

Univerzita Karlova
Lékařská fakulta v Plzni

Disertační práce

Plzeň, 2020

MUDr. Marcela KRESLOVÁ

Univerzita Karlova

Lékařská fakulta v Plzni

Studijní program: Pediatrie

Kardiovaskulární rizika u chronického onemocnění dýchacích cest v dětském věku

Cardiovascular risks in chronic airway disease in childhood

Disertační práce

Školitel: prof. MUDr. Josef Sýkora, PhD.

Plzeň, 2020

MUDr. Marcela Kreslová

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 své práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Plzni, 5.1.2020

Marcela Kreslová

Podpis

Poděkování

Úvodem bych chtěla poděkovat svým kolegům lékařům Dětské kliniky a Kliniky pneumologie a ftizeologie Fakultní nemocnice Plzeň.

Mé poděkování patří především MUDr. Anetě Sýkorové, PhD. za cenné rady při získávání dat a zpracovávání výsledků.

MUDr. Radce Bittenglové a MUDr. Olze Kirchnerové, PhD. upřímně děkuji za jejich neskonalou podporu, ochotu kdykoli pomoci a přátelství, bez nichž bych nemohla rozšířit soubor dat a získat tak možnost srovnání s dospělou populací.

Velice děkuji svým kolegům kardiologům MUDr. Petru Jehličkovi, PhD. a MUDr. Michalu Humlovi, PhD. za poskytnuté materiály a rady při zpracovávání výsledků.

Mé velké poděkování patří prof. MUDr. Jiřímu Kobrovi, PhD., který mě vedl v prvních letech doktorského studia, přispěl k velkému obohacení mého profesního života zasvěcením do tajů intenzivní medicíny a provázel mě vždy s velkým nasazením a ochotou v mých vědeckých začátcích.

Mé největší poděkování patří přednostovi Dětské kliniky LF UK Plzeň prof. MUDr. Josefu Sýkorovi, PhD. za obrovskou podporu, motivaci, správné nasměrování a ochotu vždy poradit a pomoci, za jeho cenné rady a pomoc, které mě provázely během celého doktorského studia.

Disertační práce by nevznikla bez pomoci ing. Ladislava Trefila, kterému upřímně děkuji za imunoanalytické zpracování materiálu. Současně děkuji ing. Stanislavu Kormundovi za zasvěcení do statistické problematiky, za statistické zpracování výsledků a zvláště za jejich interpretaci.

Velký dík patří i mé rodině za toleranci a podporu během studia.

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

OBSAH

1. Úvod	6
2. Současný pohled na vybraná chronická zánětlivá onemocnění dýchacích cest v dětském věku.....	7
2.1. Cystická fibróza	7
2.2. Asthma bronchiale	8
2.3. Kardiovaskulární komplikace	10
3. Aterogeneze	14
3.1. Kardiovaskulární onemocnění a jeho rizikové faktory	14
3.1.1 Možnosti ovlivnění kardiovaskulárního rizika	17
3.2. Ateroskleróza v dětském věku	17
3.3. Endotel – definice a funkce.....	21
3.4. Endoteliální dysfunkce.....	22
3.4.1 Definice	22
3.4.2 Možnosti detekce endoteliální dysfunkce.....	25
4. Cíle disertační práce	29
4.1. Pracovní hypotéza.....	29
4.2. Primární cíle	29
4.3. Sekundární cíle.....	30
5. Metody vyšetření.....	31
5.1. Měření RHI	31
5.2. Laboratorní metody.....	34
5.3. Statistická analýza.....	35
5.4. Etické aspekty	36
6. Soubory pacientů	37
6.1. Cystická fibróza - děti	37
6.2. Cystická fibróza - děti a dospělí	38
6.3. Asthma bronchiale	38
6.4. Kontrolní soubor	39
7. Výsledky	40
7.1. Demografická data.....	40
7.1.1 Cystická fibróza – děti.....	40
7.1.2 Cystická fibróza - děti a dospělí	43

7.1.3	Asthma bronchiale	45
7.2.	Hodnocení funkce endotelu a stanovení míry rizika endoteliální dysfunkce v jednotlivých skupinách.....	49
7.2.1	Cystická fibróza	49
7.2.2	Asthma bronchiale	65
8.	Diskuze	78
9.	Závěr a doporučení pro praxi	84
10.	Souhrn	85
11.	Summary	87
12.	Literatura.....	89
13.	Přehled publikační činnosti autora	99
14.	Seznam použitých zkratk	104

1. Úvod

Jedním z hlavních důvodů předčasného úmrtí v Evropě i ve světě jsou kardiovaskulární onemocnění (KVO) způsobená aterosklerózou, a to i přesto, že mortalita v důsledku KVO v posledních letech výrazně poklesla [13]. Snaha o snížení mortality obrací pozornost lékařské i laické veřejnosti primárně k prevenci, jejímž základem je aktivní vyhledávání nemocných s vyšším rizikem vzniku KVO.

Endoteliální dysfunkce (ED) je časným funkčním preklinickým projevem aterosklerózy a zaujímá klíčovou roli v rozvoji hypertenze a srdečního selhání [35]. Morfologické změny lze prokázat již v dětském věku, kdy klinické projevy bývají ještě zcela minimální [79]. Z toho vyplývá maximální snaha o časný záchyt patologických stavů již v časně reverzibilní fázi bez rozvinuté manifestní formy aterosklerózy s cílem oddálit nebo lépe i zabránit manifestaci aterosklerózy.

Vzhledem k vysoké morbiditě a mortalitě na KVO došlo v posledních letech k intenzivnímu zkoumání nových vyšetřovacích možností, které umožňují diagnostikovat patologické procesy již v presymptomatické fázi aterosklerózy. Z tohoto důvodu se stal endotel tématem řady výzkumných studií, mezi které se řadí i tato práce.

Zvýšení rizika rozvoje KVO souvisí se systémovým zánětem a protrombotickým stavem. Mezi riziková onemocnění s ohledem na předčasnou manifestaci aterosklerózy patří chronická zánětlivá a autoimunitní onemocnění, zvláště familiární hypercholesterolemie, diabetes mellitus, obezita, revmatologická onemocnění či renální insuficience. Vedle těchto rizikových skupin se nově objevuje skupina nemocných s nespecifickým střevním zánětem (ISZ) či chronickým onemocněním dolních dýchacích cest, zvláště cystickou fibrózou a asthma bronchiale.

2. Současný pohled na vybraná chronická zánětlivá onemocnění dýchacích cest v dětském věku

2.1. Cystická fibróza

Cystická fibróza (CF) je nejčastější vrozené letální onemocnění bělošských populací, autozomálně recesivně dědičné, s incidencí v ČR 1:6330 živě narozených dětí [93]. Jedná se o závažné chronické multiorgánové onemocnění způsobené mutacemi genu pro transmembránový regulátor vodivosti (CFTR), s věkem progredující, které představuje celosvětově medicínsky i sociálně ekonomicky závažný problém vzhledem k vysokým nákladům na prevenci a léčbu CF.

Péče o nemocné s CF je v České republice vázána na pět specializovaných pracovišť, z nichž jedno tvoří pracoviště ve FN Plzeň. CF již není onemocněním jen dětského věku. V České republice je vedeno 314 nemocných (48,9 %) starších 18 let z celkového počtu 642 žijících registrovaných pacientů s CF [18].

V současnosti je známo více než 2000 mutací genu CFTR, které mají různě závažný klinický význam. Mutace I. až III. třídy patří mezi tzv. těžké, které vyvolávají klasický obraz onemocnění a manifestují se již časně v dětském věku neprospíváním či chronickým zahleněním s opakovanými respiračními infekty. Nejčastější z tzv. těžkých mutací je F508del, která je přítomna na 71 % chromozomů české populace s CF. Patří do II. třídy mutací CFTR genu a je spojena s poruchami nitrobuněčného transportu a vyzrávání CFTR proteinu.

Mezi hlavní klinické symptomy CF patří chronické sinopulmonální onemocnění, postižení trávicího ústrojí s poruchou výživy, vysoká koncentrace chloridů v potu a obstrukční azoospermie. Postižení dýchacího ústrojí je přítomno u všech nemocných a podílí se 95 % na celkové mortalitě.

Typickými CF patogeny v dýchacích cestách jsou *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Burkholderia cepacia*.

Potní test zůstává zlatým diagnostickým standardem i po zavedení novorozeneckého screeningu.

Ke zlepšení prognózy CF nemocných došlo po zavedení novorozeneckého screeningu s možností časného zahájení komplexní terapie a také v souvislosti s možnostmi nové terapie modulátory CFTR proteinu. Vzhledem k velkým pokrokům v léčbě onemocnění v posledních letech bylo dosaženo významného zlepšení kvality i

prodloužení délky života nemocných. CF stále patří mezi nevléčitelné nemoci. Vývoj nemoci nelze predikovat ani při stále se zlepšujících diagnostických možnostech.

V České republice jsou aktuálně registrovány tři vysoce inovativní léky patřící do skupiny tzv. orphan drugs, které znamenají průlom v léčbě CF pro nemocné s daným genotypem splňující minimální věkovou hranici 2 let, neboť terapeuticky ovlivňují defektní CFTR protein jako korektory či potenciátory (ivacaftor, lumacaftor, tezacaftor). Nevýhodou bránící širšímu zavedení této tzv. kauzální terapie CF do praxe je její vysoká finanční náročnost. Efekt nově užívané terapie modifikující onemocnění potvrzují závěry řady studií [61, 100, 105, 118].

CF bývá spojena s vyšším rizikem kardiovaskulárního onemocnění. Řada vědeckých prací se věnovala prevalenci subklinické aterosklerózy u nemocných s CF [8, 94, 103, 124], ale žádný z dosud provedených výzkumných záměrů zatím nehodnotil endoteliální funkci kombinací pletysmografického a biochemického vyšetření.

2.2. Asthma bronchiale

Astma je celosvětově nejčastější chronické respirační onemocnění nejen dětského věku. Prevalence astmatu je vysoká, vyskytuje se častěji u dětí než v dospělosti. Postihuje celosvětově 300 milionů lidí. Prevalencí astmatu se řadíme k zemím s průměrným počtem onemocnění, úmrtností na astma patříme k zemím s nejnižším počtem úmrtí. Celosvětově astma postihuje více než 8% osob a častěji postihuje ženy než muže v poměru 1,5:1 [93]. Ve Spojených státech v současné době astma postihuje téměř 8,6% dětí a 7,4% dospělých [12]. Jedná se o celosvětově obtížný zdravotní problém všech věkových skupin s rostoucími výdaji na léčbu [32].

Astma řadíme mezi chronická zánětlivá onemocnění dýchacích cest spojená s variabilní reverzibilní obstrukcí průdušek s typickými klinickými symptomy. Projevuje se opakovanými stavy hvízdání (wheezingu), kašle, výdechové dušnosti nebo pocitem tíže na hrudi. Již v dětském věku lze prokázat remodelační změny ve stěně průdušek [17].

