterol</b> (mmol/l)	1,52 (0,31)	1,62 (0,27)	NS
<b>TG</b> (mmol/l)	1,13 (0,53)	1,24 (0,58)	NS

**Tab. 4** Familiární hypercholesterolémie

Čísla vyjadřují průměrné hodnoty se směrodatnými odchylkami.

BMI - body mass index, FH – familiární hypercholesterolémie, HDL – high density lipoprotein cholesterol, LDL – low density lipoprotein cholesterol, NS -nesignifikantní výsledek, TG – triglyceridy

Data	ALL	Kontroly	p
<b>Jedinci</b>	22	18	
<b>Pohlaví</b> (chlapci/dívky)	15/7	5/13	
<b>Věk</b> (roky)	15,59 (2,84)	15,45 (2,33)	NS
<b>BMI</b> (kg/m <sup>2</sup> )	22,73 (5,17)	21,22 (3,77)	NS
<b>Arteriální krevní tlak</b> (mmHg)	114(14)/65 (11)	114(11)/63(8)	NS
<b>Celkový cholesterol</b> (mmol/l)	4,13 (0,80)	4,24 (0,85)	NS
<b>LDL cholesterol</b> (mmol/l)	2,32(0,69)	2,21 (0,55)	NS
<b>HDL cholesterol</b> (mmol/l)	1,32 (0,30)	1,62 (0,27)	NS
<b>TG</b> (mmol/l)	1,04 (0,69)	1,24 (0,58)	NS

**Tab. 5** Akutní lymfoblastická leukémie

Čísla vyjadřují průměrné hodnoty se směrodatnými odchylkami.

ALL – akutní lymfoblastická leukémie, BMI - body mass index, HDL – high density lipoprotein cholesterol, LDL – low density lipoprotein cholesterol, NS -nesignifikantní výsledek, TG – triglyceridy

## 6.2. Hodnocení funkce endotelu – výsledky k primárním cílům dizertační práce

### Primární cíle:

- Stanovení hodnot RHI u souboru zdravých jedinců
- Stanovení a porovnání RHI u vybraných rizikových skupin dětí s diabetem mellitem 1. typu (DM1), Crohnovou chorobou (CD), cystickou fibrózou (CF), familiární hypercholesterolémií (FH) a u dětí po ukončené úspěšné léčbě akutní lymfoblastické leukémie (ALL) s kontrolním souborem dětí odpovídajících věkově jednotlivým skupinám
- Stanovení a porovnání biochemických ukazatelů endoteliální dysfunkce ve všech studovaných souborech

V následujících tabulkách budou uvedeny výsledky naměřených hodnot RHI a biochemických parametrů v jednotlivých skupinách.

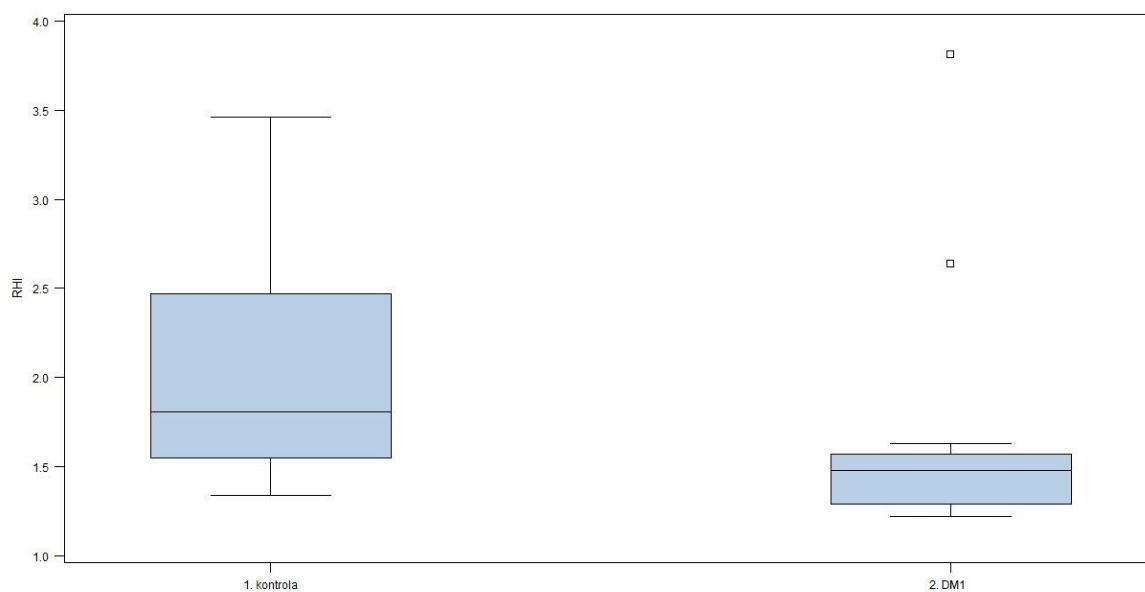
### Diabetes mellitus

Data	DM1	Kontroly	p	
RHI	1,48 (1,29; 1,57)	1,81 (1,55; 2,47)	<b>0,026</b>	<b>p &lt; 0,05</b>
ADMA (umol/l)	0,71 (0,63; 0,74)	0,58 (0,49; 0,61)	<b>0,009</b>	<b>p &lt; 0,01</b>
hsCRP (mg/l)	0,60 (0,37; 4,18)	0,19 (0,18; 0,45)	<b>0,009</b>	<b>p &lt; 0,01</b>
sVCAM(ug/l)	1057,05 (959,00; 1356,55)	918,40 (793,08; 1017,90)	<b>0,048</b>	<b>p &lt; 0,05</b>
E-selectin (ug/l)	70,70 (49,99; 103,97)	62,50 (31,66; 70,99)	0,236	NS

**Tab. 6** Čísla vyjadřují medián hodnot a interkvartilové rozpětí (1. kvartil; 3. kvartil).

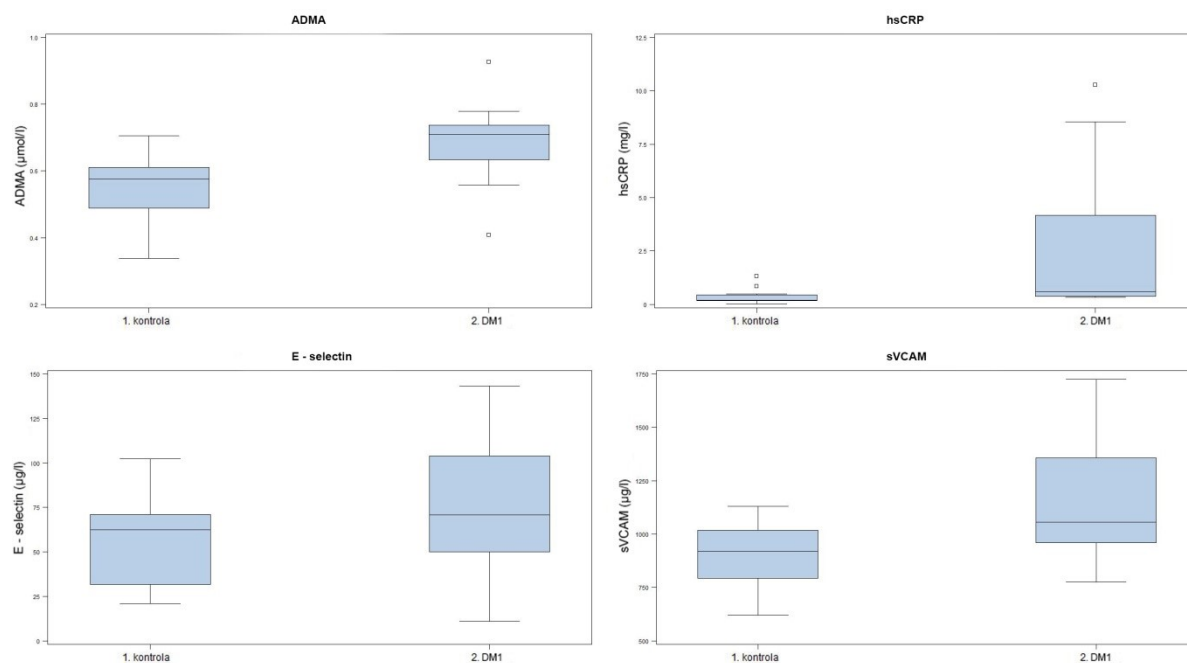
ADMA - asymetrický dimethylarginin, DM1 – diabetes mellitus 1. typu, hsCRP - vysoce senzitivní C reaktivní protein, NS – nesignifikantní výsledek, RHI - reaktivní hyperemický index, sVCAM - vazoadhezivní molekuly

## Reaktivní hyperemický index (RHI)



**Graf 1** Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí.

Horizontální linie označuje medián hodnot, úsečky maximální a minimální získanou hodnotu.  
DM1 – diabetes mellitus 1.typu, RHI - reaktivní hyperemický index



**Graf 2** Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí.

Horizontální linie označuje medián hodnot, úsečky maximální a minimální získanou hodnotu.  
ADMA - asymetrický dimethylarginin, DM1 – diabetes mellitus 1. typu, hsCRP - vysoce senzitivní C reaktivní protein, RHI - reaktivní hyperemický index, sVCAM - vazoadhezivní molekuly



Hodnota RHI v souboru pacientů s DM1 byla signifikantně nižší v porovnání s kontrolním souborem. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 6 a grafu 1.

ADMA, sVCAM i hsCRP byly ve skupině pacientů s DM1 signifikantně zvýšené. V plazmatických hladinách E-selectinu jsme pozorovali vyšší hodnoty u pacientů s DM1 oproti kontrolnímu souboru, tyto hodnoty však nedosáhly statistické významnosti. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 6 a grafu 2.

#### **Určení statisticky nejsilnějších cut-off:**

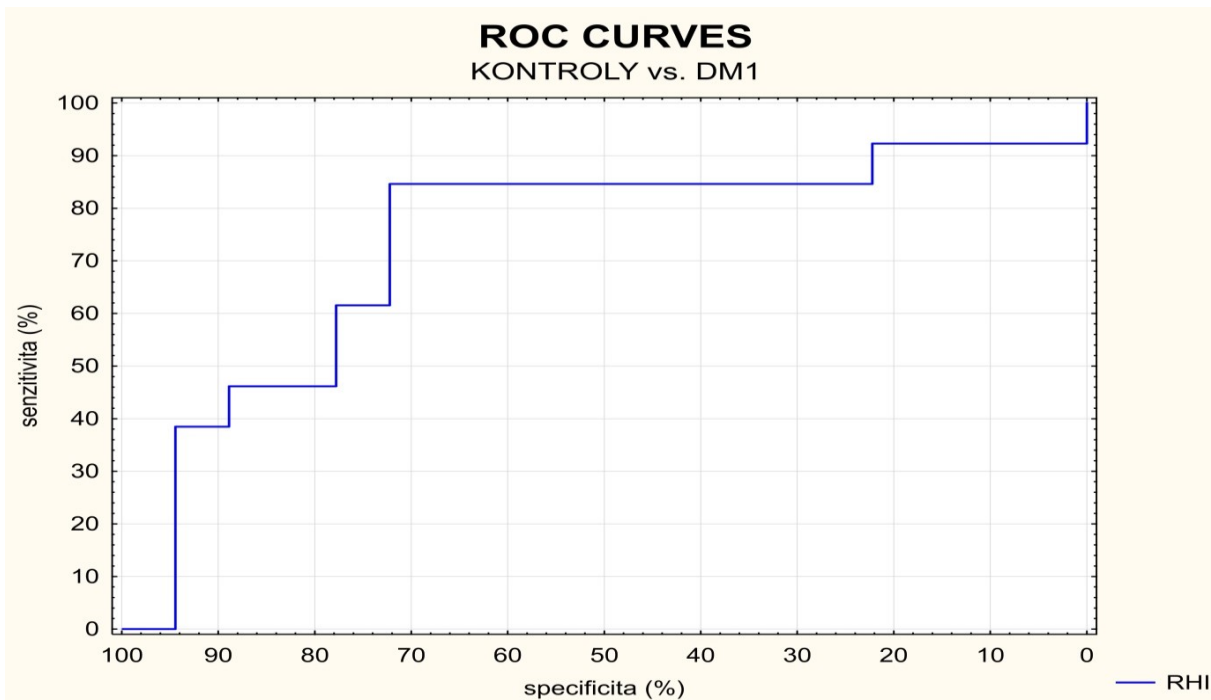
RHI – rizikové hodnoty - nižší nebo rovno 1,63 (specificita 72,22%, senzitivita 84,62%)

ADMA – rizikové hodnoty - vyšší nebo rovno 0,62 umol/l (specificita 76,92%, senzitivita 81,82%)

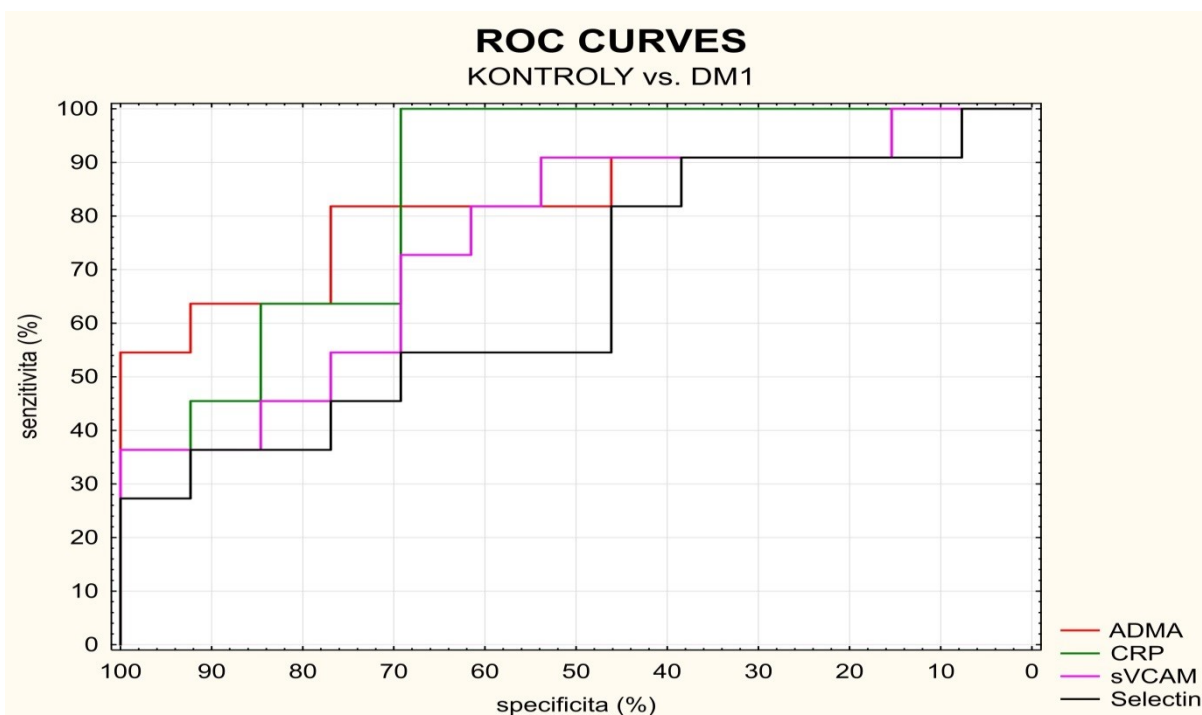
CRP – rizikové hodnoty – vyšší nebo rovno 0,40 mg/l (specificita 69,23%, senzitivita 72,73%)

sVCAM – rizikové hodnoty – vyšší nebo rovno 944 ug/l (specificita 61,54%, senzitivita 81,82%)

E-selectin – nenalezeno, rizikové jsou vysoké hodnoty



**Graf 3** Graf (ROC křivka) popisuje vztah senzitivity a specifacity při různých hodnotách cut-off RHI ve skupině dětí s DM1. DM1 – diabetes mellitus 1. typu, RHI - reaktivní hyperemický index

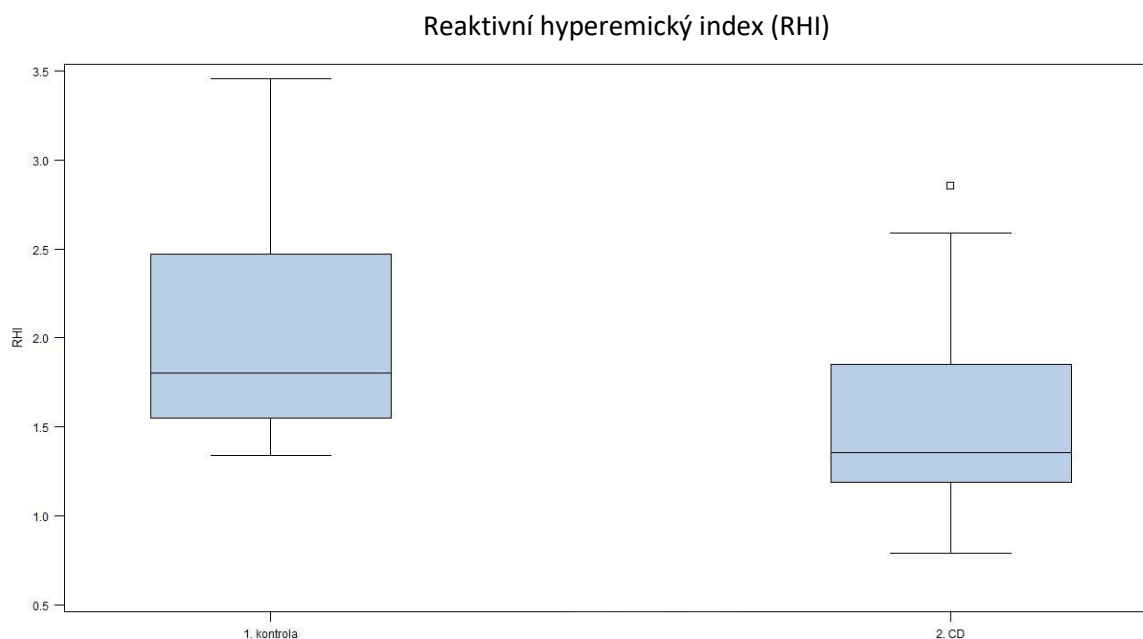


**Graf 4** Graf (ROC křivky) popisuje vztah senzitivity a specifacity při různých hodnotách cut-off biochemických parametrů ve skupině dětí s DM1. ADMA - asymetrický dimethylarginin, DM1 – diabetes mellitus 1. typu, hsCRP - vysoce senzitivní C reaktivní protein, sVCAM - vazoadhezivní molekuly

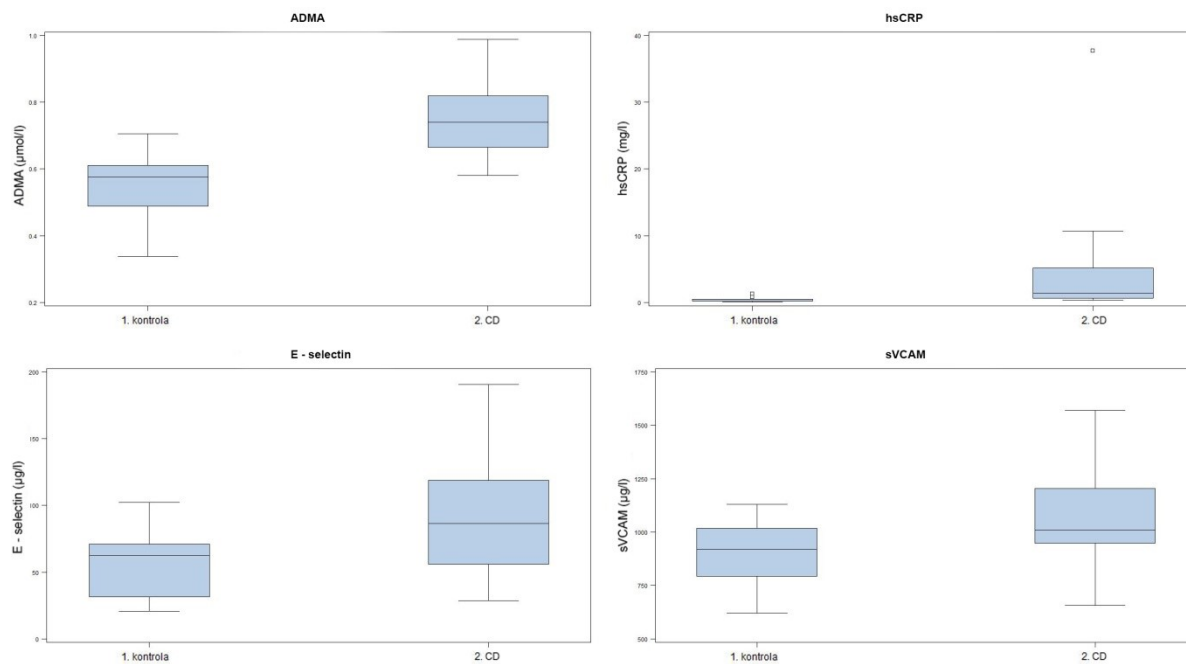
## Crohnova choroba

Data	CD	Kontroly	p	
RHI	1,36 (1,19; 1,85)	1,81 (1,55; 2,47)	<b>0,011</b>	<b>p &lt; 0,05</b>
ADMA (umol/l)	0,74 (0,67; 0,82)	0,58 (0,49; 0,61)	<b>0,001</b>	<b>p &lt; 0,01</b>
hsCRP (mg/l)	1,34 (0,62; 5,13)	0,19 (0,18; 0,45)	<b>0,001</b>	<b>p &lt; 0,01</b>
sVCAM(ug/l)	1009,35 (948,45; 1205,00)	918,40 (793,08; 1017,90)	0,082	NS
E-selectin (ug/l)	86,41 (55,80; 118,99)	62,50 (31,66; 70,99)	<b>0,035</b>	<b>p &lt; 0,05</b>

**Tab. 7** Čísla vyjadřují medián hodnot a interkvartilové rozpětí (1. kvartil; 3. kvartil). ADMA - asymetrický dimethylarginin, CD – Crohnova choroba, hsCRP - vysoce senzitivní C reaktivní protein, NS – nesignifikantní výsledek, RHI - reaktivní hyperemický index, sVCAM - vazoadhezní molekuly



**Graf 5** Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí. Horizontální linie označuje medián hodnot, úsečky maximální a minimální získanou hodnotu. CD – Crohnova choroba, RHI - reaktivní hyperemický index



**Graf 6** Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí.

Horizontální linie označuje medián hodnot, úsečky maximální a minimální získanou hodnotu.

ADMA - asymetrický dimethylarginin, CD – Crohnova choroba, hsCRP - vysoce senzitivní C reaktivní protein, RHI - reaktivní hyperemický index, sVCAM - vazoadhezivní molekuly

Hodnota RHI v souboru pacientů s CD byla signifikantně nižší v porovnání s kontrolním souborem. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 7 a grafu 5.

ADMA u dětí s CD byl signifikantně vyšší v porovnání se zdravými kontrolami. Stejně tak hodnota E-selectinu u dětí s CD i plazmatická hladina hsCRP byla signifikantně vyšší v porovnání se zdravými kontrolami. V plazmatických hladinách sVCAM nebyl signifikantní rozdíl mezi pacienty s CD a zdravými kontrolami. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 7 a grafu 6.

#### Určení statisticky nejsilnějších cut-off:

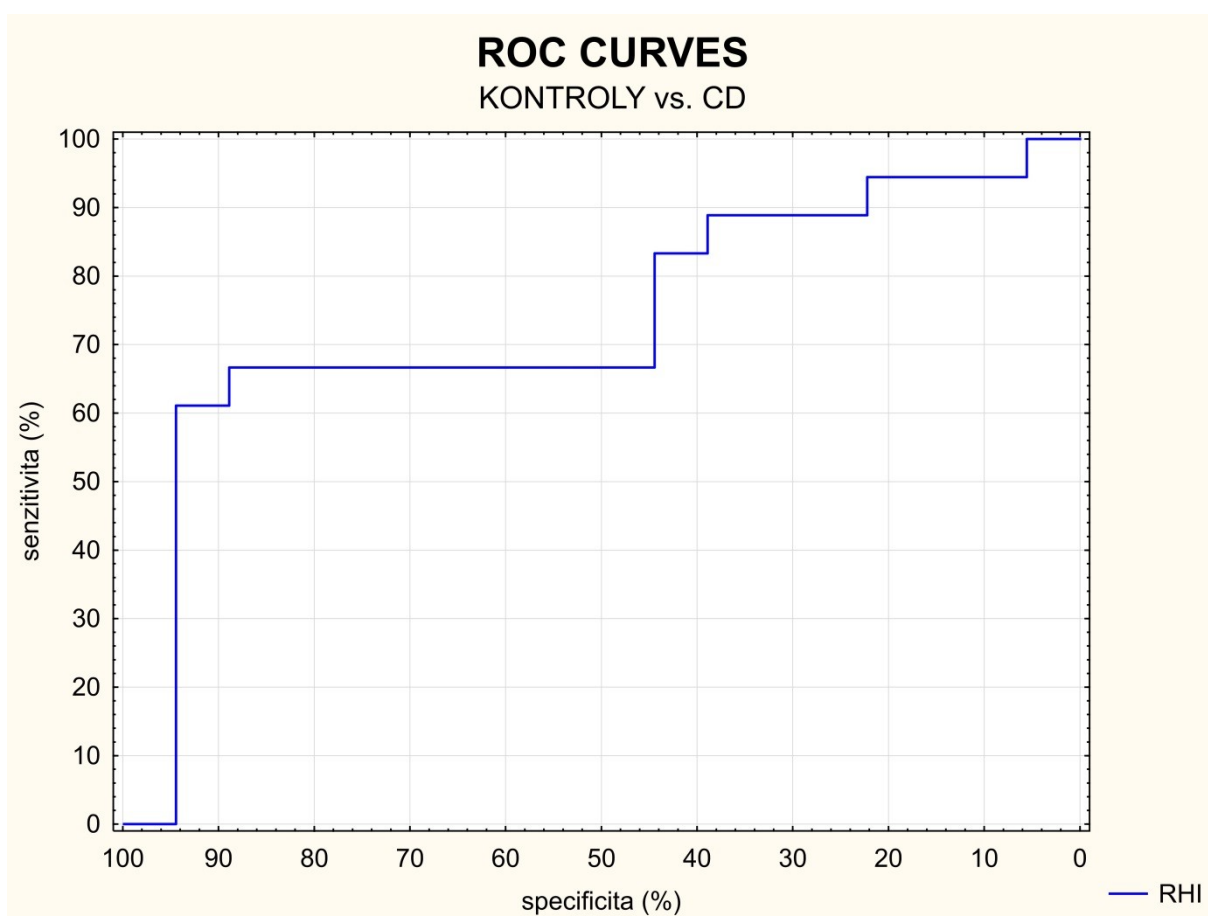
RHI – rizikové hodnoty – nižší nebo rovno 1,38 (specifická 94,44%, senzitivita 61,11%)

ADMA – rizikové hodnoty – vyšší nebo rovno 0,62 umol/l (specifická 76,92%, senzitivita 88,24%)

CRP – rizikové hodnoty – vyšší nebo rovno 0,59 mg/l (specifická 84,62%, senzitivita 76,47%)

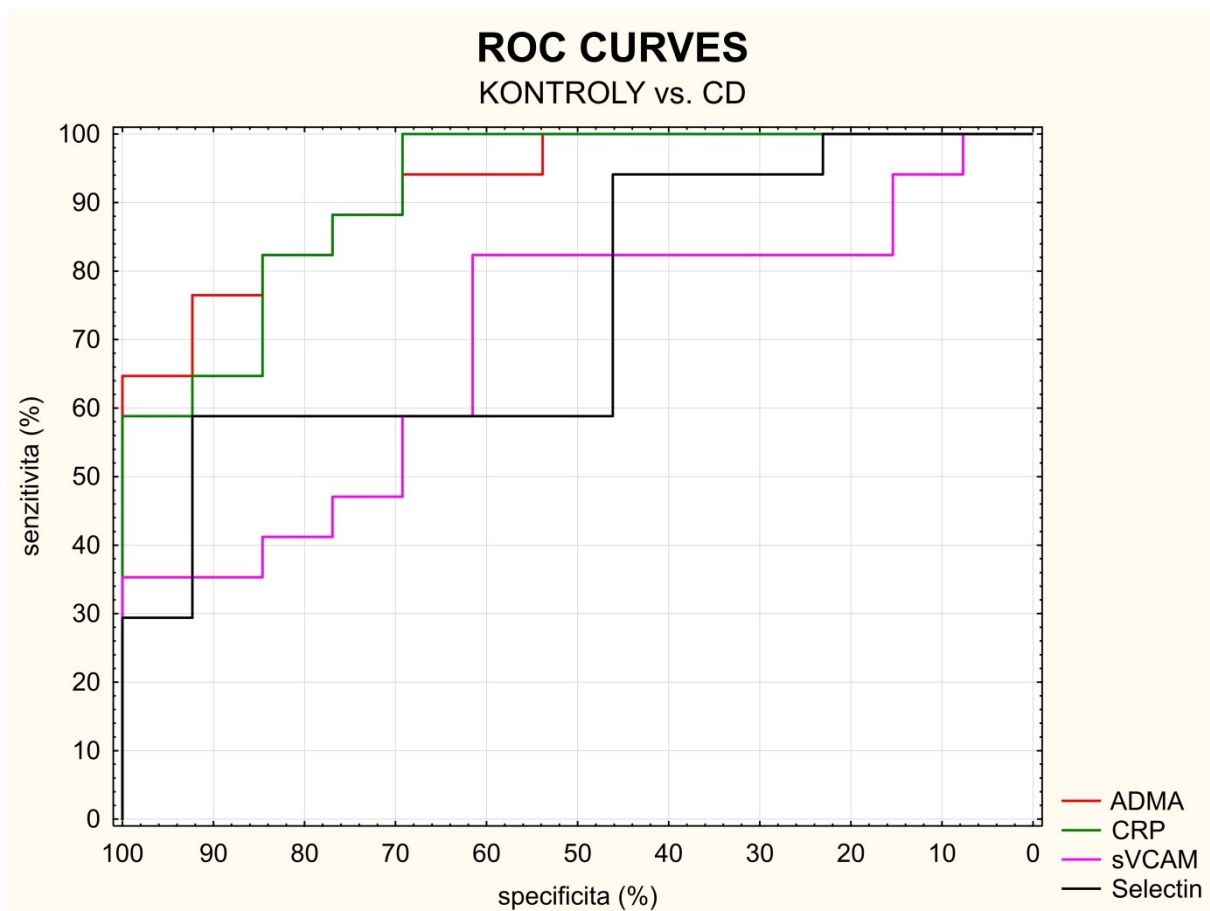
sVCAM – rizikové hodnoty – vyšší nebo rovno 948ug/l (specifická 61,54%, senzitivita 82,35%)

E-selectin – rizikové hodnoty – vyšší nebo rovno 77 ug/l (specifická 84,62%, senzitivita 58,82%)



**Graf 7** Graf (ROC křivka) popisuje vztah senzitivity a specifickosti při různých hodnotách cut-off RHI ve skupině dětí s CD.

CD – Crohnova choroba, RHI - reaktivní hyperemický index

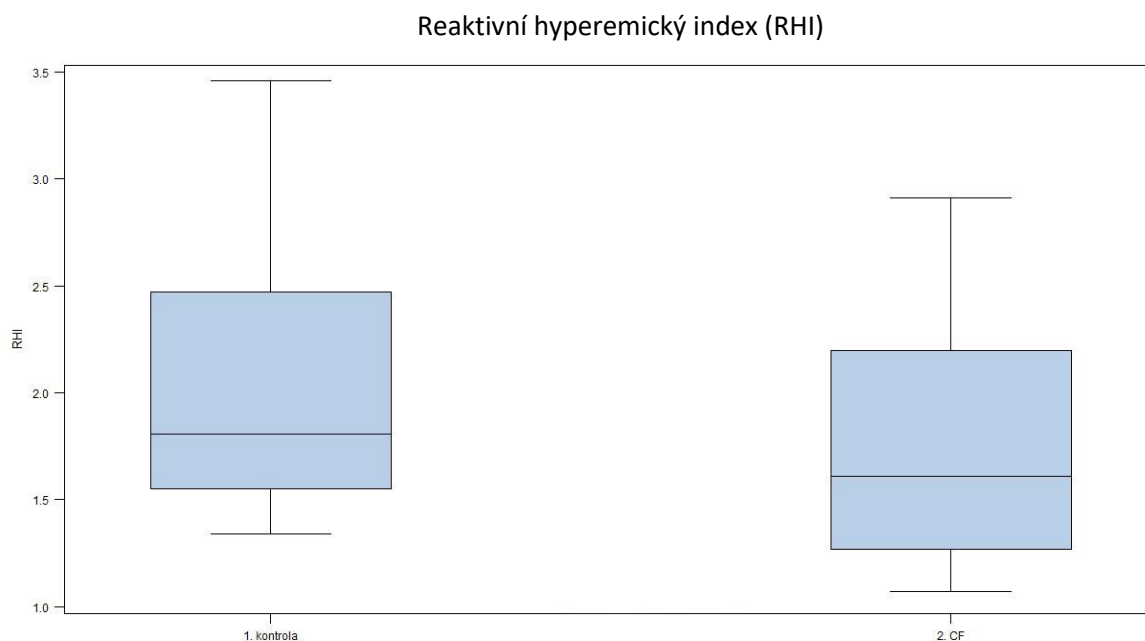


**Graf 8** Graf (ROC křivky) popisuje vztah senzitivity a specifacity při různých hodnotách cut-off biochemických parametrů ve skupině dětí s CD.  
ADMA - asymetrický dimethylarginin, CD – Crohnova choroba, hsCRP - vysoce senzitivní C reaktivní protein, sVCAM - vazoadhezivní molekuly