Pískoty a vrzoty jsou typické pro astma, ale jejich nepřítomnost astma nevyklučuje. Diagnostika astmatu v časném věku je obtížná především vzhledem k atypickým projevům nemoci a obtížnosti provedení funkčního plicního vyšetření u nespolupracujících dětí. Důležitá je klinická klasifikace astmatu podle tíže nemoci, podle úrovně kontroly, se snahou o fenotypizaci onemocnění. Právě určení fenotypu je důležité pro optimální

léčebnou strategii. Dle fenotypu se astma dělí do čtyř skupin: eosinofilní alergické a nealergické, noneosinofilní a neurčené astma.

Se zlepšujícími se možnostmi diagnostiky astmatu souvisí i neinvazivní vyšetření frakce oxidu dusnatého ve vydechovaném vzduchu (FeNO), které koreluje s intenzitou endobronchiálního alergického zánětu. FeNO je důležité pro diagnostiku i dlouhodobé monitorování úrovně kontroly nad astmatem. Hodnoty FeNO > 50 ppb jsou projevem přítomného eozinofilního bronchiálního zánětu. Hodnoty v šedé zóně 35 – 50 ppb obvykle naznačují existenci eozinofilního zánětu [28].

Astma patří mezi často poddiagnostikované onemocnění, pozdě či nedostatečně léčené. Cílem léčby je dosažení a udržení plné kontroly nad nemocí s minimalizací budoucího rizika [1, 116]. Astma nelze zcela vyléčit, je to celoživotní onemocnění, ale lze dosáhnout u více než třetiny pacientů plné kontroly nad onemocněním a u většiny nemocných je reálné dosažení dobré kontroly [91]. K posouzení aktuální kontroly nad astmatem se využívá pětibodový mezinárodní standardizovaný písemný dotazník – test kontroly astmatu (TKA). Hodnotí především příznaky nemoci během posledních čtyř týdnů. Při dosažení maximálního počtu 25 bodů je dosaženo plné kontroly nad nemocí, naopak TKA < 20b znamená nedostatečnou kontrolu nad astmatem.

Včas diagnostikované a léčené astma má při dobré compliance většinou dobrou prognózu, výjimkou jsou stavy obtížně léčitelného astmatu, respektive těžkého refrakterního onemocnění. Určení tíže nemoci závisí na intenzitě terapie nutné k dosažení a následně i udržení plné kontroly. Dle tíže astmatu dělíme onemocnění na intermitentní a perzistující lehké, středně těžké a těžké. [21, 54]. Těžké refrakterní astma (TRA) je stav, kdy ani maximální dávky antiastmatické terapie nevedou k dosažení kontroly nad nemocí při současné léčbě komorbidit při dobré compliance pacienta, nebo jsou přítomny nežádoucí účinky zejména celkové kortikoterapie a trvá tak nedostatečná kontrola nad astmatem, jejíž příčinou je skutečná tíže astmatu [6, 120]. Biologická léčba monoklonální protilátkou (většinou anti-IgE léčba Omalizumabem) je indikována u nemocných s těžkým perzistujícím alergickým astmatem [44].

Astma je spojeno s vyšším rizikem kardiovaskulárního onemocnění. Ačkoli se řada studií zabývala prevalencí subklinické aterosklerózy u nemocných s astmatem [65, 66, 87], dle dostupných literárních dat zatím žádná z nich nehodnotila endoteliální funkci kombinací pletysmografického a biochemického vyšetření.

2.3. Kardiovaskulární komplikace

Nejčastější kardiovaskulární komplikací CF je cor pulmonale. V etiologii cor pulmonale se nejvíce uplatňuje zvýšený tlak v arteria pulmonalis v důsledku chronické nebo opakované hypoxie při progredujícím plicním postižení, plicní hypertenzi, dále též ostatní faktory, které vedou ke zhoršení plicní hemodynamiky. Nepříznivým faktorem podílejícím se na vzniku této komplikace jsou i opakované exacerbace respirační infekce. Plicní hypertenze se vyskytuje asi u jedné třetiny nemocných s CF [128].

Vzácnou komplikací, převážně u nemocných s dosud nedagnostikovanou CF, je difuzní fibróza myokardu neboli dilatační kardiomyopatie. Jedná se o mnohočetná izolovaná ložiska nekrózy, fibrózy myokardu bez zánětlivých změn postihující především střední části dilatované levé komory. Etiologie není zcela objasněna, roli hraje nedostatek selenu i porucha pankreatu. Je to velmi vzácná komplikace, která se manifestovala většinou náhlým úmrtím u ještě ne diagnostikovaných nemocných v minulosti. Na tomto místě je důležité připomenout výhody zavedeného celoplošného novorozeneckého screeningu v naší zemi (1.10. 2009).

U všech pacientů s CF dispenzarizovaných na specializovaných pracovištích se provádějí v rámci pravidelných ambulantních kontrol vyšetření sloužící ke zhodnocení aktuálního stavu nemocného i k časné detekci komplikací základního onemocnění. Mezi standardně užívané diagnostické metody v souvislosti s prevencí KVO řadíme kromě laboratorních vyšetření i rentgenové vyšetření hrudníku, měření saturace krve kyslíkem s eventuálním následným vyšetřením acidobazické rovnováhy, elektrokardiografické a echokardiografické vyšetření.

CF se řadí k nemocem, které jsou spojeny s vyšším rizikem kardiovaskulárního onemocnění. Z dosud publikovaných studií nemáme k dispozici dostatečné informace o funkci endotelu u CF, zvláště v dětském věku. Předpokládáme dlouhodobě negativní vliv chronického zánětlivého procesu na cévní vlastnosti v kombinaci s oxidačním stresem vedoucí k nízké biologické dostupnosti NO [36]. Další faktorem zvyšujícím riziko KVO u CF může být hyperalimentace, kterou standardně všem nemocným s tímto chronickým plicním onemocněním doporučujeme k udržení optimálního stavu výživy, který sekundárně vede ke zpomalení progresu plicních změn i kolonizace typickými patogeny pro CF, zvláště *Pseudomonas aeruginosa*, neboť tyto změny korelují s nutričním stavem nemocného. U některých pacientů, zvláště dospívajících, se setkáváme ale až s neúměrně vysokým kalorickým příjmem s vysokým obsahem monosacharidů vedoucím k nadváze až obezitě s poruchou glukózové tolerance. Pravidelná, byť i minimální, fyzická

aktivita podle individuální tolerance nemocného s CF zvláště v dětském věku, kdy je většinou dobrá kompenzace onemocnění, se ukazuje i s ohledem na riziko KVO jako nezbytná.

Dalším, v posledních letech zkoumaným faktorem v souvislosti s kardiovaskulárním rizikem u CF, je oxidační stres. Výsledky prací Kettle et al. a Hector et al. dokládají, že oxidační stres hraje důležitou roli v patogenezi poškození plic u pacientů s CF již v raném věku [37, 56]. Tímto tématem se ve své práci zabývá také Reverri et al. Ve své studii hodnotí u 36 dospělých nemocných s CF, z nichž 23 užívalo Azithromycin, biomarkery zánětu (CRP, interleukin 6, tumor nekrosis faktor alfa) a parametry oxidačního procesu ve vztahu k léčbě Azitromycinem, který má protizánětlivý a antimikrobiální účinek. Studie prokázala zvýšené markery zánětu se současně nižšími hladinami vitaminů D a u nemocných s CF. Pacienti na léčbě Azitromycinem měli primárně závažnější klinické a radiologické nálezy. Terapie Azitromycinem neovlivnila oxidační parametry, ale vedla k nižší hladině zánětlivého markeru tumor nekrosis faktoru alfa. Pankreatická insuficience u CF bývá spojena s nerovnováhou oxidantů a antioxidantů [101]. Makrolidová antibiotika ovlivňují zánětlivý proces, zvláště produkci prozánětlivých cytokinů, oxidační vzplanutí ve fagocytech a migraci neutrofilů [96].

Oxidačním stresem ve vztahu k ED u CF, konkrétně možností zlepšení endoteliální funkce užitím antioxidantů u 18 pacientů s CF ve věku 8-39 let, se zabývá i studie Tucker et al., která hodnotila ED pomocí FMD před a dvě hodiny po podání antioxidantního koktejlu skládajícího se z vitaminu C, E, kyseliny alfa-lipoové s hodnocením změny sérových koncentrací α -tokoferolu a lipidového hydroperoxidu. Průkazem zvýšení FMD potvrdili, že podání antioxidantního preparátu může zlepšit endoteliální funkci a snížit oxidační stres u pacientů s CF, což potvrzuje tvrzení, že oxidační stres je klíčovým faktorem vzniku ED u CF [124]. Oxidačními plazmatickými biomarkery se ve své studii zabývá i Oliveira et al. [85].

Poore et al. ve studii hodnotí u 15 pacientů s CF ve věku 7-18 let endoteliální funkci neinvazivně metodou FMD. Prokázal ED u mladých pacientů s CF, kteří měli dobrou kompenzaci základního onemocnění, dále vyšší hladiny parametru zánětlivé aktivity (hsCRP), které nepřímo úměrně korelovaly s plicními funkcemi [94]. Mezi hladinami hsCRP a měřením ED metodou FMD nebyla prokázána signifikantní korelace. Poruchu dilatace hodnocenou FMD u CF objasňuje Cross et al. abnormální aktivitou NO syntázy [15].

Důležitost zkoumání rizikových faktorů ED a komorbidit u CF souvisejících s věkem včetně KVO vyzdvihuje ve své práci Cross et al. právě v souladu se zlepšující se kvalitou života a prodlužováním délky života CF nemocných, kteří nyní žijí ve středním věku [15]. Mezi rizikové faktory, které svědčí pro vyšší kardiovaskulární riziko u starších pacientů s CF, patří pankreatická insuficience vedoucí k větší náchylnosti nemocných k nedostatku antioxidantů a vitaminů rozpustných v tucích, navzdory substituci. Mezi další faktory patří zvláště nižší hladina HDL cholesterolu, omega 3 mastných kyselin, zvýšení kyseliny arachidonové a poruchy metabolismu cholesterolu [29]. Diabetes vázaný na CF je považován za významný rizikový faktor patogeneze ED a aterosklerózy [15].

Ve své studii zahrnující 108 pacientů s CF Nowak et al. potvrdil vyšší hladiny sVCAM-1 u CF v porovnání se zdravými kontrolami, naopak neprokázal rozdíl v hladinách P-selektinu [83].

Asthma bronchiale patří mezi chronická zánětlivá onemocnění dýchacích cest a stejně jako CHOPN [24], deficit α 1-antitrypsinu [27] a CF [15], je spojeno s vyšším rizikem KVO [87, 65]. Jak dokládá multicentrická studie zahrnující 495 024 probandů, z toho 218 096 pacientů s astmatem, je astma, a to zvláště u žen, spojeno s vyšším výskytem ischemické choroby srdeční (ICHS) [66]. Jedná se o první metaanalýzu zkoumající vztah mezi astmatem a výskytem ICHS. Z výsledků vyplývá, že astmatici mají 1,42 krát vyšší riziko ICHS a že toto riziko je vyšší u žen. Incidence KVO u nemocných v tomto souboru byla 4,5 %, současně nebyl prokázán vliv BMI na vyšší kardiovaskulární riziko u žen, protože toto vyšší riziko se nezměnilo po vyloučení žen s vyšším BMI ze studie. Již Iribarren et al. zjistil, že astma je spojeno se zvýšeným rizikem ICHS u žen, ale neprokázal korelaci mezi astmatem a výskytem ICHS u mužů [47]. Lee et al. při vyšetření 16 943 amerických dospělých s astmatem prokázal vztah onemocnění k vyššímu výskytu ICHS [65].