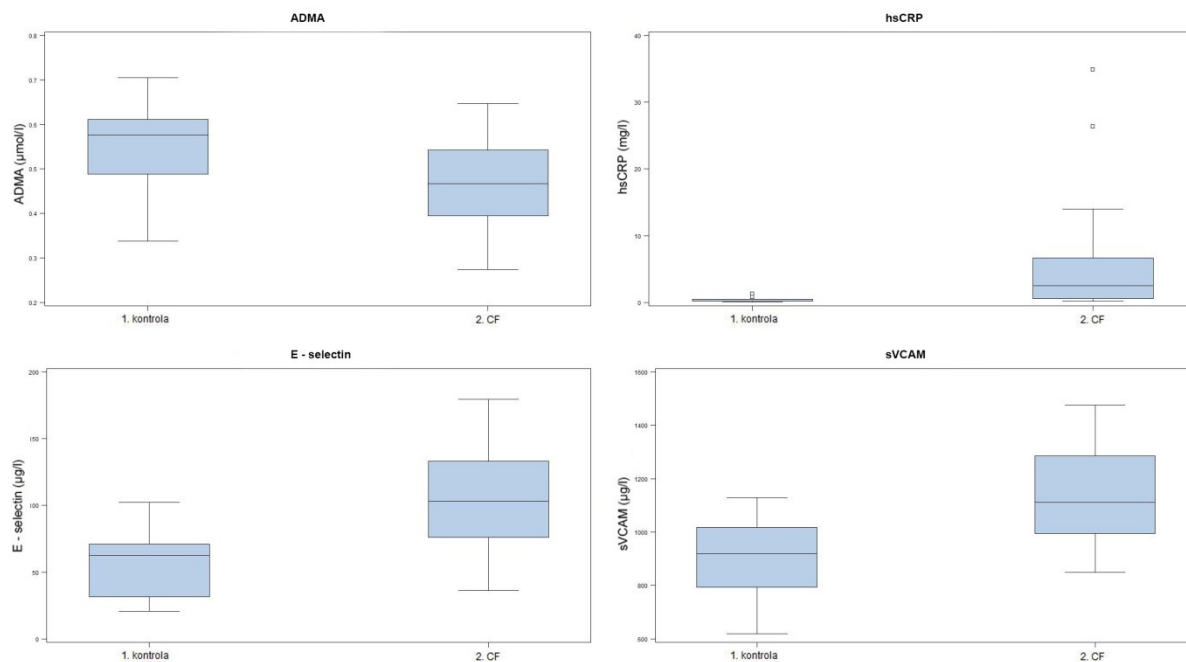
## Cystická fibroza

Data	CF	Kontroly	p	
RHI	1,61 (1,27; 2,20)	1,81 (1,55; 2,47)	<b>0,04</b>	<b>p &lt; 0,05</b>
ADMA (umol/l)	0,47 (0,40; 0,54)	0,58 (0,49; 0,61)	0,09	NS
hsCRP (mg/l)	2,47 (0,58; 6,63)	0,19 (0,18; 0,45)	<b>0,002</b>	<b>p &lt; 0,01</b>
sVCAM(ug/l)	1112,10 (994,78; 1286,02)	918,40 (793,08; 1017,90)	<b>0,008</b>	<b>p &lt; 0,01</b>
E-selectin (ug/l)	102,93 (75,90; 133,21)	62,50 (31,66; 70,99)	<b>0,003</b>	<b>p &lt; 0,01</b>

**Tab. 8** Čísla vyjadřují medián hodnot a interkvartilové rozpětí (1. kvartil; 3. kvartil). ADMA - asymetrický dimethylarginin, CF – cystická fibroza, hsCRP - vysoce senzitivní C reaktivní protein, NS – nesignifikantní výsledek, RHI - reaktivní hyperemický index, sVCAM - vazoadhezní molekuly



**Graf 9** Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí. Horizontální linie označuje medián hodnot, úsečky maximální a minimální získanou hodnotu. CF – cystická fibroza, RHI - reaktivní hyperemický index



**Graf 10** Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí.

Horizontální linie označuje medián hodnot, úsečky maximální a minimální získanou hodnotu.

ADMA - asymetrický dimethylarginin, CF – cystická fibroza, hsCRP - vysoce senzitivní C reaktivní protein, RHI - reaktivní hyperemický index, sVCAM - vazoadhezivní molekuly

Hodnota RHI v souboru pacientů s CF byla signifikantně nižší v porovnání s kontrolním souborem. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 8 a grafu 9.

ADMA u dětí s CF byla překvapivě oproti našemu očekávání nižší ve srovnání se zdravými kontrolami, hodnoty nedosáhly statistické významnosti.

V našem souboru byla prokázána signifikantně vyšší hodnota E-selectinu, plazmatická hladina hsCRP a sVCAM u pacientů s CF ve srovnání se zdravými kontrolami. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 8 a grafu 10.

#### Určení statisticky nejsilnějších cut-off:

RHI – rizikové hodnoty – nižší nebo rovno 1,39 (specifická 94,44%, senzitivita 40%)

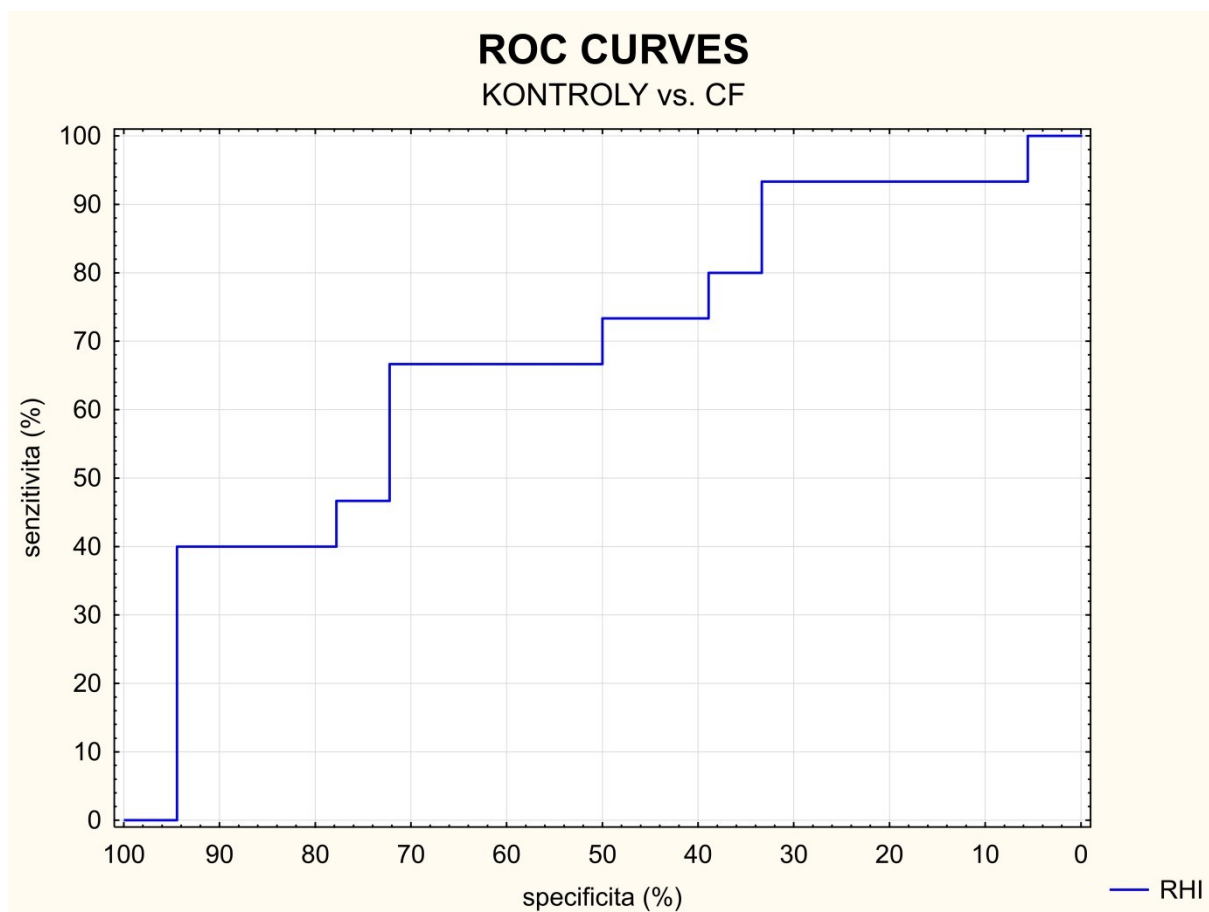
ADMA – rizikové hodnoty jsou nižší, cut-off nenalezeno

CRP – rizikové hodnoty – vyšší nebo rovno 0,58 mg/l (specifická 84,62%, senzitivita 86,67%)

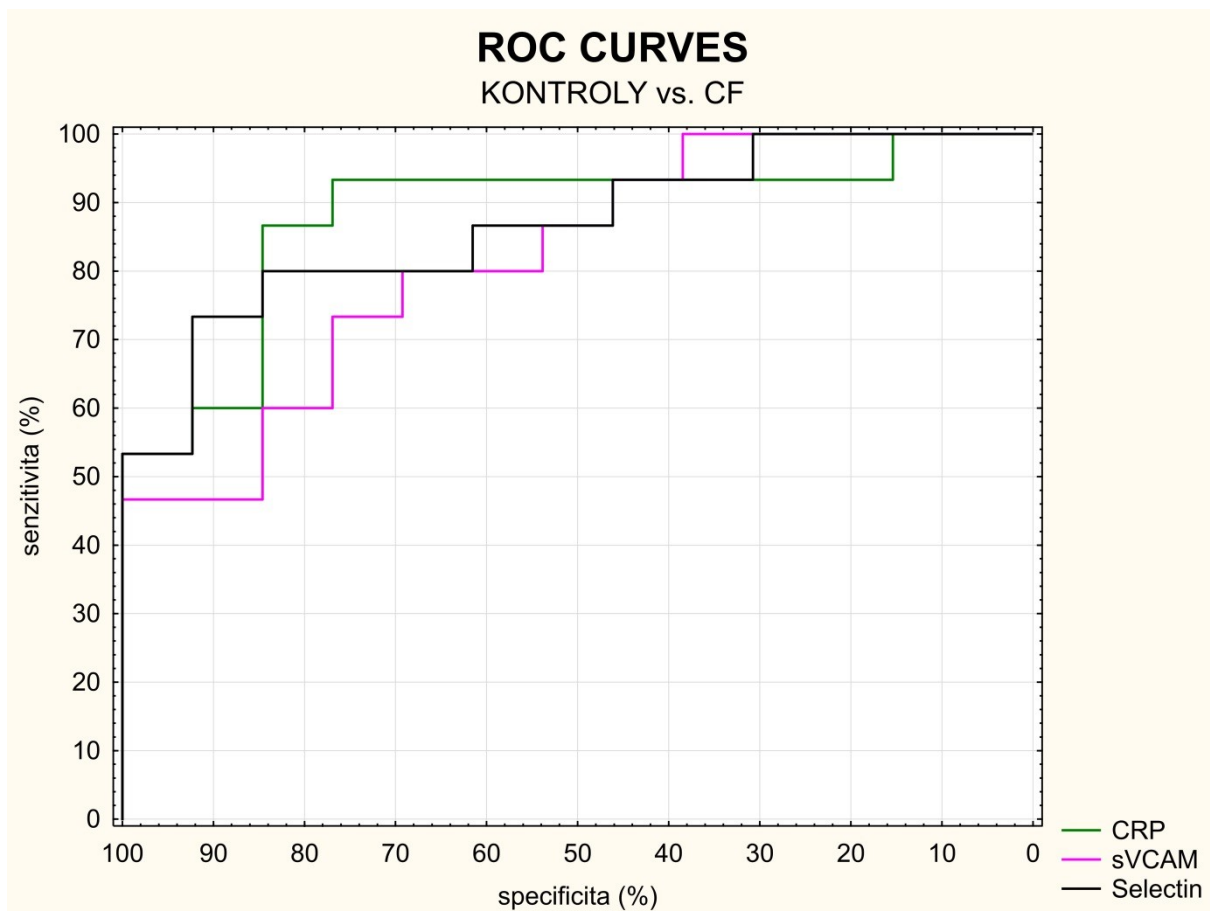


sVCAM – rizikové hodnoty – vyšší nebo rovno 1019ug/l (specifická 76,92%, senzitivita 73,33%)

E-selectin – rizikové hodnoty – vyšší nebo rovno 75ug/l (specifická 84,62%, senzitivita 80%)



**Graf 11** Graf (ROC křivka) popisuje vztah senzitivity a specifickosti při různých hodnotách cut-off RHI ve skupině dětí s CF.  
CF – cystická fibróza, RHI - reaktivní hyperemický index

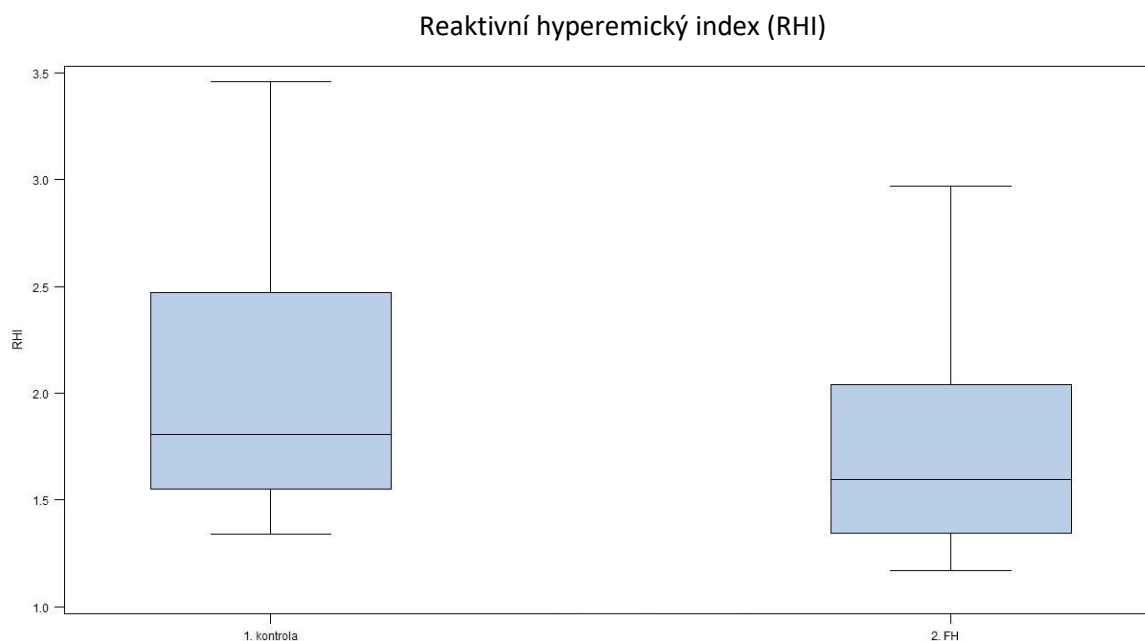


**Graf 12** Graf (ROC křivky) popisuje vztah senzitivity a specifacity při různých hodnotách cut-off biochemických parametrů ve skupině dětí s CF.  
CF – cystická fibroza, hsCRP - vysoce senzitivní C reaktivní protein, sVCAM - vazoadhezivní molekuly

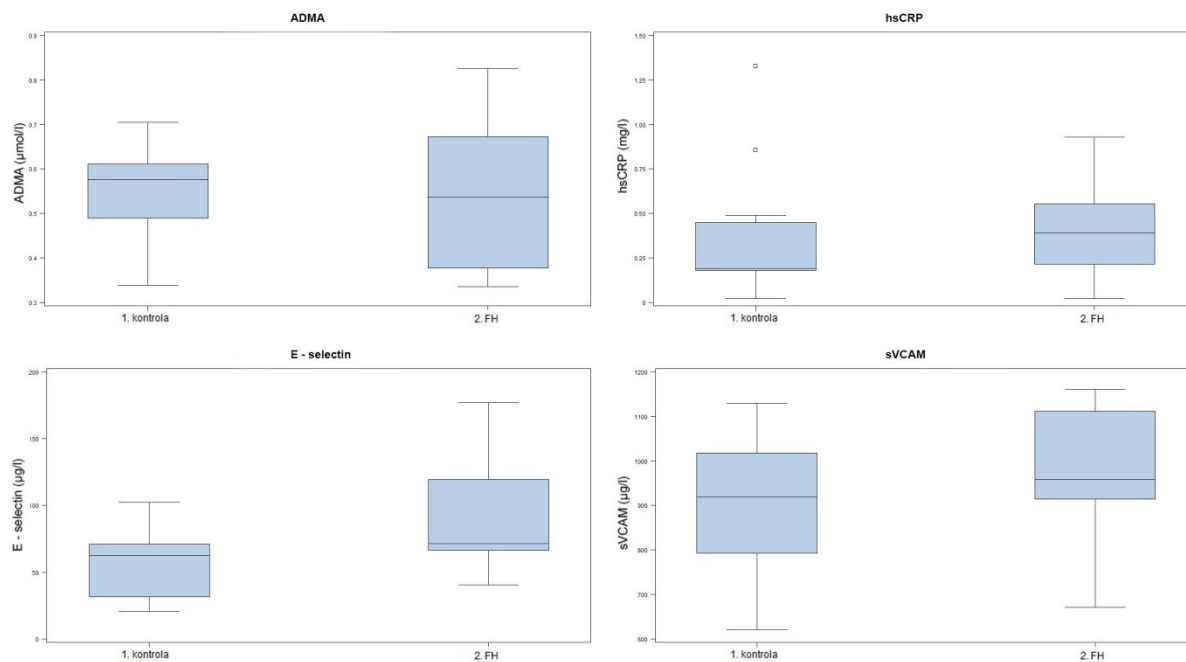
## Familiární hypercholesterolémie

Data	FH	Kontroly	p	
<b>RHI</b>	1,60 (1,35; 2,04)	1,81 (1,55; 2,47)	0,08	NS
<b>ADMA (umol/l)</b>	0,54 (0,38; 0,67)	0,58 (0,49; 0,61)	0,99	NS
<b>hsCRP (mg/l)</b>	0,39 (0,22; 0,56)	0,19 (0,18; 0,45)	0,26	NS
<b>sVCAM(ug/l)</b>	958,55 (914,99; 1111,81)	918,40 (793,08; 1017,90)	0,16	NS
<b>E-selectin (ug/l)</b>	71,40 (66,31; 119,73)	62,50 (31,66; 70,99)	<b>0,02</b>	<b>(p &lt; 0,05)</b>

**Tab. 9** Čísla vyjadřují medián hodnot a interkvartilové rozpětí (1. kvartil; 3. kvartil). ADMA - asymetrický dimethylarginin, hsCRP - vysoce senzitivní C reaktivní protein, FH – familiární hypercholesterolémie, NS – nesignifikantní výsledek, RHI - reaktivní hyperemický index, sVCAM - vazoadhezivní molekuly



**Graf 13** Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí. Horizontální linie označuje medián hodnot, úsečky maximální a minimální získanou hodnotu. FH – familiární hypercholesterolémie, RHI - reaktivní hyperemický index



**Graf 14** Krabicový graf vyjadruje interkvartilové rozmezí.

Horizontální linie označuje medián hodnot, úsečky maximální a minimální získanou hodnotu.

ADMA - asymetrický dimethylarginin, FH – familiární hypercholesterolemie, hsCRP - vysoce senzitivní C reaktivní protein, RHI - reaktivní hyperemický index, sVCAM - vazoadhezivní molekuly

Hodnota RHI v souboru pacientů s FH byla nižší v porovnání s kontrolním souborem, hraničně však nedosáhla statistické významnosti. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 9 a grafu 13.

U dětí s FH nebyl signifikantní rozdíl v hodnotě ADMA ve srovnání se souborem zdravých dětí. Hodnota E-selectinua plazmatická hladina hsCRP u dětí s FH byla zvýšená, také však nedosáhla statistické významnosti. V plazmatických hladinách sVCAM jsme zjistili signifikantní rozdíl mezi pacienty s FH a zdravými kontrolami. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 9 a grafu 14.

#### Určení statisticky nejsilnějších cut-off:

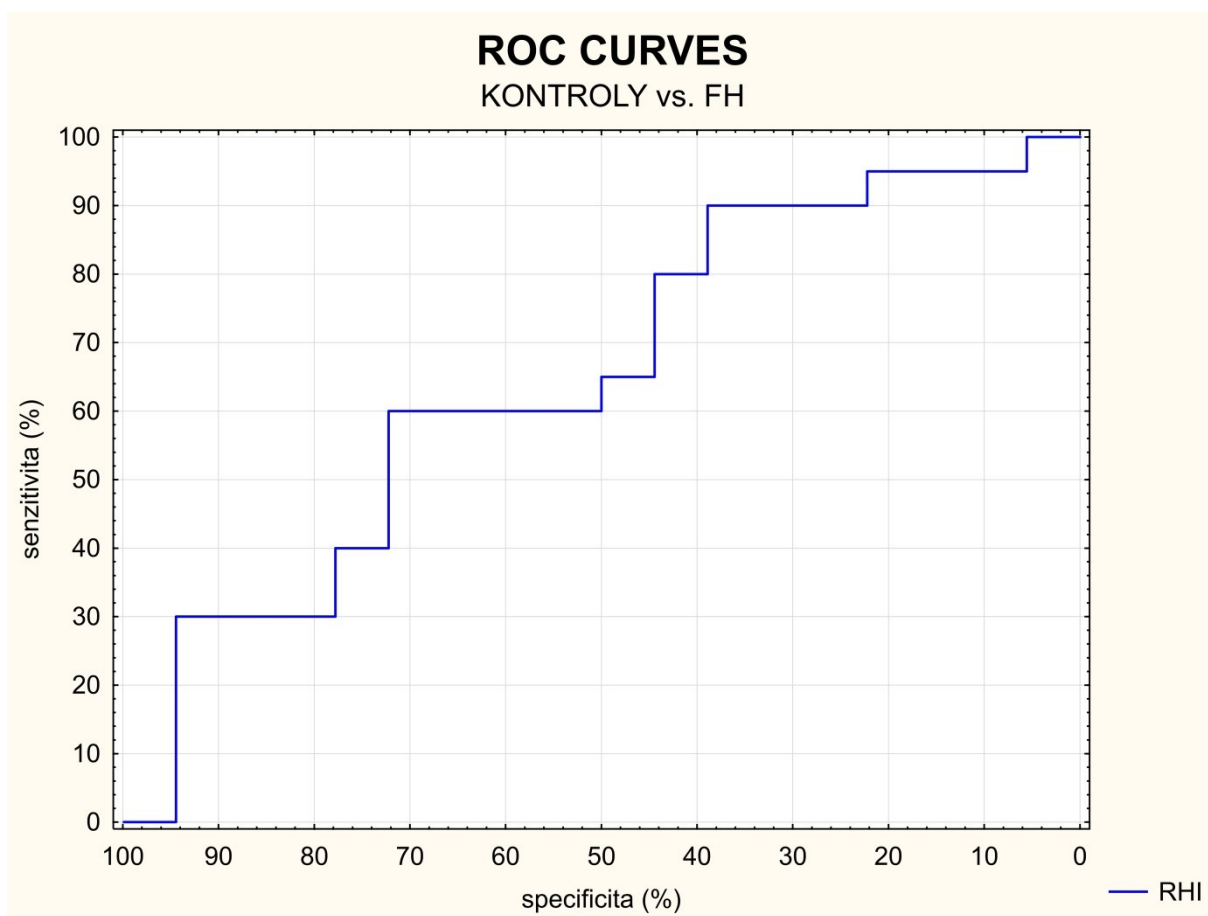
RHI – nenalezeno, rizikové jsou nízké hodnoty

ADMA – nenalezeno, rizikové jsou vysoké hodnoty

CRP – rizikové hodnoty - vyšší nebo rovno 0,31mg/l (specifická 69,3 %, senzitivita 70%)

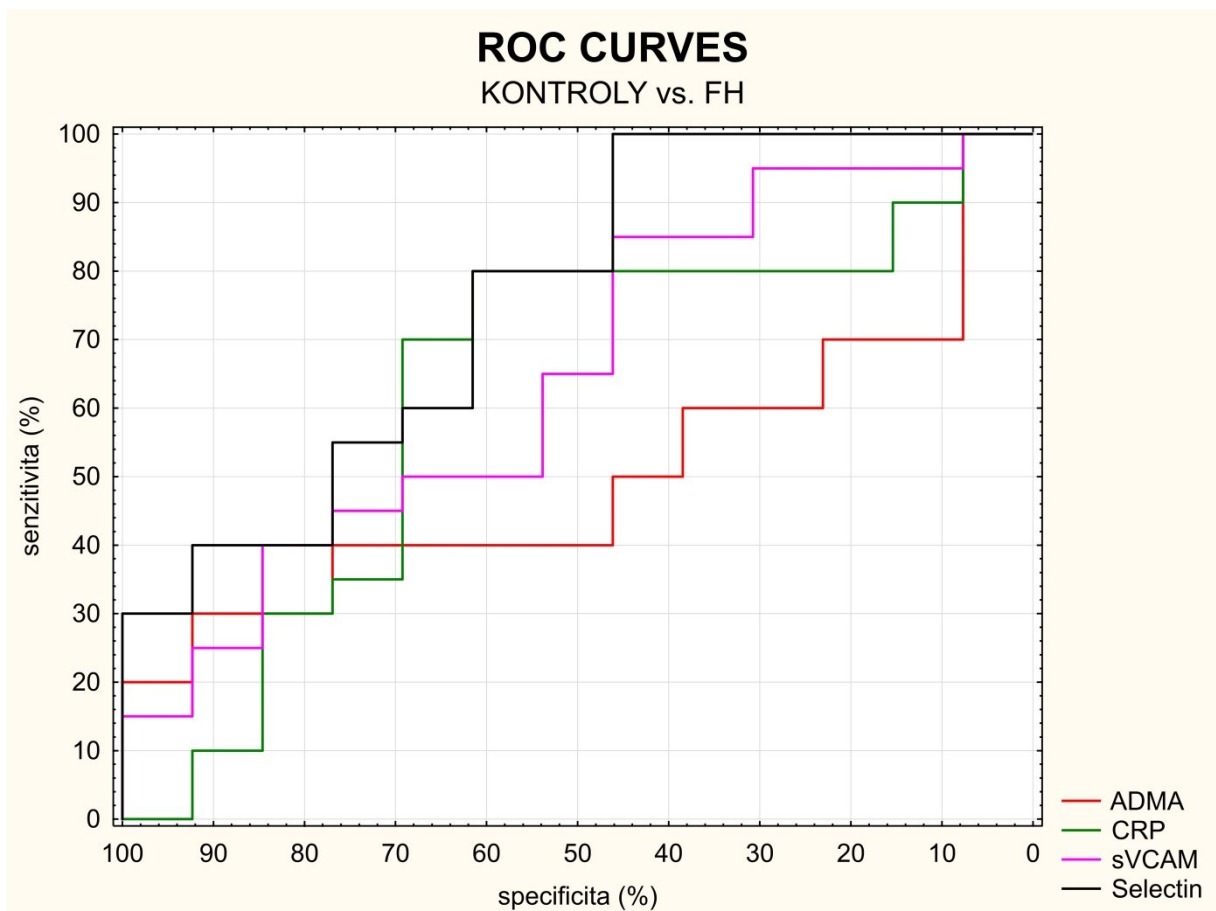
sVCAM – nenalezeno, rizikové jsou vysoké hodnoty

E-selectin – rizikové hodnoty - vyšší nebo rovno 41 ug/l (specifická 46,15%, senzitivita 95%)



**Graf 15** Graf (ROC křivka) popisuje vztah senzitivity a specifcity při různých hodnotách cut-off RHI ve skupině dětí s FH.

FH – familiární hypercholesterolemie, RHI - reaktivní hyperemický index

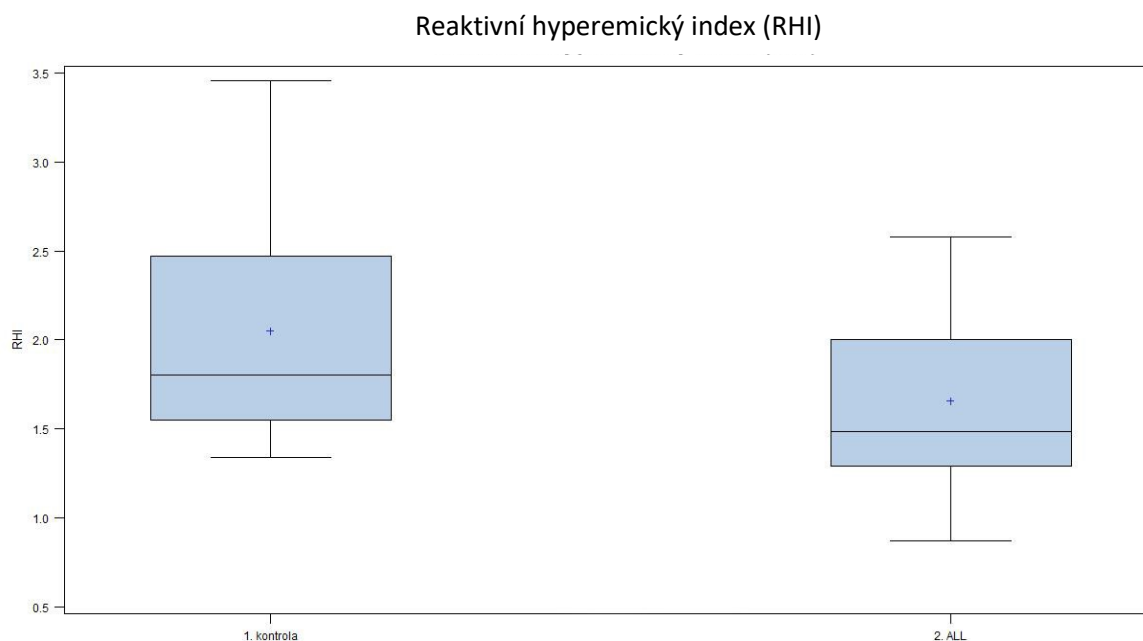


**Graf 16** Graf (ROC křivky) popisuje vztah senzitivity a specificity při různých hodnotách cut-off biochemických parametrů ve skupině dětí s FH.  
ADMA - asymetrický dimethylarginin, FH – familiární hypercholesterolemie, hsCRP - vysoce senzitivní C reaktivní protein, sVCAM - vazoadhezivní molekuly

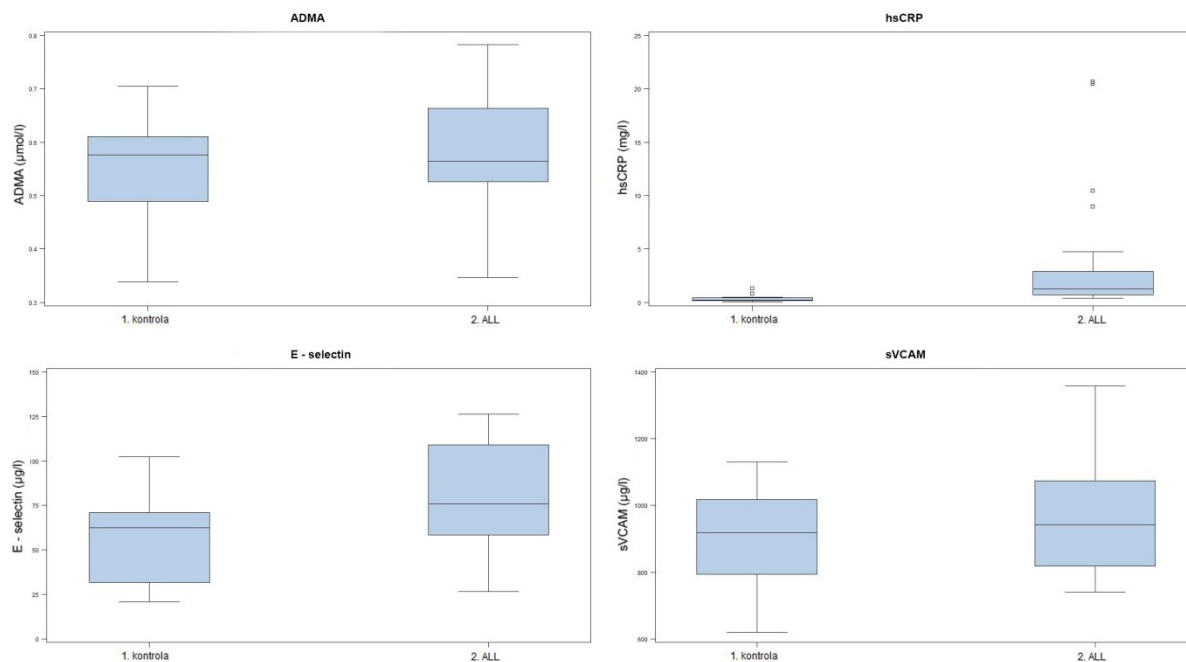
## Akutní lymfoblastická leukémie

Data	ALL	Kontroly	p	
RHI	1,49 (1,29; 2,00)	1,81 (1,55; 2,47)	<b>0,036</b>	<b>p &lt; 0,05</b>
ADMA (umol/l)	0,57 (0,53; 0,66)	0,58 (0,49; 0,61)	0,237	NS
hsCRP (mg/l)	1,23 (0,71; 2,92)	0,19 (0,18; 0,45)	<b>0,0002</b>	<b>p &lt; 0,01</b>
sVCAM(ug/l)	941,70 (818,65; 1074,00)	918,40 (793,08; 1017,90)	0,483	NS
E-selectin (ug/l)	76,03 (58,32; 108,98)	62,50 (31,66; 70,99)	0,0515	NS

**Tab. 10** Čísla vyjadřují medián hodnot a interkvartilové rozpětí (1. kvartil; 3. kvartil).  
ADMA - asymetrický dimethylarginin, ALL – akutní lymfoblastická leukémie, hsCRP - vysoce senzitivní C reaktivní protein, NS – nesignifikantní výsledek, RHI - reaktivní hyperemický index, sVCAM - vazoadhezivní molekuly



**Graf 17** Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí.  
Horizontální linie označuje medián hodnot, úsečky maximální a minimální získanou hodnotu.  
ALL – akutní lymfoblastická leukémie, RHI - reaktivní hyperemický index



**Graf 18** Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí.

Horizontální linie označuje medián hodnot, úsečky maximální a minimální získanou hodnotu.

ALL – akutní lymfoblastická leukémie, ADMA - asymetrický dimethylarginin, hsCRP - vysoce senzitivní C reaktivní protein, RHI - reaktivní hyperemický index, sVCAM - vazoadhezivní molekuly

Hodnoty RHI v souboru pacientů s ALL byly signifikantně nižší v porovnání s kontrolním souborem. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 10 a grafu 17.