Zatím nejsou zcela objasněny mechanismy korelace astmatu s rizikem KVO, ale roli hraje chronický systémový zánět s mediátory, jako je C-reaktivní protein, interleukin 6, interleukin 1, tumor nekrotizující faktor alfa a faktor aktivující destičky, u kterých je prokázán vztah k zánětlivým cévním změnám a ateroskleróze [57, 102, 117, 143]. Zánětlivé arteriální změny jsou vyšší u pacientů s astmatem oproti zdravým jedincům [130]. Dalším faktorem podílejícím se na patofyziologii KVO u astmatu může být kortikoterapie, která může zvyšovat riziko KVO [133]. Zhoršená funkce plic u pacientů s astmatem také přispívá k riziku KVO. Lee et al. potvrdili nepřímou úměru vztahu plicních funkcí k výskytu KVO u nemocných s asthma bronchiale [64]. Dalším zajímavým faktorem je vliv pohlaví, kdy u žen s astmatem je vyšší riziko KVO. Nabízí se vliv estrogenu [55].

Navíc stejně jako u jiných zánětlivých imunitních chorob, například ISZ a revmatoidní artritidy, jsou častěji postiženy ženy a současně jsou spojeny s podstatně vyšším rizikem KVO [70, 110]. Dalším vlivem ve vztahu rozdílu pohlaví k incidenci KVO může být stav výživy, protože ženy s astmatem mívají vyšší BMI než muži s astmatem [10], což potencuje riziko KVO. V rozporu k tomuto tvrzení stojí ale výsledky Huai Liu et al. [66].

3. Aterogeneze

Aterogeneze začíná za přítomnosti rizikových faktorů již v dětském věku. Nejzávažnějším rizikovým faktorem aterogeneze jsou dyslipoproteinemie. Počátky aterosklerózy jsou detekovatelné již prenatálně.

Aterogeneze je proces vzniku aterosklerózy (AS), ve kterém důležitou roli hraje poškození endotelu - endoteliální dysfunkce, a to v kombinaci s ostatními faktory, mezi které řadíme hlavně dyslipoproteinemii, zánětlivé procesy, protrombotické stavy, hyperinzulinemii, stres, kouření, obezitu, hypertenzi, ale existují i hypotézy o infekčním vlivu na vznik AS. Některá onemocnění, zvláště CF, mají svá specifika týkající se rizikových faktorů aterogeneze.

3.1. Kardiovaskulární onemocnění a jeho rizikové faktory

Kardiovaskulární onemocnění (KVO) na podkladě aterosklerózy řadíme k hlavním příčinám předčasného úmrtí. Mortalita na KVO v Evropě klesá, ale zůstává vysoká ve východní části kontinentu. Na KVO umírá v Evropě 42% žen a 38% mužů do 75 let. V České republice stále patří KVO k hlavním příčinám mortality i morbidity, a to zejména ischemická cévní mozková příhoda a ICHS. Hlavním rizikovým faktorem úmrtí na KVO je obezita při prokázaném vztahu přímé úměry mezi BMI a celkovou mortalitou. Nejúčinnějším a zároveň nejlevnějším přístupem vedoucím ke snížení mortality a morbidity na KVO jsou preventivní opatření [26] zaměřená na aktivní vyhledávání rizikových asymptomatických jedinců. Režimovými opatřeními, zvláště změnou životního stylu, lze předejít 75 % úmrtí na KVO [13].

V prevenci KVO je nejdůležitější včasné rozpoznání rizikových faktorů. Každý rizikový faktor, pokud není léčen, může sám o sobě vést ke vzniku KVO. U nemocných s více rizikovými faktory platí, že negativní efekt jednotlivých faktorů se nesčítá, ale násobí. Proto se v rámci primární i sekundární prevence KVO snažíme o eliminaci všech existujících rizikových faktorů. U zdánlivě zdravých dospělých bez manifestního KVO je kardiovaskulární riziko nejčastěji výsledkem řady vzájemně působících rizikových faktorů.

Mezi rizikové faktory KVO patří [13]:

- nadváha a obezita (hlavně abdominální)
- nedostatek pohybové aktivity
- kouření cigaret v jakémkoliv množství
- arteriální hypertenze
- dyslipidémie (zvláště zvýšení celkového a LDL cholesterolu, hypertriglyceridémie a nízká hladina HDL cholesterolu)
- nevhodná strava (nadbytek alkoholu a transnenasycených mastných kyselin)
- psychosociální faktory (stres, deprese, úzkost)
- diabetes mellitus 2. typu
- věk

Mezi neovlivnitelné rizikové faktory patří věk (s vyšším věkem se zvyšuje rizikovitost), mužské pohlaví (častěji jsou postiženi muži) a genetické faktory (např. familiární hypercholesterolemie a dyslipoproteinémie), přičemž pozitivní rodinná anamnéza předčasné manifestace KVO znamená výskyt náhlé smrti nebo infarktu myokardu u otce nebo prvostupňového příbuzného mužského pohlaví do 55 let věku a výskyt náhlé smrti nebo infarktu myokardu u matky nebo prvostupňových ženských příbuzných do 65 let [20], dle Vráblíka et al. se jedná o věk do 45 let u mužů a u žen do 55 let [131]. Mezi hlavní ovlivnitelné faktory řadíme dyslipidémie, obezitu zvláště abdominálního typu, metabolický syndrom, nízkou fyzickou aktivitu, kouření, arteriální hypertenzi, diabetes mellitus zvláště 2. typu, stres.

Výsledky vědeckých prací potvrzují, že chronická zánětlivá onemocnění spojená s aktivací systémových zánětlivých biomarkerů, jako je periodontitida [58, 122], HIV infekce [115, 126], nespecifická zánětlivá střevní onemocnění [48, 108], revmatoidní artritida [40, 75], psoriáza [74] či systémový lupus erythematodes [78] jsou spojena se zvýšeným výskytem KVO.

Onemocnění dýchacích cest patří do této řady chronických zánětlivých onemocnění. Řadíme mezi ně chronickou obstrukční plicní nemoc [24], nedostatek alfa1-antitrypsinu [27], astma v dospělosti [65, 87] i CF [15]. Také obstrukční spánková apnoe (OSA) je spojena se zvýšeným úmrtím na KVO [84]. Navzdory intenzivnímu systémovému zánětlivému procesu s aktivací systémových zánětlivých markerů byla dosud věnována malá pozornost zaměřená na výskyt KVO u pacientů s CF. Důležitost zkoumání rizikových faktorů ED a komorbidit u CF souvisejících s věkem včetně KVO vyzdvihuje ve své práci

Cross et al. právě v souladu se zlepšující se kvalitou života a prodlužující se délkou života CF nemocných, kteří nyní žijí ve středním věku [15]. Většina chronických zánětlivých onemocnění je spojena s oxidačním stresem, ED a vyšším rizikem KVO. S prodlužující se délkou života nemocných s CF můžeme u CF očekávat komorbidity dospělých umocněné chronickým systémovým zánětlivým procesem v kombinaci s protrombotickým stavem a oxidačním stresem. Dospělí s CF mají řadu hlavních proaterogenních rizikových faktorů KVO [101]. Mezi hlavní rizikové faktory s ohledem na KVO u CF řadíme systémový zánětlivý proces, oxidační stres, protrombogenní faktory, dyslipidémii – zvláště snížení HDL a omega3 mastných kyselin, stravu s vysokým obsahem tuků, endoteliální dysfunkci, relativně nízkou fyzickou aktivitu nemocných, diabetes vázaný na CF a stavy po transplantaci.

Současná literární data ukazují, že dospělí pacienti s CF mají známky ED jakožto preklinického stadia aterosklerózy a KVO. Spektrém rizikových faktorů KVO u CF v porovnání s běžnou populací se zabývá Reverri et al. (Obr. 1) [101]. Obecně je za hlavní rizikový faktor vzniku KVO považována obezita, ale u CF nemocných v dospělosti je většinou stav výživy horší v porovnání s běžnou populací [101].



Obr. 1. Kardiovaskulární rizikové faktory u CF

3.1.1 Možnosti ovlivnění kardiovaskulárního rizika

Cystická fibróza zvláště v dospělém věku a těžší formy asthma bronchiale představují zvýšené riziko KVO. Kardiovaskulární riziko u CF a astmatu je, dle našeho předpokladu, heterogenní a zvyšuje se s věkem a tíží nemoci.

Některé rizikové faktory KVO lze příznivě ovlivnit časnou prevencí a léčbou a zlepšit tak prognózu nemocných s těžkým astmatem či CF. Poklesu morbidity i mortality na KVO můžeme dosáhnout léčbou hypertenze, obezity, dyslipidémie, ale zejména personalizovaným přístupem k vlastní terapii základního onemocnění zvláště nemocných s nestabilní formou astmatu či těžkým průběhem CF. V tomto směru nám pomáhají nové terapeutické možnosti, zejména biologická léčba těžkých forem astmatu a využití modulátorů CFTR v léčbě CF. Důležitá je i motivace nemocných k pohybové aktivitě podle individuální tolerance.

3.2. Ateroskleróza v dětském věku

Ateroskleróza je chronické zánětlivé onemocnění cévní stěny, které se vyvíjí již od dětského věku, a to nejprve asymptomaticky. Manifestuje se později až ve středním nebo vyšším věku nejčastěji infarktem myokardu, cévní mozkovou příhodou nebo klinicky zřetelným postižením dalších velkých cév. Jedním z nejvýznamnějších rizikových faktorů AS jsou dyslipoproteinemie [20]. Jedná se o poruchy transportu a metabolismu lipoproteinů, projevující se abnormálními hladinami lipidů. Výrazný aterogenní charakter mají stavy spojené s vysokou hladinou celkového cholesterolu, LDL cholesterolu a nízkou koncentrací HDL cholesterolu. V dětské populaci se nejčastěji používá klasifikace primární dyslipoproteinémie podle Kwiteroviche et al. Do této skupiny patří poruchy metabolismu LDL, HDL, dále VLDL a chylomikronů. V dětském věku je hypercholesterolemie většinou způsobena zvýšenou hladinou LDL cholesterolu (familiární hypercholesterolemie a hyperapobetalipoproteinemie), někdy v kombinaci s hypertriacylglycerolemií (familiární kombinovaná hyperlipidemie).

Získané neboli sekundární dyslipoproteinemie vznikají na podkladě jiného onemocnění (nejčastěji se jedná o endokrinopatie, onemocnění ledvin a jater), nesprávnou životosprávou, zejména nevhodnou výživou v kombinaci s nedostatkem

fyzické aktivity. [114]. Další rizikové faktory v dětském věku specifikuje Bogalusa Heart Study [30].