V plazmatických hladinách ADMA nebyl signifikantní rozdíl mezi pacienty s ALL a zdravými kontrolami. Hodnoty sVCAM u dětí s ALL byly vyšší v porovnání se zdravými kontrolami, nedosáhly však statistické významnosti. Plazmatická hladina hsCRP u dětí s ALL byla signifikantně vyšší v porovnání se zdravými kontrolami. Hodnoty E-selectinu byly vyšší ve skupině dětí s ALL, statisticky hraničně nevýznamné. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 10 a grafu 18.



### Určení statisticky nejsilnějších cut-off:

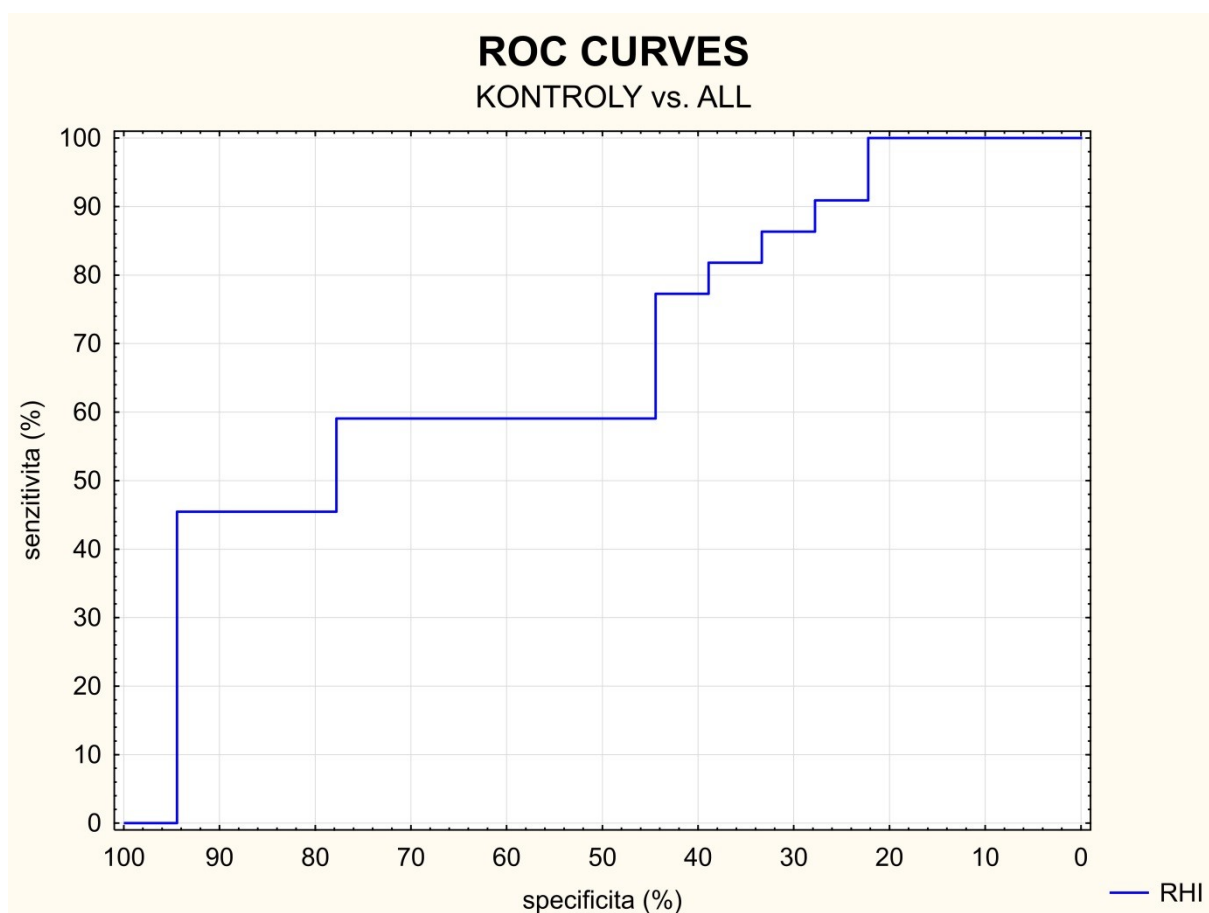
RHI – rizikové hodnoty – nižší nebo rovno 1,44 (specifická 88,89%, senzitivita 45,45%)

ADMA – nenalezeno, rizikové jsou vysoké hodnoty

CRP – rizikové hodnoty – vyšší nebo rovno 0,53 mg/l (specifická 84,62%, senzitivita 90,48%)

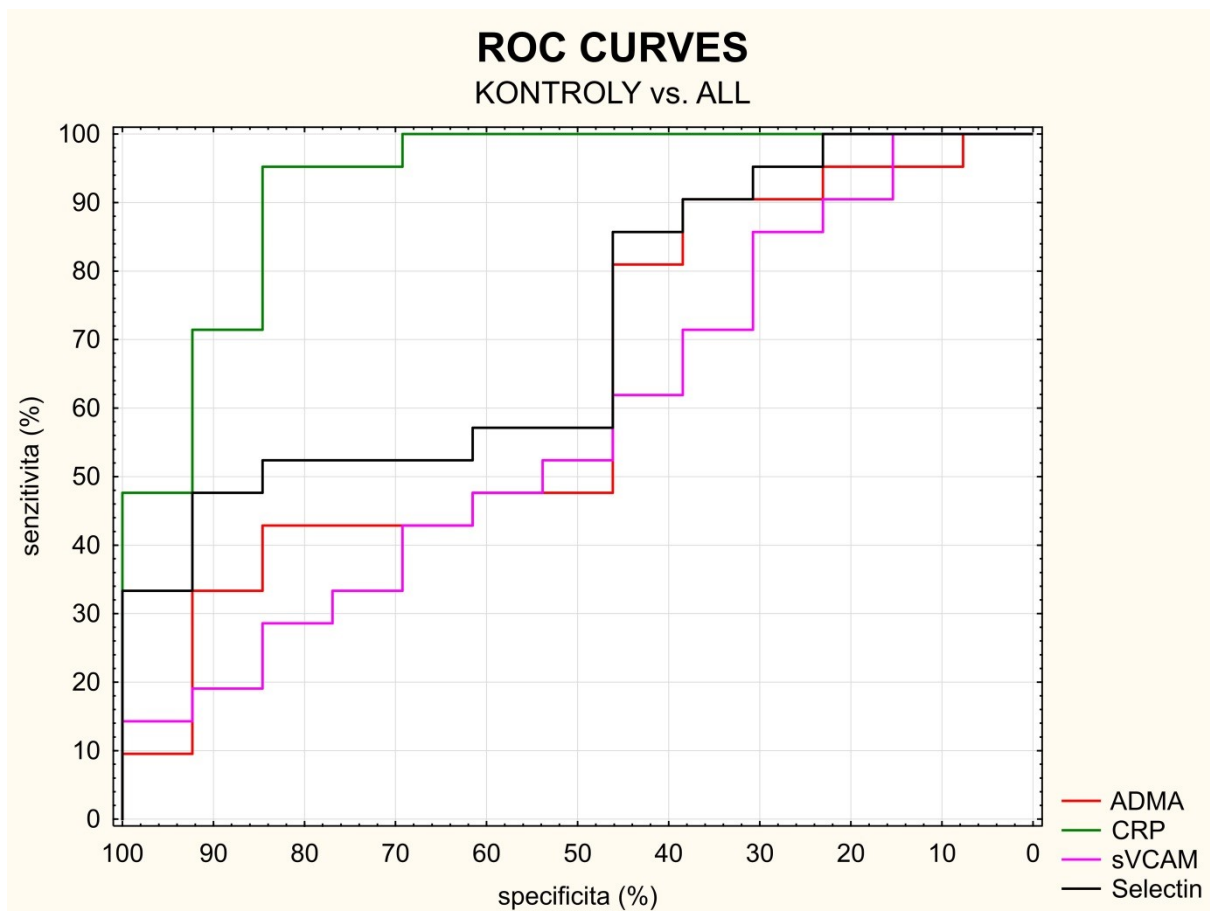
sVCAM – nenalezeno, rizikové jsou vysoké hodnoty

E-selectin – nenalezeno, rizikové jsou vysoké hodnoty



**Graf 19** Graf (ROC křivka) popisuje vztah senzitivity a specificity při různých hodnotách cut-off RHI ve skupině dětí s ALL.

ALL – akutní lymfoblastická leukémie, RHI - reaktivní hyperemický index



**Graf 20** Graf (ROC křivky) popisuje vztah senzitivity a specifcity při různých hodnotách cut-off biochemických parametrů ve skupině dětí s ALL. ADMA - asymetrický dimethylarginin, ALL – akutní lymfoblastická leukémie, hsCRP - vysoce senzitivní C reaktivní protein, sVCAM - vazoadhezivní molekuly

### 6.3. Výsledky k sekundárním cílům dizertační práce

#### Sekundární cíle:

- Korelace hodnot RHI s biochemickými markery endoteliální dysfunkce v jednotlivých souborech pacientů
- Ověření, zda kombinace měření RHI a specifických biochemických parametrů může být vhodnou metodou pro detekci endoteliální dysfunkce u rizikových skupin dětí

#### Korelační analýza, kombinace měření RHI a hodnocení biochemických parametrů

##### 1) Diabetes mellitus 1. typu

Ve skupině pacientů s DM1 byl nalezen signifikantní inverzní vztah mezi RHI a ADMA ( $p < 0,05$ ). Ostatní korelace nebyly statisticky významné.

Pomocí multivariační logistické regrese byly hodnoceny nejlepší kombinace. Nejlepší kombinace 2 faktorů je RHI a sVCAM (kombinace RHI a ADMA není lepší, protože jsou silně korelované). Pomocí OR kombinací byla stanovena pro cut-off RHI 1,7 (rizikové jsou hodnoty nižší nebo rovny této hodnotě) a pro cut-off sVCAM 1400 ug/l (rizikové jsou hodnoty vyšší nebo rovny této hodnotě) specificita 84,6% a senzitivita 90,9%, což je vyšší než při samotném měření RHI.

## **2) Crohnova choroba**

Ve skupině dětí s CD nebyly nalezeny žádné asociace mezi biochemickými parametry a RHI.

V kombinaci RHI a ADMA při cut-off RHI 1,7 (rizikové jsou hodnoty nižší nebo rovny této hodnotě) a ADMA 0,65umol/l (rizikové jsou hodnoty vyšší nebo rovny této hodnotě) dosahuje specifická 84,6% a senzitivita 94,1%.

## **3) Cystická fibróza**

Ve skupině pacientů s CF byl nalezen signifikantní inverzní vztah mezi RHI a E-selectinem ( $p < 0,01$ ). Ostatní korelace nebyly statisticky významné.

V kombinaci je nejlepší RHI a hsCRP. Při cut-off RHI 1,3 (rizikové jsou hodnoty nižší nebo rovny této hodnotě) a hsCRP 0,75 mg/l (rizikové jsou hodnoty vyšší nebo rovny této hodnotě) je specifická 84,6% a senzitivita 80%.

## **4) Familiární hypercholesterolemie**

Ve skupině dětí s FH nebyly nalezeny žádné asociace mezi biochemickými parametry a RHI.

V kombinaci RHI a E-selectinu při cut-off RHI 1,7 (rizikové jsou hodnoty nižší nebo rovny této hodnotě) a E-selectinu 105 ug/l (rizikové jsou hodnoty vyšší nebo rovny této hodnotě) dosahuje specifická 84,6% a senzitivita 75%.

### **5) Akutní lymfoblastická leukémie**

Ve skupině pacientů s ALL byl nalezen signifikantní inverzní vztah mezi RHI a ADMA ( $p < 0,05$ ). Ostatní korelace nebyly statisticky významné.

V kombinaci je nejlepší RHI a hsCRP. Při cut-off RHI 0,5 (rizikové jsou hodnoty nižší nebo rovny této hodnotě) a hsCRP 0,5 mg/l (rizikové jsou hodnoty vyšší nebo rovny této hodnotě) je specificita 84,6% a senzitivita 95,2%.

### **6) Kontrolní skupina**

Ve skupině kontrol nebyly nalezeny žádné asociace mezi proměnnými (biochemické parametry) a RHI.

## 7. Diskuze

V naší studii jsme hodnotili endoteliální funkci v jednotlivých skupinách dětí pomocí kombinace měření RHI a specifických biochemických parametrů. Signifikantně snížené hodnoty RHI a zároveň zvýšené plazmatické koncentrace biochemických markerů poukazují na možný výskyt ED ve skupinách dětí s diabetem mellitem 1. typu, Crohnovou chorobou, cystickou fibrózou a dětí po léčbě akutní lymfoblastické leukémie. Nižší hodnoty RHI a zároveň zvýšené hodnoty biochemických markerů jsme zaznamenali i ve skupině dětí s familiární hypercholesterolémií, v této skupině však nedosáhly statistické významnosti. Námí použitý model je prvním výzkumným projektem, který přináší informace týkající se endoteliální funkce u vybraných skupin dětských pacientů pomocí kombinovaného měření RHI a specifických biochemických markerů.

Nález signifikantně nižšího RHI u námi vybraných skupin dětí je analogický s výsledky dříve publikovaných studií, které hodnotily ED u dětských i dospělých pacientů za použití ultrasonografických metod s vysokým rozlišením (54) (20) (73) (12). Mezi tyto metody patří FMD (Flow Mediated Dilatation) a IMT (Intima Media Thickness). Reprodukovatelnost FMD u dětí je předmětem diskuze vzhledem k technické náročnosti. Tato metoda nemůže navíc eliminovat exogenně podmíněné neurovegetativní změny v průběhu měření. Použití IMT u dětí je též problematické, neboť je nepravděpodobné, že by morfologické změny tloušťky intimy a medie arteriální stěny detekovatelné ultrazvukem předcházely funkčním změnám na buněčné úrovni. IMT se navíc mění s věkem a je tedy obtížné stanovit přesnou hranici normálních hodnot v dětské populaci (12) (74). Tato fakta korespondují například s rozporupnými výsledky, které se týkají IMT u dětí s idiopatickým střevním zánětem (28) (75) a dříve publikovanými studiemi u mladých dospělých (76) (77). Naproti tomu neinvazivní pletyzmografická metoda měření RHI vykazuje z technického hlediska řadu nesporných výhod. Její provádění je jednodušší, automatizovaná analýza eliminuje případnou subjektivní chybu vyšetřujícího. Simultánní komparace s kontralaterální neokludovanou končetinou redukuje případné cévní změny v důsledku náhodného vnějšího vlivu během vyšetření. Úzký vztah mezi RHI a ED byl potvrzen pomocí invazivních metod (78).

Primárním cílem naší studie bylo stanovení hodnoty RHI a biochemických parametrů u vybraných rizikových skupin dětí (DM 1. typu, Crohnova choroba, cystická fibróza,

familiární hypercholesterolémie a děti po ukončené léčbě akutní lymfoblastické leukémie). Dále jsme stanovili hodnoty RHI a biochemických parametrů ve skupině zdravých kontrol. Poté jsme porovnávali pacienty z jednotlivých skupin s kontrolním souborem.

Ve skupině zdravých kontrol byl medián hodnoty RHI stanoven na 1,81 a interkvartilové rozpětí 1,55 až 2,47, což odpovídá dříve publikovaným studiím. (19) (79) Stejně tak v biochemických parametrech nebyl významnější rozdíl mezi námi zjištěnými výsledky a výsledky publikovanými v předchozích studiích. (25)

Z našich výsledků jsou patrné signifikantně snížené hodnoty RHI a elevace biochemických parametrů (ADMA, sVCAM) u pacientů s DM1 oproti souboru zdravých kontrol. Stejně tak byla patrná proinflamační aktivita se signifikantně vyšší hladinou hsCRP v této skupině dětí. Uvedené nálezy poukazují na možný výskyt ED u dětí s DM1, což je v souladu s dříve publikovanými studiemi Hallera a Mahmuda (20) (73). Stejně tak Hurks et al. hodnotil ve své studii endoteliální funkci u dětí a mladých dospělých s DM1 pomocí FMD a našel signifikantně snížené hodnoty FMD u pacientů s DM1, kteří neměli žádné klinické potíže a diabetes u nich byl dobře léčen (80). Snížené hodnoty RHI, a tedy možná endoteliální dysfunkce, byly ve skupině dětí s DM1 již nalezeny i v předchozí studii probíhající na Dětské klinice FN Plzeň (18). Vzhledem k celosvětově narůstajícímu počtu dětí s tímto chronickým autoimunitním onemocněním je zcela jistě nezbytné další sledování těchto pacientů. Cazeau et al. se ve své recentní studii zabývali efektem vitamínu C a E na funkci endotelu. Oxidační stres, který je indukován hyperglykemií, hraje hlavní roli u chronických komplikací při DM1. Tato studie předpokládala zlepšení po podání antioxidantů. Významnější efekt na endoteliální funkci však prokázán nebyl (81).