V patogenezi aterosklerózy hrají rozhodující roli zánětlivé procesy zprostředkované různými zánětlivými mediátory [99, 138]. Vazbou zánětlivého procesu s poruchou lipidového metabolismu v patogenezi AS se zabývá Weber [132].

AS je v podstatě imunitně zánětlivým procesem (jedná se o chronické zánětlivé a proliferativní reakce endotelu a intimy) vznikajícím v důsledku poškození intimy cév. AS je chorobou LDL cholesterolu. Aterogenní účinek nemají samotné LDL částice, ale jen částice modifikované, a to nejčastěji oxidací. Oxidace LDL probíhá hlavně v cévní stěně, vysoký titr oxidovaných LDL je spojen s těžšími formami aterosklerózy. Oxidované LDL částice se vážou na makrofágy s následným vznikem pěnových buněk. Kromě toho aterogenní efekt oxidovaných LDL spočívá i v jejich biologických a prozánětlivých vlastnostech. Mezi hlavní biologické účinky patří stimulace vzniku makrofágů, proliferace hladké svaloviny cévní stěny, poškozování endotelu a snižování exprese genu pro endotelovou NO-syntázu s následným snížením NO vedoucím k vasokontrikci. Mezi hlavní prozánětlivé účinky oxidovaných LDL patří stimulace produkce volných radikálů vedoucích k zánětlivé reakci a podpora adheze leukocytů [99].

Vývoj aterosklerotické léze je dlouhodobým procesem, s charakteristicky dlouhým obdobím bez klinické symptomatologie. V počáteční fázi aterosklerózy se uplatňují především LDL částice, které mohou pronikat jen poškozeným endotelem. Naproti tomu HDL částice mají antiaterogenní účinek v důsledku zpětného transportu cholesterolu z cévní stěny do jater, antioxidačního, protizánětlivého a antiagregačního účinku [41].

Salonen et al. prokázal u pacientů s ICHS nepřímou úměru FeNO s některými rizikovými markery aterosklerózy, a to s plazmatickou koncentrací triglyceridů a glykovaného hemoglobinu v krvi, ale bez prokázané souvislosti se zánětlivými nebo jinými biomarkery, nejspíše na podkladě ED s následně sníženou produkcí a zvýšenou degradací NO při hyperglykémii a vyšších koncentracích triglyceridů [106].

Histologicky se podle American Heart Association dělí aterogeneze do šesti fází [113] (Obr. 2).

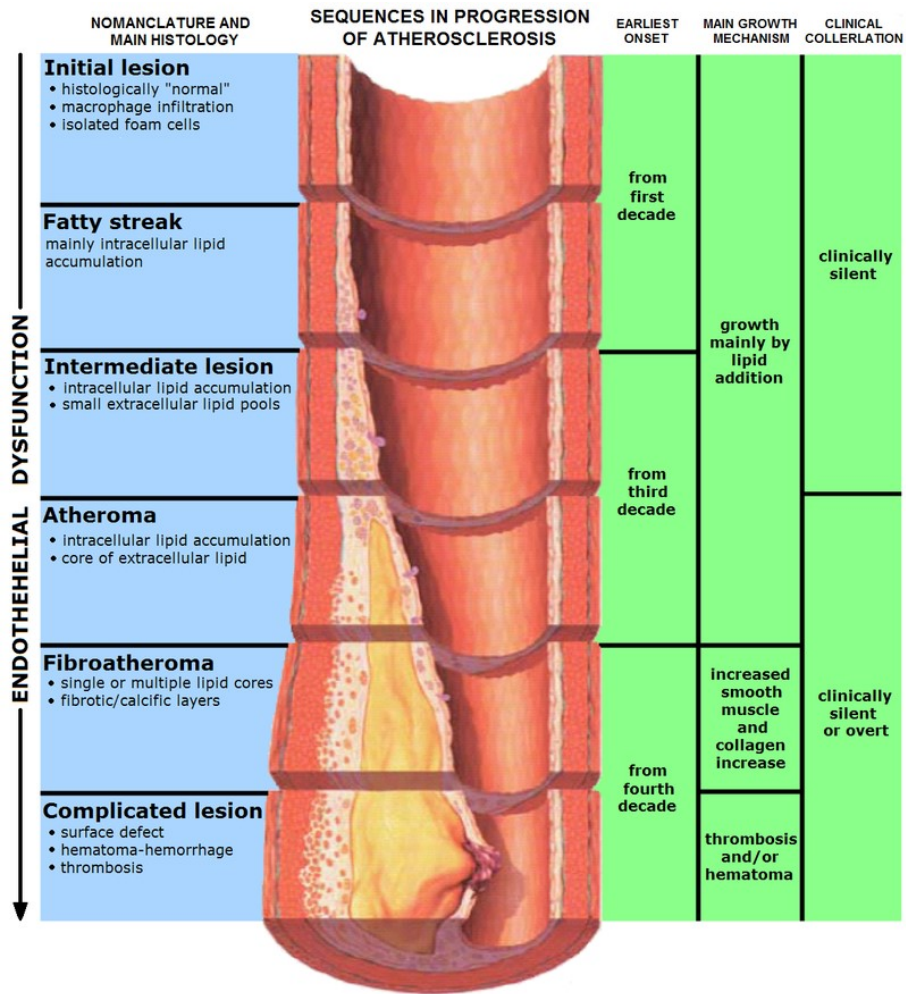
Časná fáze je charakterizována hromaděním lipidů.

- *Iniciální léze* se záchytem leukocytů na povrchu endotelu, změnou propustnosti endotelu s následným průnikem LDL. Makrofágy fagocytující LDL částice dávají vznik pěnovým buňkám.
- *Tukové proužky* vznikají hromaděním pěnových buněk s intracelulárně uloženými lipidy. V této fázi může dojít k progresi i regresi.
- Intermediární léze neboli preaterom
- *Aterom* vedoucí k výraznému zúžení lumen arterie

Pozdní fáze je charakterizována proliferací intimy s nasedající trombózou.

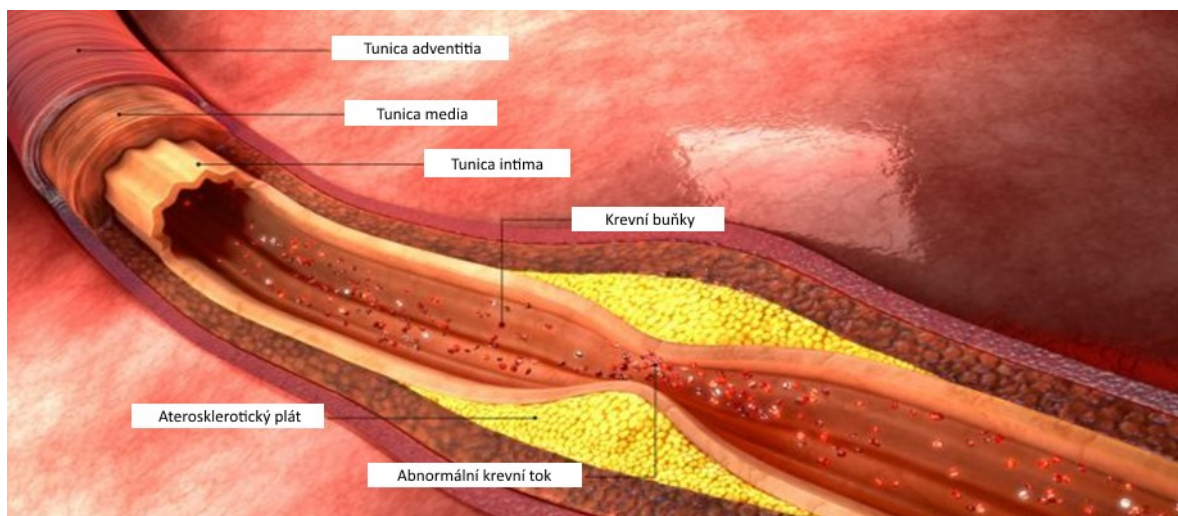
- *Fibroaterom* – proliferace buněk hladké svaloviny v intimě a zvýšená tvorba vaziva s převahou kolagenu nad lipidovým jádrem
- *Komplikovaná léze* – masivní kalcifikace fibroateromů, krvácení do ateromu, vznik trombu [113]

Aterosklerotický plát se skládá z lipidového jádra a fibrózního obalu neboli čepičky. Složení plátu významně ovlivňuje jeho stabilitu, která úzce souvisí s akutními projevy. Stabilní plát je tvořen silnější a neporušenou fibrózní čepičkou. Nestabilní pláty jsou častěji spojeny s rupturou s následným vznikem akutních koronárních atak. Ruptura plátu vede často ke krvácení do plátu a ke vzniku trombu.



Obr. 2. Aterogeneze [4]

Řez cévou v pokročilé fázi aterosklerózy ukazuje Obr. 3.



Obr. 3. Ateroskleróza – řez cévou [69]

3.3. Endotel – definice a funkce

Endotel je největším endokrinním orgánem v těle. U dospělého člověka váží přibližně 1,5 kilogramu. Endoteliální buňky tvoří tenkou jednovrstevnou buněčnou výstelku vnitřního povrchu cév. Pouze barierní funkce endotelu byla překonána, dnes považujeme endotel za významný metabolicky i endokrinně velmi aktivní orgán s řadou funkcí, který tvoří velké množství biologicky aktivních látek [53].

Mezi základní funkce endotelu patří:

- Zajištění integrity cévního řečiště. Endotel tvoří nesmáčivý a antitrombogenní povrch.
- Zajištění řízené permeability mezi krví a okolními tkáněmi. Prostup leukocytů je umožněn pomocí vazoadhezivních molekul z povrchu endotelu, mezi které patří i E-selektin a VCAM-1.
- Kontrola napětí cévní stěny, zajištění optimálního průtoku krve cévou.

Vazoaktivní látky produkované endotelem, které mají vazodilatační účinky:

- Oxid dusnatý (NO) vznikající konverzí z L-argininu na L-citrulin aktivitou enzymu NO-syntázy. Inhibuje adhezi a agregaci trombocytů.
- Prostacyklin
- Endoteliální hyperpolarizující faktor odpovídající za vazodilataci v koronárním řečišti.

Vazoaktivní látky produkované endotelem, které mají vazokonstrikční účinky:

- Endotelin-1. Má klíčovou roli při rozvoji ED. Až při poškození endotelu se objeví jeho plně vazokonstrikční účinek, který je ve zdravých cévách snižován produkujícím se NO a prostacyklinem.
- Ovlivnění hladin angiotenzinu II a bradykininu vazbou na angiotenzin-konvertující enzym.
- Ovlivnění koagulačních pochodů - řídí hemostázu prostřednictvím von Willebrandova faktoru odpovídajícího za adhezi trombocytů, dále pomocí fibrinogenu, trombomodulinu, tkáňového faktoru, tromboxanu A₂, prostacyklinu a proteinu C a S.
- Ovlivnění fibrinolýzy pomocí tkáňového aktivátoru plazminogenu a jeho inhibitoru.
- Ovlivnění zánětlivých procesů (migrace a chemotaxe leukocytů, monocytů a makrofágů, fagocytóza a cévní permeabilita) prostřednictvím P-selektinu a E-selektinu, adhezivních molekul VCAM.
- Ovlivnění reparativních procesů a angiogeneze prostřednictvím produkovaných růstových faktorů a cytokinů stimulujících růst buněk hladké svaloviny (fibroblastový a destičkový růstový faktor, interleukin-1, endotelin-1). Naproti tomu NO, silný antimitogen, inhibuje proliferaci buněk hladké svaloviny [19, 52, 107].