Ve skupině pacientů s Crohnovou chorobou jsme našli signifikantně snížené RHI oproti skupině zdravých kontrol. Nález signifikantně nižšího RHI u dětí s CD je analogický s výsledky dříve publikovaných studií, které hodnotily ED u dospělých pacientů s nespecifickým střevním zánětem za použití ultrasonografických metod s vysokým rozlišením. V současné době je k dispozici pouze několik málo studií zabývajících se prevalencí subklinické aterosklerózy u dětí s CD (82) (12) (19) (28). Nicméně žádná z dosavadních studií dosud nehodnotila endoteliální funkci kombinací pletyzmografického a biochemického vyšetření. Výsledky studie ukazují signifikantně zvýšené hladiny ADMA u pacientů s CD ve srovnání se zdravými kontrolami. Tyto nálezy odrážejí skutečnost, že zvýšené hladiny ADMA, coby kompetitivního inhibitoru syntázy oxidu dusnatého, vedou

k poklesu postokluzní vazodilatace. Výsledky jsou v souladu s výsledky publikovanými u dospělých jedinců (83). V naší studii jsme také pozorovali signifikantně zvýšené hladiny hsCRP u pacientů s CD v souladu s již dříve publikovanými pediatrickými údaji (28). E-selectin je odpovědný za adhezi leukocytů v endoteliálních buňkách založenou na imunologicko- zánětlivých interakcích. Zvýšená hladina E-selectinu byla nalezena u dětí s ISZ (84), srovnatelné byly hodnoty i v naší skupině pacientů s CD. Dalším zajímavým nálezem naší studie byly nižší hodnoty celkového a LDL cholesterolu u dětí s CD oproti kontrolnímu souboru, u všech dětí však stále v rámci referenčních hodnot. Tyto změny jsou zřejmě dány poruchou lipidového metabolismu způsobenou peroxidačním stresem na podkladě CD (85) vyžadující však ověření dalšími studiemi u dětí.

Další zkoumanou skupinou byli pacienti s cystickou fibrózou. V této skupině byla také prokázána signifikantně snížená hodnota RHI oproti kontrolnímu souboru a statisticky významně zvýšené hodnoty biochemických markerů (hsCRP, sVCAM, E-selectin). Překvapivým nálezem byly snížené hodnoty ADMA u pacientů s cystickou fibrózou oproti kontrolnímu souboru. Tento rozdíl nebyl statisticky významný, avšak nesplnil naše očekávání u této skupiny. Jsme si vědomi, že náš soubor není dostatečně velký, proto tento fakt bude nutné ověřit v dalších rozsáhlejších studiích. Na endoteliální dysfunkci u pacientů s CF však poukazují i další recentní studie. Rodriguez-Miguel ve své studii hodnotí endoteliální funkci v mikrovaskulárním řečišti pomocí dopplerovského měření (postokluzivní reaktivní hyperémie), lokální tepelné hyperémie a iontoforézy s acetylcholinem. Ve své studii poukazuje na mikrovaskulární dysfunkci u pacientů s CF a zároveň na úzký vztah mezi mikrovaskulární endoteliální funkcí a běžně užívanými „markery“ hodnocení stavu onemocnění (pulmonální funkce apod.) (86). Podobných výsledků dosáhli i Poor et al., kteří hodnotili endoteliální funkci u dětí s CF pomocí metody FMD (87).

Ve skupině dětí s familiární hypercholesterolémií jsme, dle našeho předpokladu, zaznamenali nižší hodnoty RHI oproti kontrolnímu souboru, hraničně však nedosáhly statistické významnosti. Z biochemických parametrů jsme v této skupině pozorovali signifikantně zvýšené hodnoty E-selectinu. Hodnoty hsCRP a VCAM byly také zvýšené, nedosáhly však statistické významnosti. Je možné přijmout námitku, že všechny sledované děti s FH byly již patřičně léčeny, a tudíž rozdíly v jejich vazoreaktivitě nemusely být klinicky patrné. Jsme si této skutečnosti vědomi, a proto máme v plánu další kontrolní



měření u dětí s familiární hypercholesterolémií před zahájením terapie tohoto onemocnění a další monitorování endoteliální funkce v průběhu terapie. Ve studii de Jongha byly děti s FH měřeny pomocí metody FMD a byl zde pozorován signifikantní rozdíl mezi skupinou dětí s FH a skupinou zdravých kontrol. Dále zde bylo hodnoceno výrazné zlepšení endoteliální funkce po 28 týdnech terapie statiny (88).

Ve skupině dětských pacientů po léčbě akutní lymfoblastické leukémie jsme našli signifikantně nižší hodnoty RHI ve srovnání se skupinou zdravých kontrol. Zároveň jsme pozorovali i signifikantně vyšší hodnotu hsCRP a tendenci k vyšším hodnotám ostatních biochemických markerů endoteliální dysfunkce (E-selectin, sVCAM) u pacientů s ALL. Signifikantně zvýšená hladina hsCRP u dětí po léčbě ALL je v souladu s prokázaným vztahem hsCRP k aterosklerózním procesům. Tato zvýšená hodnota je prediktivním faktorem morbidity a mortality na kardiovaskulární onemocnění bez ohledu na konvenční rizikové faktory (27). ADMA jako kompetitivní inhibitor NO-syntázy je spojen se zvýšeným oxidačním stresem a postokluzivní vazodilatací. Asociace významně zvýšených hladin ADMA a ED byla potvrzena v našich předchozích studiích (25) (23). Tento vztah je podporován experimentálními studiemi potvrzujícími úzký vztah mezi biochemickými a funkčními endoteliálními změnami (22). V naší studii jsme však překvapivě pozorovali pouze nepatrně zvýšené plazmatické hladiny ADMA u ALL pacientů ve srovnání se zdravými kontrolami. Závěry naší studie poukazují na možné zvýšené riziko endoteliální dysfunkce a kardiovaskulárních onemocnění u pacientů po léčbě akutní lymfoblastické leukémie. Na tuto skutečnost poukazuje i studie Giordana, ve které je hodnocena funkce endotelu u dětských pacientů s ALL pomocí metody FMD (54). Stejně tak ve studii Sadurske et al. byla pomocí IMT u pacientů po léčbě onkologického onemocnění pomocí chemoterapie v dětském věku prokázána endoteliální dysfunkce (89). Další dvě studie se také zabývaly endoteliální dysfunkcí u dětí po léčbě ALL se stejným výsledkem (48) (49). Podobné výsledky popisují i studie u dospělých jedinců, kteří se pro ALL léčili v dětství (90) (91) (92) (93). V dospělých studiích však často hrají roli i přidružená onemocnění typu metabolického syndromu, obezity, inzulinové rezistence a diabetu, zvyšující kardiovaskulární riziko (94). Této skutečnosti jsme si vědomi, proto do naší studie byly zařazeny děti po léčbě ALL s normálním lipidovým profilem a bez anamnézy metabolického syndromu. Z tohoto důvodu se zdá jako pravděpodobná příčina poškození endotelu chemoterapie, která je používána pro léčbu ALL. Většina současných studií se

zaměřuje na kardiotoxicitu antracyklinů a zabývá se prevencí kardiovaskulárních onemocnění v dospělém věku. Zkoumaná kardioprotektiva jako Dexrazoxan, carvediol či různé výživové doplňky (L-carnitine, koenzym Q apod.) zatím dávají rozporuplné výsledky v prevenci kardiovaskulárních onemocnění (49) (95). Dosud nejsou dostupná žádná data týkající se účinku těchto preparátů u pacientů po ukončené úspěšné léčbě ALL. Dle dostupných informací se zatím pouze jedna studie (Jarvela et al.) zabývala dobrým efektem domácího cvičení a fyzické aktivity na endoteliální funkci u pacientů léčených pro ALL (49). Proto jsou, dle našeho názoru, nezbytné další studie týkající se endoteliální dysfunkce u těchto pacientů.

V případě hodnocení výsledků naší analýzy musíme také brát do úvahy určité limitace, se kterými jsme se v rámci studie setkali. Jednou z možných limitací této studie může být absence limit cut-off hodnot RHI a biochemických markerů u dětí. Námi zjištěná průměrná hodnota RHI 2,05 u kontrolního souboru zdravých dětí oproti literárně udávané hodnotě RHI 1,67 u dospělé populace naznačuje pravděpodobnou závislost RHI na věku (19). Z tohoto důvodu jsme do naší studie zařadili kontrolní soubor dětí, který věkově odpovídal všem skupinám pacientů (nebyl signifikantní rozdíl ve věku v žádné z námi zkoumaných skupin ve srovnání se zdravými kontrolami). Dále jsme si vědomi nízkého počtu dětí naší kontrolní skupiny. To je částečně odrazem etických důvodů a praktických potíží při zařazování zdravých dětí do studie, která vyžaduje odběry vzorků krve (24). Nicméně RHI skóre v naší kontrolní skupině souhlasí s dříve publikovanými daty z rozsáhlých studií u zdravých dětí (60), což významně zvyšuje sílu výsledků v naší studii. S ohledem na biochemické parametry považujeme velikost vybraného kontrolního souboru za dostatečnou k získání objektivních závěrů především proto, že všechny zkoumané biochemické markery jsou spojeny s relativně nízkou variabilitou. Je nutné brát v úvahu též fakt, že v jedné z nedávných studií byla prokázána zvýšená základní PAT amplituda u obézních lidí ve srovnání se zdravými kontrolami, a současně inverzní vztah mezi základní amplitudou a reakcí PAT na hyperémii (10). V malé studii Moerlanda et al. jsou popsány rozporuplné výsledky týkající se RHI skóre a jeho schopnosti detekovat akutní změny vazodilatace následující po kouření (96). Těchto skutečností jsme si vědomi, do naší studie však obézní děti ani kuřáci zařazeni nebyli. Další limitací studie byla velikost senzorů, které jsou unifikované a výrobcem není udána minimální a maximální tloušťka prstu, na který je možno senzor použít. U malých dětských pacientů (především dívek) nebylo

možné z důvodu nedostatečného „nafouknutí“ vnitřní plochy senzoru vyšetření provést, neboť senzor nevytvářel dostatečné tlakové pole v distálních dvou třetinách prstu a přístroj hlásil chybné výsledky či nebylo možno RHI změřit. Na tuto skutečnost poukazují ve své studii i Kelly et al., kteří porovnávali RHI u dětí ve věkovém rozmezí 6-9 let, 10-14 let a 15-19 let, které poté srovnávali s FMD, a zjistili, že mladší věk je asociovaný se signifikantně nižšími hodnotami RHI, zatímco hodnoty FMD pro endoteliální dysfunkci nesvědčí a nejsou nízké. (97) I z tohoto důvodu jsme vybrali skupinu zdravých kontrol odpovídající věku našim jednotlivým skupinám pacientů a věkovou hranici měřených dětí stanovili na 12 let. Některé studie také poukazují na fakt, že není jednoznačně potvrzena korelace mezi FMD a RHI ve vztahu k ED. (98) Toto kontroverzní zjištění může být částečně vysvětleno různými vlastnostmi velkých vodivých tepen a periferním rezistentním řečištěm. Přesné vysvětlení však zůstává předmětem dalších studií.

Naší studií jsme se snažili poukázat na fakt, že některá chronická onemocnění mohou být spojena s endoteliální dysfunkcí, a tedy vyšším rizikem rozvoje předčasné aterosklerózy, a je tedy nutné aktivní vyhledávání těchto skupin dětských pacientů. Dle našeho názoru by kombinovaná metoda měření RHI a hodnocení biochemických parametrů mohla být do budoucna vhodná pro hodnocení endoteliální dysfunkce.

## 8. Závěry

Z výsledků naší studie vyplývá, že některá chronická autoimunitní, chronická zánětlivá a metabolická onemocnění mohou být spojena s vyšším rizikem rozvoje předčasné aterosklerózy. Stejně tak pacienti po komplexní onkologické léčbě mohou být ohroženi rizikem endoteliální dysfunkce a předčasnou manifestací aterosklerózy. Signifikantně snížené hodnoty RHI poukazují na možný výskyt ED. Paralelně se ED manifestuje i v biochemické rovině. Výsledky potvrzují důležitost aktivního vyhledávání rizikových dětských pacientů a časného průkazu ED.

RHI vykazuje z technického hlediska řadu výhod oproti ultrasonografickým metodám užívaným pro detekci ED. Přístroj vytváří uniformní tlakové pole v distálních dvou třetinách prstu, čímž eliminuje problémy s venózní dilatací a následnou reflexní venoarteriální konstrikcí, která by zkreslila výsledné hodnoty. Simultánní komparace s neokludovanou kontralaterální končetinou kompenzuje exogenně podmíněné neurovegetativní změny v průběhu měření. Automatizovaná analýza eliminuje případné ovlivnění výsledku vyšetřujícím.

Elevace biochemických markerů endoteliální dysfunkce v kombinaci s metodou měření RHI navíc zvyšuje specifitu i senzitivitu naměřených výsledků a kombinace těchto metod dává dobrý předpoklad pro možné budoucí využití v klinické praxi.

## 9. Souhrn

Cílem dizertační práce bylo zhodnocení endoteliální funkce pomocí kombinace měření RHI a specifických biochemických markerů u dětí s možným rizikem předčasné manifestace aterosklerózy a u kontrolní skupiny zdravých dětí. Do studie bylo zařazeno celkem 124 dětí (z toho 106 pacientů rozdělených do pěti skupin podle základní diagnózy – diabetes mellitus 1. typu, Crohnova choroba, cystická fibróza, familiární hypercholesterolémie a akutní lymfoblastická leukémie a 18 zdravých dětí kontrolní skupiny). Během studie jsme měřili RHI pomocí nové pletysmografické metody a dále hodnotili biochemické markery endoteliální dysfunkce (ADMA, E-selectin, hsCRP a VCAM) a lipidogram u jednotlivých skupin dětí.

Primárním cílem naší studie bylo stanovení hodnoty RHI a biochemických parametrů u zdravých jedinců a dále ve vybraných rizikových skupinách dětí (diabetes mellitus 1. typu, Crohnova choroba, cystická fibróza, familiární hypercholesterolémie a děti po ukončené léčbě akutní lymfoblastické leukémie). Zároveň jsme porovnávali pacienty z jednotlivých skupin s kontrolním souborem. Nalezli jsme signifikantně zvýšené hodnoty RHI ve skupinách dětí s diabetem 1. typu, Crohnovou chorobou, cystickou fibrózou a u dětí po ukončené úspěšné léčbě akutní lymfoblastické leukémie. Zvýšené hodnoty RHI jsme pozorovali i ve skupině dětí s familiární hypercholesterolémií. V oblasti biochemických parametrů jsme také pozorovali tendenci k vyšším hodnotám v jednotlivých rizikových skupinách. Tyto markery mohou být asociovány s ED v rámci preklinické fáze aterosklerózy. Vzhledem k absenci cut-off hodnot pro RHI a biochemické parametry pro dětský věk jsme se zároveň snažili v naší studii stanovit pro každou skupinu optimální cut-off hodnotu RHI, ADMA, sVCAM, E-selectinu a hsCRP.

Sekundárním cílem disertační práce pak byla korelace hodnot RHI s biochemickými markery endoteliální dysfunkce v jednotlivých souborech pacientů a ověření, zda kombinace měření RHI a specifických biochemických parametrů může být vhodnou metodou pro detekci endoteliální dysfunkce u rizikových skupin dětí. Ve studii jsme prokázali zvýšení specifity a senzitivity použitím kombinace metod měření RHI a jednotlivých biochemických markerů, a tedy přesnější výsledky při užití kombinované metody než při užití pouze jedné z metod.

Během naší studie jsme se setkali s několika limitacemi. Jednou z limitací naší studie byla absence cut-off hodnot RHI a biochemických markerů pro dětský věk. Dále jsme si vědomi nízkého počtu dětí naší kontrolní skupiny. Nicméně RHI skóre v naší kontrolní skupině souhlasí s dříve publikovanými daty z rozsáhlých studií u zdravých dětí, což významně zvyšuje sílu výsledků v naší studii. Další limitací studie byla velikost senzorů, které jsou unifikované a výrobcem není udána minimální a maximální tloušťka prstu, na který je možno senzor použít. S ohledem na dostupná dříve publikovaná data jsme skupinu zdravých kontrol vybrali tak, aby věkově odpovídala jednotlivým skupinám pacientů, a věkovou hranici měřených dětí jsme stanovili na 12 let.

Naše závěry poukazují na možný výskyt endoteliální dysfunkce u dětí s chronickým autoimunitním, zánětlivým a metabolickým onemocněním. Dle našeho názoru je z výsledků patrná i nutnost aktivního vyhledávání rizikových skupin dětí a jejich dalšího sledování. Měření RHI vykazuje četné technické výhody při hodnocení ED oproti dříve užívaným neinvazivním metodám. Stejně tak laboratorní vyšetření biochemických markerů endoteliální dysfunkce je možno provést v rámci laboratorního vyšetření při pravidelné kontrole dítěte a není tedy nutný vyšší počet invazivních výkonů. Jsme tedy názoru, že kombinace měření RHI a specifických biochemických parametrů by mohla být do budoucna vhodnou metodou pro detekci ED a stratifikaci individuálního kardiovaskulárního rizika v dlouhodobém sledování těchto pacientů. Nicméně jsme si vědomi, že se jedná o první studii tohoto charakteru v dětském věku a k ověření bude nutné dlouhodobější sledování těchto skupin dětí a další rozsáhlejší studie.

## 10. Summary

We aimed to evaluate the endothelial function by combining RHI measurements and specific biochemical markers in the children with possible risk of premature manifestation of atherosclerosis and in the control group of healthy children. In all, 124 children (of which 106 patients divided into five groups according to diagnosis - type 1 diabetes mellitus, Crohn's disease, cystic fibrosis, familial hypercholesterolemia and acute lymphoblastic leukemia and 18 healthy controls) were enrolled in the study. During the study, we measured RHI using a new plethysmographic method and further evaluated biochemical markers of endothelial dysfunction (ADMA, E-selectin, hsCRP and VCAM) and lipidogram in individual groups of children.

The primary objective of our study was the determination of RHI and biochemical parameters in healthy subjects and in selected risk groups of children (type 1 diabetes mellitus, Crohn's disease, cystic fibrosis, familial hypercholesterolemia and children after successful treatment of acute lymphoblastic leukemia). At the same time, we compared patients from individual groups with the control group. We found significantly elevated RHI values in groups of children with type 1 diabetes, Crohn's disease, cystic fibrosis, and children after successful treatment of acute lymphoblastic leukemia. Increased RHI values were observed also in the familial hypercholesterolemia group. In terms of biochemical parameters, we also observed a tendency towards higher values in individual risk groups. These markers can be associated with ED in the preclinical phase of atherosclerosis. Due to the absence of cut-off values for RHI and biochemical parameters for childhood, we tried to determine optimal cut-off for each group of RHI, ADMA, sVCAM, E-selectin and hsCRP for each group.

The secondary aim of the thesis was to find the correlation of RHI values with biochemical endothelial dysfunction markers in individual patient groups and to verify whether the combination of RHI measurements and specific biochemical parameters can be a suitable method for the detection of endothelial dysfunction in risk groups of children. In the study, we demonstrated an increase in specificity and sensitivity using a combination of RHI measurement methods and individual biochemical markers, and thus more accurate results when using the combined method than using only one of the methods.

During our study, we encountered several limitations. One of the limitations was the absence of cut-off values for RHI and biochemical markers for child patients. We are also aware of the low number of children in our control group. However, the RHI score in our control group agrees with previously published data from extensive studies in healthy children, which significantly increases the strength of the results in our study. Another limitation of the study was the size of the sensors that are unified and the minimum and maximum thickness of the finger on which the sensor can be used is not given by the manufacturer. Based on available data published previously, we chose a set of healthy controls to match the patients' ages, and we set the age limit of the measured children at 12 years.

Our findings point to the possible occurrence of endothelial dysfunction in children with chronic autoimmune, inflammatory and metabolic diseases. In our opinion, the results also show the need to actively look at and monitor the risk groups of children. RHI measurement has numerous technical advantages in evaluating ED over the previously used non-invasive methods. Similarly, laboratory examination of biochemical markers of endothelial dysfunction can be performed during the laboratory examination within regular medical check-ups of children and therefore no higher invasive procedures are required. We believe that the combination of RHI measurements and specific biochemical parameters could be a suitable method for ED detection and stratification of individual cardiovascular risk in the long-term follow-up of these patients. However, this is the first study of this type focused on children, and verification will require longer-term follow-up of these groups of children and further extensive studies.



## 11. Použitá literatura

1. **Berenson GS, Wattigney WA, Tracy RE, Newman WP 3rd, et al.** Atherosclerosis of the aorta and coronary arteries and cardiovascular risk factors in persons aged 6 to 30 years and studied at necropsy (The Bogalusa Heart Study). *Am J Cardiol.* 1992, 70(9): 851-858.
2. **Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE et al.** A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation.* 1995, Sv. 92: 1355–1374.
3. **Češka R., Prusíková M., Šnejdrlová M.** <http://www.kardiologickarevue.cz/kardiologicka-revue-clanek/predikce-a-prevence-aterosklerozy-a-personalizovana-lecba-dyslipidemii-35126>. [Online] [Citace: 16. 1 2019.]
4. **Freedman DS, Dietz WH, Srinivasan SR, Berenson GS.** The Relation of Overweight to Cardiovascular Risk Factors Among Children and Adolescents: The Bogalusa Heart Study. *Pediatrics.* 1999, vol. 103/ issue 6.
5. **Český statistický úřad.** [Online] 14. 11. 2016. [Citace: 15. 1 2017.] <https://www.czso.cz/csu/czso/cesi-nejcasteji-umiraji-na-nemoci-obehove-soustavy>.
6. **Stožický, F.** [Online] [Citace: 19. 11 2016.] <http://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/aterosklerozu-u-deti-a-dorostu-367844>.
7. **Šamánek M, Urbanová Z.** *Prevence aterosklerozy v dětském věku.* Praha : Galén, 2003.
8. **Karásek D, Vaverková H.** Endoteliální dysfunkce, možnosti její detekce a využití v klinické praxi. *Interní medicína pro praxi.* 2004, 9, 450-453.
9. **Ghesquiere, Stijn A.I.** [www.applesnail.net](http://www.applesnail.net). *Anatomy artery.png*. [Online] [Citace: 16. 1 2019.] [https://cs.wikipedia.org/wiki/Endotel#/media/File:Anatomy\\_artery.png](https://cs.wikipedia.org/wiki/Endotel#/media/File:Anatomy_artery.png).
10. **Hamburg NM, Keyes MJ, Larson MG, Vasan RS, Schnabel R, Przde MM, et al.** Cross sectional relations of digital vascular function to cardiovascular risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2008, 13: 2467-74.
11. **Bonneti PO, Lerman LO, Lerman A.** *Arterioscler Thromb Vasc Bio.* 2003, 23: 168-175.
12. **Morrison KM, Dyal L, Conner W, Helden E, Newkirk L, Yusuf S, et al.** Cardiovascular risk factors and non-invasive assessment of subclinical atherosclerosis in youth. *Atherosclerosis.* 2010, 208: 501-505.
13. **Cromer W, Mathis JM, Granger DN, Chaitanya GV, Steven Alexander J.** Role of the endothelium in inflammatory bowel diseases. *World J. Gastroenterol.* 2011, 17: 578-93.

14. **Dharmam P, Chadee K.** Biologic therapies against inflammatory bowel disease: a dysregulated immune system and the cross talk with gastrointestinal mucosa hold the key. *Curr Mol Pharmacol.* 2008, 1: 195-212.
15. **Oshma T, Laroux FS, Coe LI, Monse Z, Kawach S, Bauer P, et al.** Interferon-gamma and interleukin-10 reciprocally regulate endothelial junction integrity and barrier function. *Microvasc Res.* 2001, 61: 130-43.
16. **Widlansky ME, Gokce N, KeaneyJF Jr, Vita JA.** The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol.* 2003, 42: 1149-1160.
17. **Vrablík M. et. al.** Endoteliální dysfunkce - první stádium aterosklerózy. *Med. praxi.* 2011, 8 (3): 119-122.
18. **Jehlička P, Huml M, Votava T, Pomahačová R, Kobr J.** Reaktivní hyperemický index v detekci endoteliální dysfunkce u dětí - pilotní studie. *Česko-slovenská Pediatrie.* 2011, 76-79.
19. **Bonneti PO, Pumper GM, Higano ST, Holmes DR Jr, Kuvín JT, Lerman A.** Non-invasive identification of patients with early coronary atherosclerosis by assessment of digital reactive hyperaemia. *J Am Coll Cardiol.* 2004, 44: 2137-41.
20. **Haller MJ, Stein J, Shuster J, Theriaque D, et al.** Peripheral artery tonometry demonstrates altered endothelial function in children with type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes.* 2007, 8(4): 193-198.
21. **Higashi Y, Sasaki S, Nakagawa K, et al.** A noninvasive measurement of reactive hyperemia that can be used to assess resistance artery endothelial function in humans. *Am J Cardiol.* 2001, 87: 121-125.
22. **Mori-Kawabe M, Yasuda Y, Ito M, Matsuo S.** Reduction of NO-mediated Relaxing Effects in the Thoracic Aorta in an Experimental Chronic Kidney Disease Mouse Model. *Atheroscler Thromb.* 2015, Sv. 22: 845-853.
23. **Jehlička P, Huml M, Schwarz J, Trefil L, Kobr J, Sýkora J.** Reactive Hyperaemia Index as a marker of endothelial dysfunction in children with Crohn's disease is significantly lower than healthy controls. *Acta Paediatrica.* 2014, 103: e 55-e 60.
24. **Masopustová A., Jehlička P., Sýkora J., Huml M., Schwarz J., Trefil L.** Endoteliální dysfunkce u dětí s Crohnovou chorobou - kombinovaný diagnostický přístup. *Čes-Slov Pediatr.* 2015, 70 (1): 3-8.
25. **Jehlička P, Stožický F, Mayer O Jr, Varvařovská J, Racek J, Trefil L, et al.** Assymetric dimethylarginine and the effect of folate substitution in children with familiar hypercholesterolemia and diabetes mellitus type 1. *Physiol Res.* 2009, 58: 179-84.
26. **Macías C., VillaescusaR., del Valle L. et al.** Endothelial Adhesion Molecules ICAM-1, VCAM-1 and E-Selectin in Patients with Acute Coronary Syndrome. *Rev Esp Cardiol.* 2003, 56:137-44 - Vol. 56 Num.02.

27. **Wilson PWF, Pencina M, Jacques P, Selhub J, D'Agostino R, O'Donnell CJ.** C-reactive protein and reclassification of cardiovascular risk in the Framingham Heart Study. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes.* 2008, 1: 92-97.
28. **Aloi M, Tromba L, Di Nardo G, Dilillo A, Del Giudice E, Marocchi E, et al.** Premature subclinical atherosclerosis in pediatric inflammatory bowel disease. *J Pediatr.* 2012, 161: 589-94.
29. **Murdaca G, Colombo BM, Cagnati P, Gulli R, Spano F, Puppo F.** Endothelial dysfunction in rheumatic autoimmune diseases. *Atherosclerosis.* 2012, 224: 309-17.
30. **Satoh M.** Endothelial dysfunction as an underlying pathophysiological condition of chronic kidney disease. *Clin Exp Nephrol.* 2012, 16: 518-21.
31. **Zhang CY, Lu LJ, Li FH, Li HL, Gu YY, Chen SL, et al.** Evaluation of risk factors that contribute to high prevalence of premature atherosclerosis in Chinese premenopausal systemic lupus erythematosus patients. *J Clin Rheumatol.* 2009, 15: 111-6.
32. **Piccione MC, Bagnato G, Zito C, Di Bella G, Caliri A, Catalano M, et al.** Early identification of vascular damage in patients with systemic sclerosis. *Angiology.* 2011, 62: 338-43.
33. **Meyer MF, Lieps D, Schatz H, Klein HH, Pfohl M.** Influence of the duration of type 2 diabetes on early functional and morphological markers of atherosclerosis compared to the impact of coexisting classic cardiovascular risk factors. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2008, 116: 298-304.
34. **Turemen EE, Cetinarslan B, Sahin T, Canturk Z, Tarkun I.** Endothelial dysfunction and low grade chronic inflammation in subclinical hypothyroidism due to autoimmune thyroiditis. *Endocrine Journal.* 2011, 58: 349-54.
35. **Dziatkowiak H, Ciechanowska M, Wasikova R et al.** Increase in the incidence of type I diabetes mellitus in children in three cities in Poland, 1987-1999. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2002, 15: 1153-1160.
36. **Toumba M, Savva SC, Bacopoulou I, Apsiotou T, Georgiou T, Stavrou S, Skordis N.** Rising incidence of type 1 diabetes mellitus in children and adolescents in Cyprus in 2000-2004. *Pediatr Diabetes.* 2007, 8: 374-376.
37. **Pareyn A, Allgaert K, Asscherickx W, Peirsman E, Verhamme P, Casteels K.** Impaired endothelial function in female adolescents with type 1 diabetes measured by peripheral artery tonometry. *Eur J Pediatr.* 2013, 172: 1017-1022.
38. **Mitrová K.** Zánětlivá střevní onemocnění u dětí. *Pediatr. praxi.* 2012, 13(6): 388–390.
39. **Behr MA.** The path to Crohn's disease> Is mucosal pathology a secondary event? *Inflamm Bowel Dis.* 2010, 16: 896-902.
40. **Mori M, Stokes KY, Vowinkel T, Watanabe N, Elrod JW, Harris NR, et al.** Colonic blood flow responses in experimental colitis: time course and underlying mechanisms. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2005, 289: G1024-9.

41. **Sosna V, Kyselák O.** Familiární hypercholesterolémie: co potřebuje vědět kardiolog. *Postgraduální medicína.* 2016, s. 97-99.
42. **Gurney JG, Severson RK, Davis S, Robinson LL.** Incidence of cancer in children in the United States. Sex-, race-, and 1-year age specific rates by histologic type. *Cancer.* 1995, 78(8): 2186-2195.
43. **Horner MJ, Ries LAG Krapcho M.** Seer Cancer Statistics Review, 1975-2006, Bethesda, MD: National Cancer Institute. <http://ser.cancer.gov/csr/1975-2006/>, based on November 2008 SEER data submission. posted to the SEER website, 2009. [Online] 2009.
44. **Silverman, LB.** Balancing cure and long-term risk in acute lymphoblastic leukemia. *Hematology am Soc Hematol Educ Program.* 2014, 1: 190-197.
45. **Oeffinger KC, Mertens AC, Sklar CA.** Chronic health conditions in adult survivors of childhood cancer. *N Engl J Med.* 2006, 355: 1572-1582.
46. **De Caro E., Smeraldi A., Trocchio G., Calevo M. et al.** Subclinical Cardiac Dysfunction and Exercise Performance in Childhood Cancer Survivors. *Pediatr Blood Cancer.* 2011, 56: 122-126.
47. **Bryant J, Picot J, Levitt G, Sullivan I, Baxter L, Clegg A.** Cardioprotection against the toxic effects of anthracycline given to children with cancer: a systematic review. *Health Technol Assess.* 2007, 11: 1-84.
48. **Woo Jung Jang, Duk Yong Choi, In-Sang Jeon.** Vascular endothelial dysfunction after anthracyclines treatment in children with acute lymphoblastic leukemia. *Korean J Pediatr.* 2013, 56(3): 130-134.
49. **Jarvela LS, Niinikoski H, Heinonen OJ, Lahteenmaki PM, Arola M, Kempainen J.** Endothelial function in long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: effects of home-based exercise program. *Pediatr Blood Cancer.* 2013, 60: 1546-1551.
50. **Barry E, Alvarez JA, Scully RE, Miller TL, Lipshultz SE.** Anthracycline-induced cardiotoxicity: course, pathophysiology, prevention and management. *Expert Opin Pharmacother.* 2007, 8: 1039-1058.
51. **Ylänen, K., Poutanen, T., Savukoski, T., Eerola, A. and Vettenranta, K.** Cardiac biomarkers indicate a need for sensitive cardiac imaging among long-term childhood cancer survivors exposed to anthracyclines. *Acta Paediatrica.* 2015, 104: 313–319. doi: 10.1111/apa.12862.
52. **Essig S, Li Q, Chen Y et al.** Risk of late effects of treatment in children with newly diagnosed with standard-risk acute lymphoblastic leukemia: a report from the Childhood Cancer Survivors Study cohort. *Lancet Oncol.* 2014, Sv. 15: 841-851.
53. **Nathan PC, Wasilewski-Mesker K, Janzen LA.** Long-term outcomes in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2005, Sv. 5: 1065-1082.

54. **Giordano P, Muggeo P, Delvecchio M, Carbonara S et al.** Endothelial dysfunction and cardiovascular risk factors in childhood acute lymphoblastic leukemia survivors. *International Journal of Cardiology*. 2017, 228: 621-627.
55. **Masopustová A, Jehlička P., Huml M., Votava T., Trefil L., Kreslová M., Sýkora J.** Plethysmographic and biochemical Markers in the Diagnosis of Endothelial Dysfunction in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia Survivors - New Applications. *Physiol. Res.* 67. 2018.
56. **IBD Working group of the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition.** Inflammatory bowel disease in children and adolescents: recommendations for the diagnosis - the Porto criteria. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2005, 41: 1-7.
57. **Hyams JS, Ferry GD, Mandel FS, et al.** Development and validation of a pediatric Crohn's disease activity index. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1991, 12: 439-47.8.
58. **Levine A., Griffiths A., Markowitz J., Wilson D.C., Turner D., Russell R.K., et al.** Pediatric modifications of the Montreal classification for inflammatory bowel disease: the Paris classification. *Inflamm Bowel Dis.* 2011, 17: 1314-21.
59. **Schinzari F, Armuzzi A, De Pascalis B, Mores N, Tesauro M, Melina D, et al.** Tumor necrosis factor-alpha antagonism improves endothelial dysfunction in patients with Crohn's disease. *Clin Pharmacol Ther.* 2008, 83: 70-6.
60. **Osika W, Montgomery SM, Dangardt F, Wahrborg P, Gan LM, Tideman E, et al.** Anger depression and anxiety associated with endothelial function in childhood and adolescence. *Arch Dis Child.* 2011, 96: 38-43.
61. **JW Ho, RT Poon, CS Tong ST Fan.** Clinical significance of serum vascular cell adhesion molecule-1 levels in patients with hepatocellular carcinoma . *World J Gastroenterol.* . 2004, Sv. 10(14): 2014-2018.
62. **Bannan S, Mnsfield MW, Grant PJ.** Soluble vascular cell adhesion molecule-1 and E-selectin levels in relation to vascular risk factors and to E-selectin genotype in the first degree relatives of NIDDM patients and in NIDDM patients. *Diabetologia.* 1998, Sv. 41(4):460-6.
63. **Teerling T, Nijveldt RJ, De Jong S et al.** Determination of Arginine, AsymmetricDimethylarginine, and Symmetric Dimethylarginine in Human Plasma and Other Biological Samples by High-Performance Liquid Chromatography. *Analytical Biochemistry.* vol. 303 (2), 2002, Sv. p. 131-137.
64. **Deneva-Kochyeva TI, Vladimirova-Kitova LG, Angelova EA, Tsvetkova TZ.** Plasma asymmetric dimethylarginine levels in healthy people. . *Folia Med (Plovdiv).* 2011, Sv. 53(1): 28-33.
65. **Chiriboga DE, Yunsheng Ma, Wenjun Li, Stanek EJ, Hébert JR et al.** Seasonal and Sex Variation of High-Sensitivity C-Reactive Protein in Healthy Adults: A longitudinal study. *ClinChem.* 2009, Sv. 55(2):313-321.
66. <http://www.itamar-medical.com/patients-endopat/>. [Online] 12. 5 2017.