3.4. Endoteliální dysfunkce

Endoteliální dysfunkce (ED) je časnou funkční fází poškození endoteliální výstelky v důsledku mechanických, fyzikálně chemických a imunologických faktorů. ED je považována za časný marker aterosklerózy, významně přispívá i k rozvoji aterogeneze. Již ve fázi ED, kdy nejsou zřejmé morfologické změny cév nebo jsou hemodynamicky nevýznamné, se v důsledku sklonu k vazospazmům může manifestovat jako mikrovaskulární angina pectoris nebo tranzitorní mozková ischemie. I v pozdějších fázích aterosklerózy ED urychluje vývoj změn.

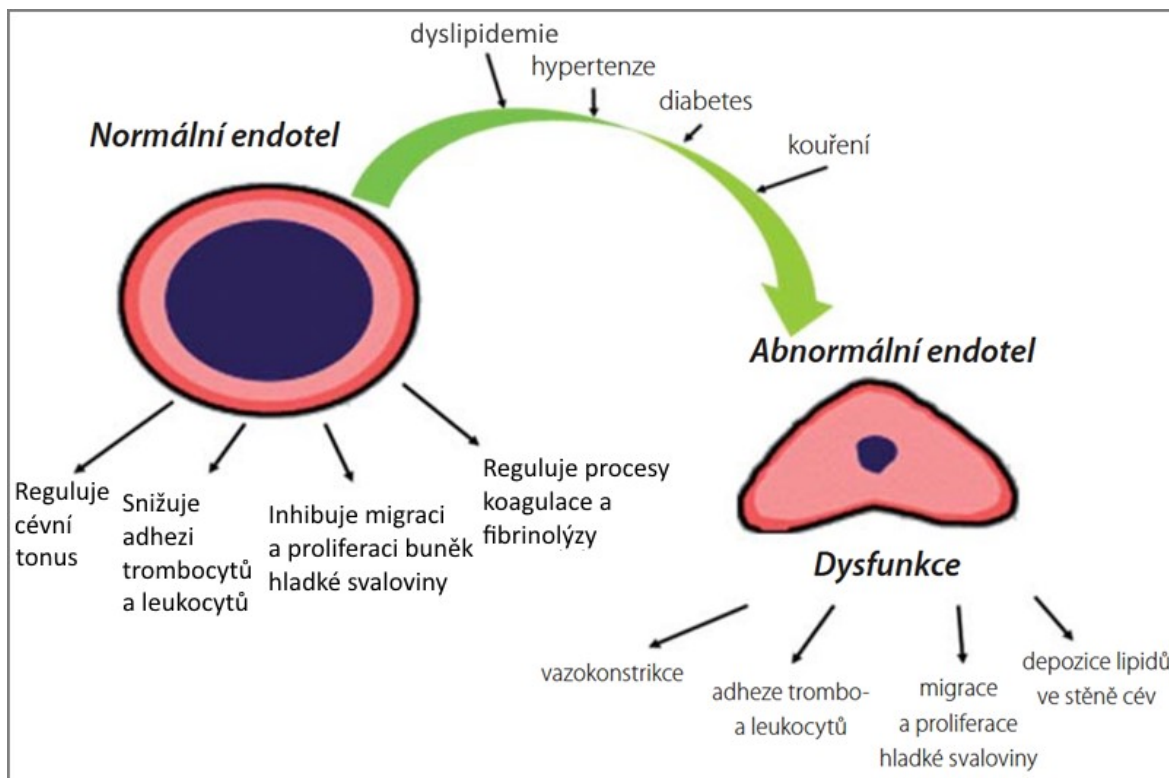
Zejména v posledním desetiletí se ED stala tématem řady výzkumných studií zabývajících se léčebnými možnostmi nejčasnějšího stadia aterosklerózy charakteristického svojí reverzibilitou [135]. Výsledkem studií je objasnění mechanismu vzniku ED s následně stanovenými možnostmi ovlivnění porušené funkce endotelu. Největších úspěchů bylo dosaženo inhibitory angiotenzin konvertujícího enzymu a statiny, které vedly k výraznému snížení kardiovaskulární mortality a morbidity u dospělé populace [52].

3.4.1 Definice

ED je poruchou funkce endotelu, v jejímž důsledku dochází ke zvýšené propustnosti cévní stěny se sklonem k vazospasmu, k trombóze a nedostatečné inhibici subendoteliální proliferace (Obr. 4) [52, 131].

Dysfunkční endotel zaujímá důležitou roli v etiopatogenezi nekontrolovaného chronického zánětu, vede ke zvýšené produkci prozánětlivých cytokinů, vazoadhezivních a protrombogenních molekul [88].

Klinicky se ED projevuje nejčastěji jako nedostatečná vazomotorická odpověď na endotel dependentní podnět, zásadní je snížená produkce NO s následnou poruchou vazodilatace.



Obr. 4. Vývoj endoteliální dysfunkce [131]

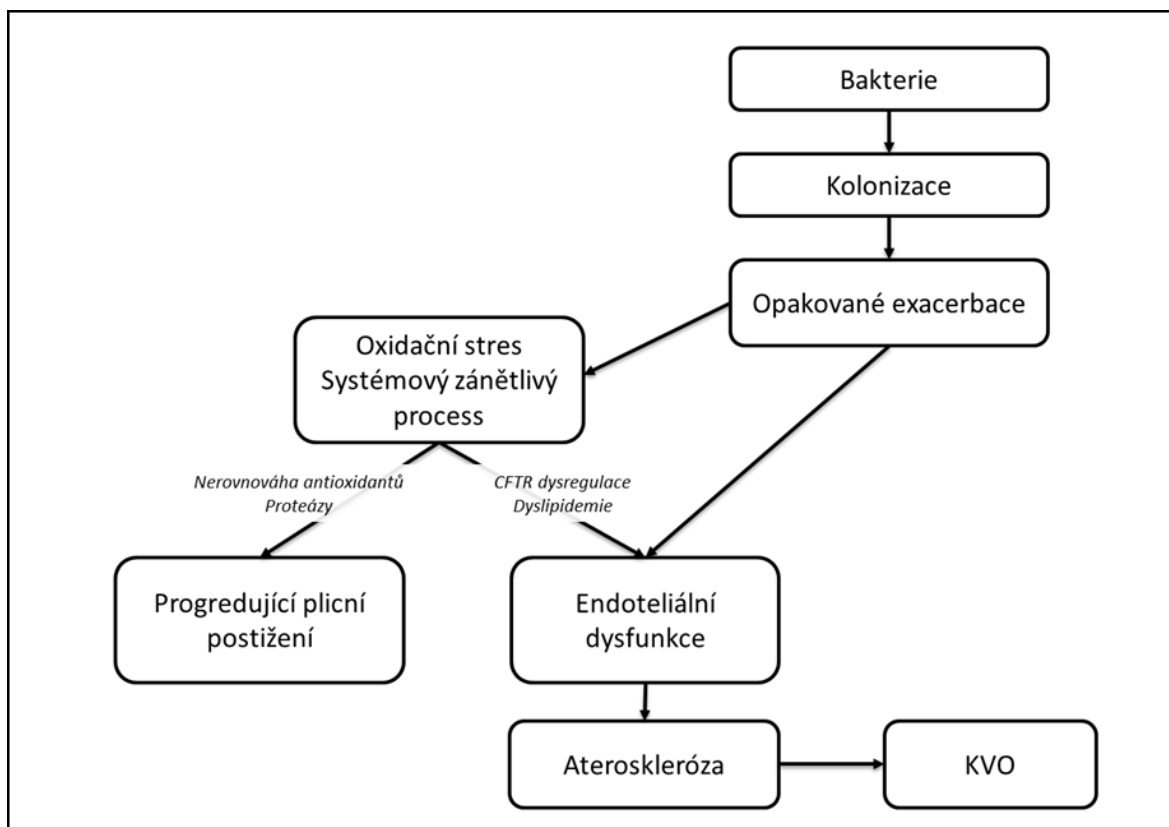
Hlavní etiologické faktory vzniku ED ukazuje Obr. 4: hypercholesterolemie, zejména zvýšená hladina LDL, arteriální hypertenze, hyperglykémie, hypoxie, hyperhomocysteinémie, kouření, pokročilý věk, případně infekce [52]. Z hlediska metabolismu lipidů jsou nejrizikovější oxidované LDL částice.

Oxidační stres potencuje ED a současně s hyperkoagulačním stavem a chronickým systémovým zánětem dochází k celkově vyšší cévní rigiditě [97].

Z dostupných literárních dat vyplývá, že řada autoimunitních a chronických zánětlivých procesů je spojena se vznikem ED a následně se zvýšeným rizikem rozvoje akutního infarktu myokardu, CMP a ICHS [90]. Jedná se zvláště o diabetes mellitus [77], autoimunní thyroiditidu [125], chronická renální onemocnění [109], ISZ [3, 48, 108], HIV [115, 126], autoimunitní revmatická onemocnění [80], systémový lupus erythematosus [78, 141], revmatoidní artritida [40, 75], progresivní systémovou sklerózu [92], psoriasis [74, 139], respirační onemocnění [15, 24, 27, 65, 87]. Periodontitida je též spojena s ED, za důležitý faktor kromě systémového zánětu je považován ústní mikrobiom [58].

Současná literární data ukazují, že dospělí pacienti s CF mají známky ED jakožto preklinického stadia aterosklerózy a KVO. Reverri et al. popisuje pochody směřující od lokalizovaného plicního zánětu k systémové cévní dysfunkci (Obr. 5). Popisuje proces

počínající CFTR dysregulací s následně porušenou mukociliární očistou dýchacích cest, prozánětlivou aktivitou, chronickou respirační infekcí vedoucí k trvalé prozánětlivé aktivitě s oxidačním stresem, dále k exacerbacím plicní infekce s následnou endoteliální dysfunkcí na jedné straně a progredující plicní destrukcí na druhé straně, kdy ED postupně vede k ateroskleróze s následným vznikem KVO [101].



Obr. 5. Aterogeneze u CF

Oxidační stres a ED jsou charakteristické pro CF. Oxidační stres vede k cévní dysfunkci inhibicí biologické dostupnosti oxidu dusnatého (NO) [124]. ED u CF hodnocenou sonografickým vyšetřením prokazuje ve své studii i Rodriguez-Miguel et al. [103]. Totani et al. prokazuje ED v souvislosti s porušeným CFTR kanálem u CF jakožto možným patogenetickým mechanismem, a tím potvrzuje regulační funkci CFTR v buňkách cévního endotelu [123].

3.4.2 Možnosti detekce endoteliální dysfunkce

ED je vzhledem ke své reverzibilitě důležitým obdobím z hlediska léčebné intervence. Současně s průkazem existence ED v dětském a dospívajícím věku vedly nové poznatky k rozvoji diagnostických metod se snahou o stanovení individuálního kardiovaskulárního rizika. ED se v časně fázi klinicky neprojevuje, ale lze ji detekovat.

V současné době existuje řada zobrazovacích metod hodnotících cévní vlastnosti na úrovni endotelu nebo cévní stěny, ale pro svoji náročnost nenacházejí uplatnění v běžné praxi. Většina způsobů hodnocení endoteliální funkce je obsahem klinických výzkumných studií, ne standardní součástí hodnocení kardiovaskulárního rizika v běžné praxi. Detekce ED se neprovádí rutinně, ale v rizikových skupinách populace (kuřáci, diabetici, dyslipoproteinemie apod.).

ED lze přímo detekovat pomocí invazivních i neinvazivních zobrazovacích metod a nepřímo pomocí vybraných biochemických parametrů, přičemž zvýšení plazmatických hladin biomarkerů neboli produktů nadměrné aktivace endotelu je považováno za marker ED. Příčinami bránícími zavedení těchto metod do klinické praxe je obtížná interpretace nálezů v dětském věku, vysoká biologická variabilita u dětí, technická, personální a ekonomická náročnost a nízká specifita biochemických markerů.

V posledních letech v souvislosti se snahou o stanovení rizika vývoje aterosklerózy u rizikových skupin nemocných je intenzivně zkoumán prediktivní potenciál markerů aktivace endotelu.

3.4.2.1 Zobrazovací metody

K detekci ED lze využít invazivní a neinvazivní zobrazovací metody. Mezi invazivní metody řadíme angiografii, kvantitativní koronarografii, intravaskulární ultrazvuk a od něj odvozené metody virtuální histologie a palpografie [52]. Jelikož se jedná o prostorově, personálně i přístrojově náročná vyšetření, představují neinvazivní metody výhodnější alternativu detekce ED. Jsou méně náročné a vycházejí z předpokladu, že naměřené hodnoty z vyšetřovaných periferních cév (nejčastěji arteria brachialis a radialis) jsou shodné s hodnotami ostatních méně přístupných cév, jelikož ED je systémový děj. Mezi neinvazivní možnosti detekce ED řadíme morfologické metody (IMT, optická koherenční tomografie) a metody sledující funkční projevy cév (dopplerovské sonografické vyšetření – FMD). Další, v současné době hodně užívanou metodou, je pletysmografie.

Flow-mediated dilatation (FMD) neboli ultrasonografické zhodnocení postokluzní dilatace brachiální arterie bylo poprvé popsáno Celermajerem v r.1992 [11], který prokázal snížení FMD u kuřáků a dětí s familiární hypercholesterolémií. FMD koreluje s obrazem koronární aterosklerózy i výskytem kardiovaskulárních atak [82]. FMD je metodou závislou na velkém počtu různých faktorů, proto byly závěry studií zabývající se detekcí ED touto metodou velmi heterogenní a vedly k zavedení guidelines k indikaci FMD [14]. Výhodou této metody je její neinvazivita s minimální zátěží pro pacienta.

Intima-media thickness (IMT) je sonografické vyšetření karotid zhodnocením tloušťky intimy a medie. Sonografické metody FMD i IMT jsou neinvazivní, ale technicky i časově náročné, což omezuje jejich klinické využití.

V posledních letech se do popředí výzkumného zájmu dostává hodnocení ED novou neinvazivní metodou měření RHI založenou na pletyzmografickém principu hodnocení periferního arteriálního tonu (PAT). Nedostatečné zvýšení PAT amplitudy během fáze reaktivní hyperémie je spojeno s dysfunkcí endotelu a je potvrzeno již dřívější studií, kdy byly použity též invazivní metody měření ED [7].

RHI i FMD měří postokluzní změny arteriálního tonu. Výhodou RHI, kromě její neinvazivity s klinickým využitím u dětí a dospívajících, je její vysoká senzitivita, nízká biologická variabilita a objektivnost výsledků díky automatickému zhodnocení dat. Windrman ve své studii se zabývá neinvazivním pletyzmografickým vyšetřením ED u 16 dětských pacientů s ISZ a prokazuje vyšší RHI v souboru nemocných v porovnání se zdravými kontrolami, s doporučením této metody v rámci screeningu u pacientů s ISZ v dětském věku, kteří mají prokazatelně vyšší riziko ED [137].

3.4.2.2 Laboratorní metody - Biomarkery

Endoteliální funkci můžeme hodnotit také měřením hladin endoteliálních látek. Invazivně získané krevní vzorky přímo při koronarografii nejvíce vypovídají o funkci endotelu, ale v praxi se mnohem častěji hodnotí plazmatické nebo sérové koncentrace biochemických markerů odebraných ze žilní krve. Nevýhodou ovšem může být jejich biotransformace či nestabilita.

ED se manifestuje specifickými biochemickými markery, které lze využít v detekci prozánětlivých a protrombogenních změn endotelu [45]. Mezi biochemické markery ED řadíme vazoaktivní molekuly (endotelin-1, prostanoidy), koagulační parametry (von Willebrandův faktor, aktivátor tkáňového plazminogenu a inhibitor plazminogenního aktivátoru), adhezivní molekuly zprostředkovávající zejména přichycení leukocytů k endotelu (VCAM, ICAM, E-selektin), hodnocení NO (aktivita NO syntázy, ADMA), zánětlivé parametry (interleukin 6, hsCRP) [53].

V současné době se do popředí zájmu dostávají nezávislé biomarkery kardiovaskulárního rizika, které by mohly sloužit ke zvýšení prediktivní hodnoty současných rizikových faktorů aterosklerózy. Mezi tyto vybrané biochemické parametry hodnocené ve vztahu k ED patří hsCRP, ADMA, VCAM-1 a E-selektin.

C-reaktivní protein stanovený hypersenzitivní metodou (hsCRP) je důležitý pro posouzení zánětlivé složky aterosklerózy. Je známkou prozánětlivé aktivity endotelu. Jedná se o celkový zánětlivý marker související s aterosklerotickým procesem. V praxi je důležité eliminovat zvýšení hsCRP z důvodu probíhajícího akutního zánětlivého procesu bez souvislosti s ED. Vyšší koncentrace hsCRP by mohly predikovat morbiditu a mortalitu na KVO u klinicky asymptomatických osob [136], ale vzhledem k nízké specifitě nepovažujeme hsCRP za stěžejní marker pro detekci ED.

ADMA je kompetitivním (neselektivním) inhibitorem endoteliální syntázy oxidu dusnatého (NO). Metabolismus ADMA je spojen s homocysteinem. Zvýšená hladina ADMA vede k poklesu postokluzní vazodilatace. Zvýšení ADMA jsme prokázali v předchozích studiích u dětí s ISZ [48, 72], diabetes mellitus 1. typu a familiární hypercholesterolémií [50].

E-selektin patří mezi membránové glykoproteiny nacházející se na povrchu aktivovaných endoteliálních buněk a odpovídající za adhezi leukocytů. Patří mezi adhezivní molekuly stejně jako VCAM-1 (vascular cytoadhesion molecule-1) a ICAM1 (intercellular adhesion molecule-1). VCAM-1 odpovídá za přesun monocytů do aterosklerotických míst. V důsledku stimulace cytokiny dochází ke zvýšené expresi

adhezivních molekul v endotelových buňkách vedoucí k poruše mikrocirkulace a řadě dalších imunitně zánětlivých procesů [68].

Jak ukazují dříve provedené studie, hladiny biomarkerů nezávisí na pohlaví. Nebyly prokázány statisticky významné rozdíly mezi pohlavím u markeru VCAM-1, což dokládá JW Ho et. al. [39], dále též u hsCRP ve studii Chiriboga et al. [46], u ADMA ve výzkumu Teerling et al. [119] a Deneva-Kochyeva et al. [23].

Nowak et al. potvrdil ve studii zahrnující 108 pacientů s CF vyšší hladiny sVCAM-1 u nemocných s CF v porovnání s kontrolním souborem, naopak nebyl rozdíl v hladinách sP-selektinu [83]. VCAM-1 je ligandem velmi pozdního antigenu 4, který se podílí na adhezi leukocytů k endotelu [51]. Jeho hladiny byly vyšší u ICHS [43] a u pacientů s hypertenzí [127], obezitou a diabetes mellitus [33], a také u žen s preeklampií [129]. U pacientů s nedostatečnou funkcí ledvin bez diabetu a aterosklerózy koreloval sVCAM-1 s tloušťkou intima-medie karotidy [81]. Šestiměsíční sledování 75 pacientů s akutním koronárním syndromem prokázalo, že hladiny sVCAM-1 předpovídají riziko budoucích závažných srdečních příhod [95].

V myším modelu snížení exprese VCAM-1 korelovalo s nižším výskytem aortálních lézí o 48 % ve srovnání s kontrolní skupinou [9]. V protikladu k tvrzení, že sVCAM-1 je nezávislým rizikovým faktorem kardiovaskulárních příhod [63, 67], stojí fakt, že solubilní i membránový VCAM-1 jsou nespecifické. Ke zvýšené expresi VCAM-1 dochází u syndromu akutní respirační tísně [5], u karcinomu prsu [121] a nemalobuněčného plicního karcinomu [142] a u revmatoidní artritidy [60], kde po léčbě infliximabem a methotrexátem klesá [59].

Význam dostupných výsledků této molekuly je hlavně klinický. Celkově lze u pacientů se závažným endoteliálním poškozením sVCAM-1 považovat za rizikový faktor KVO a u ostatních za marker progresu aterosklerózy. De Rose et al. neprokázali rozdíl v hladinách sVCAM-1 u 29 pacientů s CF v porovnání s 12 zdravými jedinci [22].

4. Cíle disertační práce

4.1. Pracovní hypotéza

Pracovní hypotézou studie byla snaha novým diagnostickým přístupem získat informace o možném postižení cévní stěny ve vybraných rizikových skupinách dětí a následně stanovit míru dlouhodobého kardiovaskulárního rizika v jednotlivých souborech.

4.2. Primární cíle

Cílem výzkumného záměru bylo zhodnocení endoteliální funkce u vybraných skupin nemocných s chronickým zánětlivým onemocněním dýchacích cest kombinovaným diagnostickým přístupem, a to měřením reaktivního hyperemického indexu (RHI) a specifických biochemických markerů (asymetrický dimethylarginin ADMA, E-selektin, VCAM-1, hsCRP). Jednalo se o nemocné s cystickou fibrózou a asthma bronchiale, u kterých bylo možné předpokládat vyšší kardiovaskulární riziko [8, 36, 65, 87].

Cíle studie byly stanoveny na základě dostupných literárních dat týkajících se ED u rizikových skupin nemocných a možnosti provedení pletysmografického vyšetření využitím nového přístroje EndoPAT® a stanovení specifických biochemických parametrů.