67. <http://drjohnhart.com.au/EndoPAT-practitioner-info.php>. [Online] [Citace: 23. 6 2017.]
68. [www.itamar-medical.com](http://www.itamar-medical.com). [Online] [Citace: 16. 1 2019.]
69. <http://www.medial.cz/cs/>. [Online] 3. 6 2017.
70. [https://www.researchgate.net/figure/258202631\\_fig3\\_Fig1-Typical-EndoPAT-2000-display-screen-at-completion-of-test-Probe-1-and-probe-2](https://www.researchgate.net/figure/258202631_fig3_Fig1-Typical-EndoPAT-2000-display-screen-at-completion-of-test-Probe-1-and-probe-2). [Online] 12. 5 2017.
71. [arterialhealth.net/wp-content/uploads/2012/10/Clinical-Support-Data.pdf](http://arterialhealth.net/wp-content/uploads/2012/10/Clinical-Support-Data.pdf). [Online] [Citace: 22. 6 2017.]
72. <http://www.itamar-medical.com/endothelial-dysfunction-arterial-health-the-ultimate-risk-of-risk-factors/>. [Online] 12. 5 2017.
73. **Mahmud FH, Van Uum S, Kanji N, et al.** Impaired endothelial function in adolescents with type 1 diabetes mellitus. *J Pediatr*. 2008, 152(4): 557-562.
74. **Touboul PJ, Grobbee DE, den Ruijter H.** Assessment of subclinical atherosclerosis by carotid intima media thickness: technical issues. *Eur J Prev Cardiol*. 2012, 19: 18-24.
75. **Moerland M, Kales AJ, Schrier L, Van Dongen MG, Bradnock D, Burggraaf J.** Evaluation of the EndoPAT as a Tool to Assess Endothelial Function. *Int J Vasc Med*. 2012, 2012: 904141.
76. **Maharshak N, Arbel Y, Bornstein NM, Gal-Oz A, Gur AY, Shapira I, et al.** Inflammatory bowel disease is not associated with increased intimal media thickening. *Am J Gastroenterol*. 2007, 102: 1050-5.
77. **Broide E, Schopan A, Zaretsky M, Kimchi NA, Shapiro M, Scapa E.** Intima-media thickness of the common carotid artery is not significantly higher in Crohn's disease patients compared to healthy population. *Dig Dis Sci*. 2011, 56: 197-202.
78. **Selamet Tierney ES, Newburger JW, Gauvreau K, Geva J, Coogan E, Colan SD, de Ferranti SD.** Endothelial pulse amplitude testing: feasibility and reproducibility in adolescents. *J Pediatr*. 154:901-905, 2009.
79. **Rubinshtein R, Kuvin JT, Soffler M, Lennon RJ, Lavi S, Nelson RE et al.** Assessment of endothelial function by non-invasive peripheral arterial tonometry predicts late cardiovascular adverse events. *European Heart Journal*. 2010, 31: 1142-1148.
80. **Hurks R, Eisinger MJ, Goovaerts I, van Gaal L et al.** Early Endothelial Dysfunction in Young Type 1 Diabetics. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2009, 37, 611-615.
81. **Cazeau R., Huang H., Bauer J.A., Hoffman R.P.** Effect of vitamins C and E on endothelial function in type 1 diabetes mellitus. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/3271293>. [Online] 2016. [Citace: 3. 6 2017.]
82. **Kayahan H, Sari I, Cullu N, Yuksel F, Demie F, Akarsu M, et al.** Evaluation of early atherosclerosis in patients with inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci*. 2012, 57: 2137-43.

83. **Owczarek D, Cibor D, Mach T.** Assymetric dimethylarginine (Adma), symmetric dimethylarginine (SDMA), arginine, and 8-iso-PGF2alpha) level in patients with inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis.* 2010, 16: 52-7.
84. **Adamska I, Czerwionka-Szaflarska M, Kulwas A, Mierzwa G, Bala G, Rosc D.** Value of E-selectin and L-selectin determination in children and youth with inflammatory bowel disease. *Med Wieku Rozwoj.* 2007, 11: 413-8.
85. **Onkelinx S, Cornelissen V, Goetschalckx K, Thomaes T, Verhamme P, Vanhees L.** Reproducibility of different methods to measure the endothelial function. *Vasc Med.* 2012, 17: 79-84.
86. **Rodriguez-Miguel P., Thomas J., Seigler N., Crandall R., T McKie K., Forseen C., Harris RA.** Evidence of Microvascular Dysfunction in Patients With Cystic Fibrosis. [Online] 15. 4 2016. [Citace: 16. 6 2017.] 10.1152/ajpheart.00136.2016.
87. **Poore S, Berry B, Eidson D, McKie KT, Harris RA.** Evidence of vascular endothelial dysfunction in young patients with cystic fibrosis. *Chest.* 2013 Apr, 143(4): 939-45.
88. **de Jongh S.** Familial hypercholesterolemia in childhood. *Early Statin Therapy Restores Endothelial Function in Children with Familial Hypercholesterolemia.* [Online] 2002. [Citace: 16. 6 2017.]
89. **Sadurska E, Brodzisz A, Zaucha-Prazmo A, Kowalczyk J.** The Estimation of Intima-Media Thickness and Cardiovascular Risk Factors in Young Survivors of Childhood Cancer. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology.* 2013, Sv. 38, 7, 549-554.
90. **Oeffinger K.C., Adams-Huet B., Victor R.G., Church T.S., Snell P.G., Dunn A.L. et al.** Insulin resistance and risk factors for cardiovascular disease in young adults survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J.Clin. Oncol.* 27. 2009, 3698-3704.
91. **Oeffinger K.C.** Are survivors of acute lymphoblastic leukemia (ALL) at increased risk of cardiovascular disease? *Pediatr. Blood Cancer* 50 (suppl). 2008, 462-467.
92. **Dengel D.R., Ness K.K., Glasser S.P., Williamson E.B., Baker K.S, Gurney J.G.** Endothelial function in young adult survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J.Pediatr.Hematol.Oncol.* 30(1). 2008, 20-25.
93. **Giordano P., Molinari A.C., Del Vecchio G.C., Saracco P., Russo G., Altomare M., et al.** Prospective study of hemostatic alterations in children with acute lymphoblastic leukemia. *Am. J. Hematol.* 85. 2010, 325-330.
94. **Alberti KG, Zimmet P, Shaw J.** Metabolic syndrome - a new world-wide definition. Metabolic syndrome--a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation . *Diabet Med.* 2006, 23: 469-480.
95. **van Dalen EC, Caron HN, Dickinson HO, Kremer LC.** Cardioprotective interventions for cancer patients receiving anthracyclines. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011, 15:CD003917.

96. **Al-Qaisi M, Kharbanda RK, Mittal TK, Donald AE.** Measurement of endothelial function and its clinical utility for cardiovascular risk. *Vasc Health Risk Manag.* 2008, 4: 647-52.
97. **Kelly AS, Marlatt KL, Steinberger J, Dengel DR.** Younger age is associated with lower reactive hyperemic index but not lower flow-mediated dilation among children and adolescents. *Atherosclerosis.* 2014, 234(2):410-4.
98. **Allan RB, Delaney CL, Miller MD, Spark JI.** A comparison of flow-mediated dilatation and peripheral artery tonometry for measurement of endothelial dysfunction in healthy individuals and patients with peripheral arterial disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2013, Sv. 45: 263-269.
99. **MA., Behr.** The path to Crohn's disease: Is mucosal pathology a secondary event? *Inflamm Bowel Dis.* 2010, 16: 896-902.
100. **Nakamura S, Ohtani H, Watanabe Y, Fukushima K, Matsumoto T, Kitano A, et al.** In situ expressions of the cell adhesion molecules in inflammatory bowel disease. Evidence of immunologic activation of vascular endothelial cells. *Lab Invest.* 1993, 69: 77-85.



## 12. Seznam zkratek

ADMA – asymetrický dimetylarginin  
ALL – akutní lymfoblastická leukémie  
BMI – body mass index  
CD – Crohnova choroba  
CF – cystická fibróza  
DM1 – diabetes mellitus 1. typu  
ED – endoteliální dysfunkce  
FH – familiární hypercholesterolémie  
FMD – Flow Mediated Dilatation  
HbA1c – glykovaný hemoglobin  
HDL – lipoproteiny s vysokou denzitou  
hsCRP – vysoce senzitivní CRP  
IDL – lipoproteiny o střední hustotě  
IMT – Intima Media Thickness  
ISZ – idiopatický střevní zánět  
LDL – low density lipoprotein  
NO – oxid dusnatý  
RHI – reaktivní hyperemický index  
SD – směrodatná odchylka  
TCH – celkový cholesterol  
TG - triglyceridy  
VCAM, sVCAM – vaskulární adhezivní molekuly  
VLDL – lipoproteiny s velmi nízkou denzitou

## 13. Publikační činnost

### Články v impaktovaných časopisech

- **Masopustová A.**, Jehlička P., Huml M., Votava T., Trefil L., Kreslová M., Sýkora J.: Plethysmographic and Biochemical Markers in the Diagnosis of Endothelial Dysfunction in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia Survivors – New Applications, *Physiol. Res.* 67: 903-909, 2018 (**IFI.39**)
- Jehlička P., Huml M., Rajdl D., Mocková A., Matas M., Dort J., **Masopustová A.**: How to interpret elevated plasmatic level of high-sensitive troponin T in newborns and infants?, *Physiol. Res.* 67: 191-195, 2018

### Články v recenzovaných časopisech

- **Masopustová A.**, Jehlička P., Sýkora J., Huml M., Schwarz J., Trefil L.: Endoteliální dysfunkce u dětí s Crohnovou chorobou – kombinovaný diagnostický přístup. *Čes.-slov. Pediat.*, 2015, roč. 70, č. 1, s. 3-7
- Petro R., Malý T., Kupková S., Veselská K., Schwarz J., Pomahačová R., Kreslová M., **Masopustová A.**, Huml M., Sýkora J.: Zevně sekretorická insuficience pankreatu u dětí se syndromem horní mezenterální arterie – Wilkieho syndrom: následné ovlivnění metodou chirurgického zákroku, *Čs Pediatrie* 2017; 72(8) pp 478-488

### Články v ostatních časopisech

- Votava T., **Masopustová A.**, Černá Z., Hubáček P.: Virové infekce a nádory. *Onkologická revue*, 2016, s. 13-16

### Ostatní publikace

- **Masopustová A.**, Kreslová M., Sýkora J., Jehlička P., Trefil J., Kobr J.: Endothelial dysfunction in Children and Young Adults: A combined Diagnostic Approach of Plethysmographic and Biochemical Markers, *Advances in Health and Disease. Volume 6, Nova Science Publishers, 2018, Chapter 9, p. 189-202*

### Konferenční příspěvky, příspěvky ve sborníku

- **Masopustová A.**, Jehlička P., Sýkora J., Huml M., Votava T., Kobr J., Trefil L.: Endoteliální dysfunkce u dětí s akutní lymfoblastickou leukémií. Postgraduální lékařské dny, Plzeň, 2015
- **Masopustová A.**, Jehlička P., Sýkora J., Huml M., Votava T., Kobr J., Trefil L.: Hodnocení závažnosti endoteliální dysfunkce u dětí s ALL. Plzeňské pediatrické dny, Plzeň, 2015

- **Masopustová A.**, Jehlička P., Sýkora J., Huml M., Votava T., Kobr J., Trefil L.: Hodnocení závažnosti endoteliální dysfunkce u dětí s ALL. In: Sborník 55. studentské vědecké konference, str. 29. Studentská vědecká konference, Plzeň, 2015
- **Masopustová A.**, Skalická E.: Uveitida jako první příznak entezopatické JIA (ERA). In: Sborník XI. festival kazuistik, str. 61. Festival kazuistik, Luhačovice, 2015
- **Masopustová A.**, Lád V.: Komplikovaný průběh Henoch-Schönleinovy purpury. Plzeňské pediatrické dny, Plzeň, 2016
- **Masopustová A.**, Jehlička P., Kreslová M., Huml M., Sýkora J., Kobr J., Bittenglová R., Trefil L.: Hodnocení endoteliální funkce u pacientů s cystickou fibrózou. In: Sborník 56. studentské vědecké konference, str. 74. Studentská vědecká konference, Plzeň, 2016
- Kreslová M., **Masopustová A.**, Jehlička P., Huml M., Bittenglová R., Trefil L., Kobr J., Sýkora J.: Hodnocení endoteliální funkce u dětí a dospělých s cystickou fibrózou. Pediatrický kongres Hradec Králové, Hradec Králové, 2016
- Kreslová M., **Masopustová A.**, Jehlička P., Huml M., Trefil L., Sýkora J.: Nové možnosti diagnostiky endoteliální dysfunkce u dětí a dospělých s cystickou fibrózou – kombinovaný diagnostický přístup. Kongres dětské pneumologie, Praha, 2016
- **Masopustová A.**, Lád V., Skalická E., Sýkora J.: Bolest břicha jako první příznak systémového onemocnění. Festival kazuistik, Luhačovice, 2016
- **Masopustová A.**, Jehlička P., Sýkora J., Huml M., Schwarz J., Kobr J., Trefil L.: Endoteliální dysfunkce u dětí s Crohnovou chorobou - kombinovaný diagnostický přístup. In: Sborník 57. studentské vědecké konference, str. 44. Studentská vědecká konference, Plzeň, 2017
- Votava T., **Masopustová A.**, Doležalová L., Černá Z.: Paliativní péče v plzeňském regionu. XXVII. Konference dětských hematologů a onkologů České a slovenské republiky, Praha, 2017
- Votava T., **Masopustová A.**: Péče o umírající děti v plzeňském regionu. 51. česko-slovenské dny dětské neurologie, Plzeň, 2017
- Votava T., **Sýkorová A.**, Černá Z., Doležalová L.: Kazuistiky několika našich dětí v paliativní péči k zamyšlení, XXVIII. konference dětských hematologů a onkologů České a slovenské republiky, České Budějovice, 2018

## Postery

- **Masopustová A.**, Votava T., Černá Z., Jehlička P., Huml M., Sýkora J., Kobr J., Trefil L.: Endothelial dysfunction in children with ALL – a combined diagnostic approach. XXV. Konference dětských hematologů a onkologů, Brno 2015
- **Masopustová A.**, Votava T., Černá Z., Doležalová L.: Incidence dětských leukémií v Plzeňském a Karlovarském kraji v letech 2003-2016. XXVI. Konferencia dětských hematológov a onkológov Českej a Slovenskej republiky, Tále, 2016
- Kreslová M., **Masopustová A.**, Jehlička P., Huml M., Trefil L., Sýkora J.: Endothelial dysfunction in children and young adults with Cystic Fibrosis – a combined diagnostic approach of pletysmographic and biochemical markers: new applications. ERS International Congress London, London, 2016

- Kreslová M., **Masopustová A.**, Bittenglová R., Trefil L., Sýkora J.: Hodnocení endoteliální funkce u dětí a dospělých s cystickou fibrózou, kombinovaný diagnostický přístup. RECYF VII 2018

## 14. Curriculum vitae

**MUDr. Aneta Sýkorová (Masopustová)**

Datum narození: 30. 1. 1988

### 2007 – 2013

Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni – magisterský studijní program, všeobecné lékařství

### 2013 – dosud

Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni – doktorský studijní program, obor Pediatrie

- absolvovány povinné kurzy – Zdravotnická informatika, Úvod do vědecko-výzkumné práce a publikační činnosti, Lékařská statistika, PC, Transfer znalostí a technologií – Junior
- absolvována zkouška z anglického jazyka a průběžná zkouška na téma Endoteliální dysfunkce
- státní zkouška na téma Endoteliální dysfunkce jako časný projev aterosklerózy – metody invazivní a neinvazivní detekce aterosklerotických změn se zaměřením na dětský věk složena 13.2.2017

### 2013 – dosud

Dětská klinika, Fakultní nemocnice Plzeň – lékařka

- 11/2015 – ukončen základní kmen – Dětské lékařství
- 11/2018 – ukončeno specializační vzdělávání – atestační zkouška – Dětské lékařství
- od r. 2019 – vzdělávání v rámci certifikovaného kurzu Dětská onkologie a hematologie

### Zahraniční stáže:

- 8/2011 – Hospital Universitario Jose Eleuterio Gonzalez, Monterrey, Mexiko – klinická stáž
- 9-12/2011 – Faculty of Medicine, Aristotle University of Thessaloniki, Řecko – klinická stáž v rámci studijního programu ERASMUS
- 7-8/2013 – Hospital Infantil Joana de Gusmão, Florianópolis, Brazílie – klinická stáž