Primárním cílem práce bylo zhodnocení postokluzní cévní reaktivity (RHI) pomocí nové metodiky EndoPAT a stanovení hladin vybraných biochemických markerů endoteliální dysfunkce v definovaném souboru pacientů splňujících kritéria diagnózy cystické fibrózy či asthma bronchiale a u kontrolního souboru zdravých jedinců.

Původní záměr studie detekovat ED u dětských léčených pacientů s cystickou fibrózou a asthma bronchiale jsme na základě výsledků rozšířili o rizikovou skupinu dospělých nemocných s těmito diagnózami, abychom mohli hodnotit dynamiku změn u CF s věkem a u astmatu s tíží onemocnění.

4.3. Sekundární cíle

Sekundárním cílem práce bylo porovnání měřených parametrů (RHI, biomarkery) s kontrolním souborem zdravých jedinců a hledání vzájemné korelace biochemických a zobrazovacích parametrů uvnitř jednotlivých souborů.

Zjišťovali jsme korelaci hodnot RHI s biomarkery, hodnotili jsme dynamiku změn RHI s věkem u nemocných s cystickou fibrózou, hodnotili jsme vztah RHI a biomarkerů k jednotlivým faktorům dle diagnóz.

U nemocných s CF jsme zjišťovali spojitost mezi známkami ED hodnocenými RHI a jednotlivými biochemickými parametry ve vztahu k nutričnímu stavu, genotypu, kolonizaci, plicním funkcím, komplikacím ve smyslu hepatopatie či diabetu vázaného na CF.

V souboru pacientů s astmatem jsme hodnotili korelaci RHI a jednotlivých biomarkerů dle vybraných faktorů: typu a tíže astmatu, plicních funkcí, eosinofilního zánětu hodnoceného dle FeNO a kontroly nad astmatem.

Následně jsme se snažili ověřit, zda kombinace neinvazivního hodnocení RHI a biomarkerů by mohla být využita k detekci ED u rizikových skupin nemocných s chronickým onemocněním dýchacích cest.

5. Metody vyšetření

Endoteliální funkci jsme u rizikových skupin nemocných hodnotili kombinací měření reaktivního hyperemického indexu (RHI) novou pletysmografickou metodou a laboratorním stanovením specifických biomarkerů.

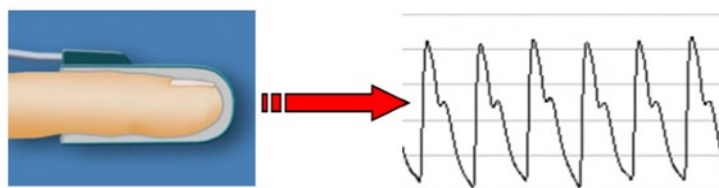
5.1. Měření RHI

RHI jsme měřili neinvazivně přístrojem EndoPAT® (Obr. 6).



Obr. 6. Přístroj EndoPAT® (ItamarCaesarea®, Israel)

Principem metody je pletysmografické zhodnocení změn postokluzního arteriálního tonu v periferním řečišti (PAT), který je snímán biosenzory umístěnými vyšetřovaným jedincům na ukazováčky obou rukou (Obr. 7).

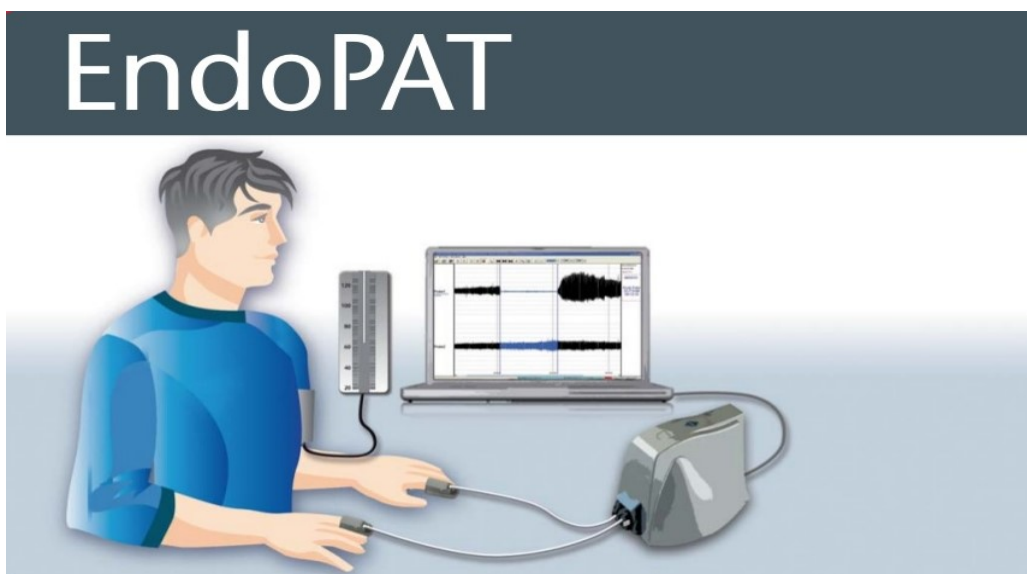


Obr. 7. Snímání PAT signálu biosenzory [112]

Měření se provádí u vyšetřovaného jedince v poloze vleže na zádech (Obr. 8), v tiché, termoneutrální místnosti. Před vyšetřením jsme změřili systémový krevní tlak na kontralaterální paži a stanovili body mass index (BMI).

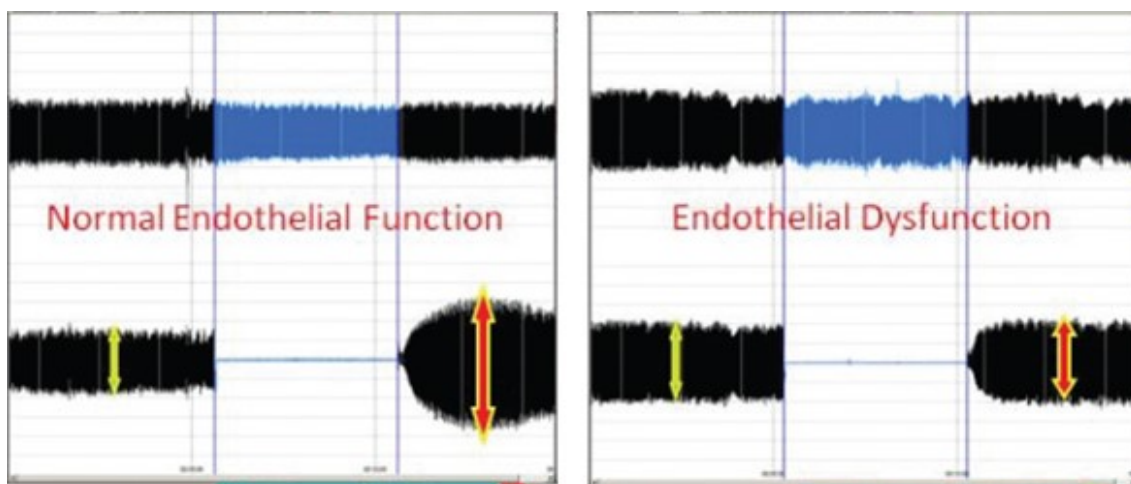


Obr. 8. Poloha vyšetřovaných probandů během vyšetření se sensory umístěnými na ukazováčcích rukou (archiv autora)



Obr. 9. Schématické znázornění RHI měření [76]

Průběh vyšetření schematicky znázorňuje Obr. 9. Během první 15 minut trvající klidové fáze se zaznamenávají vstupní hodnoty PAT na obou horních končetinách. Následně se na nedominantní končetině provede 5 minut trvající okluze brachiální artérie pomocí tlakové manžety nafouknuté 60 mmHg nad hodnotu systolického tlaku vyšetřovaného, minimálně 200 mmHg, maximálně 300 mmHg, a probíhá druhá pětiminutová fáze okluze. Po jejím ukončení se prudce vyfoukne manžeta tonometru a pokračuje třetí postokluzní fáze trvající 5 minut. Po rychlém povolení tlaku manžety dojde k reaktivní hyperémii a endotelem indukované dilataci – Flow Mediated Dilataci (FMD). Tato dilatace je registrována přístrojem jako nárůst amplitudy PAT signálu. RHI odráží změny arteriálního tonu v periferním řečišti. Nedostatečné zvýšení PAT amplitudy během třetí fáze, manifestující se reaktivní hyperémií, je spojeno s ED (Obr. 10).

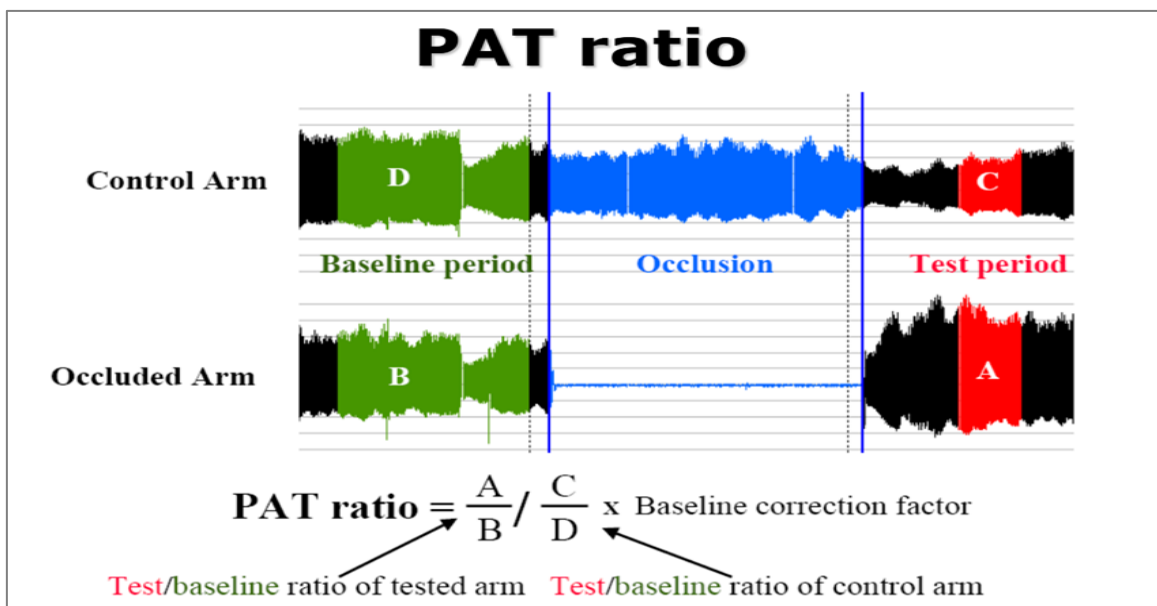


Obr. 10. Měření RHI

Obraz normální endoteliální funkce u zdravého člověka v porovnání s křivkou ED

Horní křivka se záznamem PAT amplitudy na kontrolní paži. Dolní křivka se záznamem PAT amplitudy na vyšetřované paži s okluzí během druhé fáze a s následnou reaktivní hyperémií během třetí fáze vyšetření [140].

Tzv. EndoPAT index (RHI) je automaticky vypočten softwarem EndoPAT® z poměru postokluzního a preokluzního arteriálního průtoku (PAT) na okludované paži ve vztahu k hodnotám naměřeným na neokludované kontralaterální končetině (Obr. 11) [49].



Obr. 11. EndoPAT index (RHI) – poměr hodnot post- a preokluzního arteriálního průtoku (PAT amplituda) okludované končetiny ve vztahu k simultánně měřené kontralaterální končetině [76]

A – postokluzní PAT amplituda na okludované paži

B – preokluzní PAT amplituda na okludované paži

C – postokluzní PAT amplituda na simultánně měření kontralaterální paži bez okluze

D – preokluzní PAT amplituda na simultánně měření kontralaterální paži bez okluze

Výhodou této metody je automatizovaná strojová analýza eliminující vlivy vyšetřujícím a zároveň hodnocení PAT amplitudy na simultánně měřené neokludované kontralaterální končetině minimalizující změny cévního tónu z vnějších příčin během měření. Celková délka vyšetření je přibližně 30 min včetně přípravné fáze.

Cut-off RHI je stanoveno u dospělé populace na 1,67, při této hodnotě je senzitivita metody 82% a specifita 77%. Jak vyplývá z literárních dat, průměrná hodnota RHI u zdravých dospělých je 2.06 [25]. Průměr RHI v souboru našich zdravých dětských probandů je 1,81, pomocí lineární aproximace jsme mohli dovodit cut-off pro dětský věk. Odhadované cut-off pro děti (za předpokladu platnosti výše uvedené lineární aproximace) je 1,465, tzn., že rizikové jsou pro dětský věk hodnoty $RHI \leq 1,465$ [62]. RHI je známkou funkce endotelu, hodnoty RHI pod cut-off hladinou jsou známkou porušené funkce endotelu.

5.2. Laboratorní metody

Ve vyšetřovaných souborech jsme v souvislosti se snahou o detekci již subklinického kardiovaskulárního postižení (aterosklerózy) hodnotili vybrané biochemické parametry. U nemocných s CF jsme hodnotili lipidogram.

Odběr krve byl prováděn u všech vyšetřovaných za standardních podmínek kvalifikovaným personálem nalačno z venepunkce, šetrně s ohledem na věk vyšetřovaných.

Analýza jednotlivých vzorků byla provedena standardizovanou metodikou v laboratořích certifikovaného biochemického pracoviště Ústavu klinické hematologie a biochemie FN Plzeň v rámci zaslepené studie.

Mezi vyšetřované biomarkery související s ED, působící na různé úrovni, jsme zařadili specifické biochemické parametry měřené metodou Elisa (OLD Diagnostica®, BioVendor®): asymetrický dimethylarginin (ADMA), E-selektin, vazoadhezivní molekuly VCAM-1 a vysoce senzitivní C-reaktivní protein (hsCRP) stanovený imunoturbidimetrickým měřením (Orion Diagnostica®).

Lipidogram - hladiny celkového cholesterolu a triglyceridů, HDL a LDL cholesterol byly měřeny v klinické laboratoři pomocí autoanalyzátoru (enzymatic assay GTP Human® and CHOD-PAP Dialab®).

5.3. Statistická analýza

Statistické zpracování bylo provedeno programovým vybavením SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) ®.

Grafy byly zpracovány pomocí programu SW Statistica (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA)®.

Pro měřené parametry v jednotlivých souborech i podskupinách byly vypočteny základní statistické údaje: průměr, směrodatná odchylka, rozptyl, medián, interkvartilové rozpětí, minimum a maximum.

U kategorických proměnných byly zkoumány jejich frekvence.

Shoda věku a četnosti pohlaví mezi skupinou kontrol a nemocných byla testována pomocí testů ekvivalence (Two One-Sided Tests).

Rozdíl zkoumaných faktorů mezi vybranými skupinami by testován pomocí Wilcoxonova dvouvýběrového testu nebo jeho zobecněné varianty Kruskal – Wallis testu a Chi-kvadrát Testu či Fisherova exaktního testu.

Vztahy mezi proměnnými vzhledem k jejich negausovskému rozdělení byly zkoumány pomocí Spearmanova korelačního koeficientu a vyjádřeny pomocí lineární regrese.

Statistická hladina významnosti byla stanovena na hranici $\alpha = 5\%$.

Vybrané statistické výsledky byly graficky znázorněny pomocí Box & Whisker Plot diagramů, koláčových grafů a Fit Plot grafů lineární regrese.

5.4. Etické aspekty

Provedená studie neobsahuje etické problémy. Výzkumný záměr byl proveden v souladu se zásadami Helsinské deklarace a nebyl sponzorován žádnou společností. Protokol studie byl schválen lokální etickou komisí.

Po podrobném seznámení rodičů a dítěte či zletilého probanda s obsahem studie a odsouhlasení účasti ve studii byl před zahájením studie podepsán informovaný souhlas rodičem i dítětem, resp. dospělým vyšetřovaným. Krevní odběry byly prováděny šetrně s ohledem na věk vyšetřovaných. Pletysmografické vyšetření RHI prováděné lékařem v pneumologické ambulanci Dětské kliniky FN Lochetín nezatížilo vyšetřované nad obvyklou mez.

6. Soubory pacientů

Do studie jsme zvolili skupiny nemocných s předpokladem zvýšeného kardiovaskulárního rizika.

Vyšetřili jsme celkem 119 probandů, z toho 74 dětí a dospělých s diagnózami CF či astmatu. Jednalo se o nemocné splňující diagnostická kritéria cystické fibrózy a asthma bronchiale, na trvalé terapii, bez dalších komorbidit, s dolní věkovou hranicí 10,5 let u CF, respektive 14 let u astmatu.

Skupina dětských pacientů s CF (17 nemocných) byla vyšetřována jako první v rámci tohoto výzkumného záměru. Druhou skupinu tvořili pacienti s CF bez horní věkové hranice (22 nemocných). Třetí skupinu tvořilo 52 astmatiků na trvalé antiastmatické léčbě.

Kompletním kontrolním souborem byla skupina 45 zdravých jedinců.

6.1. Cystická fibróza - děti

Tuto skupinu tvořilo 17 dětských pacientů s CF vedených na specializovaném pracovišti Dětské kliniky FN Plzeň, léčených podle aktuálně platných standardů Evropské společnosti pro CF, diagnostikovaných na podkladě klinických projevů onemocnění pozitivním potním testem a molekulárně genetickým průkazem dvou mutací CFTR genu, bez ohledu na kolonizaci dýchacích cest, stav výživy či plicní funkce. Vzhledem k věku nemocných se nejednalo o děti diagnostikované na podkladě pozitivního novorozeneckého screeningu.

Kontrolní soubor tvořilo 17 zdravých jedinců. Oba soubory byly věkově srovnatelné, zastoupení pohlaví v obou souborech bylo shodné.

Medián věku u nemocných byl 15,6 let, u zdravých kontrol byl medián věku 16,7 let.

6.2. Cystická fibróza - děti a dospělí

Tento soubor tvořilo 22 nemocných s CF starších 10,5 let, vedených na specializovaném pracovišti FN Plzeň, na komplexní symptomatické terapii, bez ohledu na kolonizaci dýchacích cest, stav výživy či plicní funkce.

Kontrolní soubor tvořilo 22 zdravých jedinců. Oba soubory byly věkově i zastoupením pohlaví srovnatelné.

6.3. Asthma bronchiale

Do této skupiny jsme zařadili děti a dospělé s diagnostikovaným asthma bronchiale alergické i nealergické etiologie. Dle typu astmatu se jednalo o astma ponámahové nealergické a astma alergické perzistující lehké, středně těžké, těžké a těžké refrakterní. Nemocní byli léčeni antileukotrieny, IKS, kombinací IKS a LABA (inhalačního kortikosteroidu s dlouhodobě působícím agonistou beta-receptorů) nebo užívali biologickou léčbu.

Dle tíže endobronchiálního alergického zánětu hodnoceného vyšetřením frakce oxidu dusnatého ve vydechaném vzduchu (FeNO) se jednalo o nemocné s normální hladinou FeNO (< 25 ppb) nebo pozitivní (> 50 ppb). Hodnoty FeNO mezi těmito dvěma skupinami jsme zařadili do skupiny šedé zóny (25-50ppb).

Podle stupně kontroly nad nemocí hodnocené standardizovaným testem kontroly astmatu (TKA) jsme zvolili tři skupiny vyšetřovaných: s plnou kontrolou nad astmatem (TKA 25b), s částečnou kontrolou (TKA 20-24b) a s nedostatečnou kontrolou nad nemocí (TKA < 20b).

Podle stupně obstrukce periferních dýchacích cest jsme nemocné rozdělili do čtyř skupin: s normální průchodností malých dýchacích cest dle MEF_{25} , resp. MEF_{25}/FVC ($MEF_{25} > 66\%$), lehkou obstrukcí (MEF_{25} 54-66%), středně těžkou obstrukcí (MEF_{25} 44-53%), těžkou a velmi těžkou obstrukcí ($MEF_{25} < 44\%$). Stupeň obstrukce periferních dýchacích cest byl hodnocen primárně dle MEF_{25-50} (maximální výdechová rychlost na úrovni 25% a 50% usilovné vitální kapacity) neboli průchodnosti malých dýchacích cest spirometrickým vyšetřením vztažených na velikost plic (FVC), ale i s ohledem na FEV_1 (jednosekundový usilovně vydechnutý objem), neboť u dospělých hojně používaná hodnota jednosekundového usilovného výdechu (FEV_1) má u dětí pro hodnocení periferní obstrukce relativně nízkou senzitivitu a specifitu [93].

Do souboru jsme zařadili dospělé a děti s astmatem s dolní věkovou hranicí 14 let, na dlouhodobé pravidelně užívané antiastmatické terapii, bez jiného přidruženého onemocnění.

Kontrolní soubor odpovídal souboru nemocných počtem i zastoupením pohlaví. Ve snaze začlenit a vyšetřit nemocné s těžkým refrakterním astmatem se zvýšil věkový medián souboru nemocných.

6.4. Kontrolní soubor

Kontrolní skupinu tvořilo celkem 45 zdravých dětí a dospělých bez anamnézy zánětlivého, metabolického či nádorového onemocnění a bez antibiotické, protizánětlivé či jiné terapie ovlivňující endoteliální funkci.

Mezi vylučující kritéria pro zařazení do studie patřily: věk pod 10,5roku, nespolupráce, chronická onemocnění dýchacích cest, plic, poruchy stavu výživy a růstu včetně obezity, porucha funkce ledvin, jater, onemocnění pankreatu, autoimunitní a onkologické onemocnění, kouření, dyslipidémie, KVO a jejich předčasná manifestace aterosklerózy v rodině.

Kontrolní soubor odpovídal jednotlivým souborům nemocných s CF počtem, věkem a stavem výživy hodnoceného dle BMI, stejně jako v předchozích studiích provedených na našem pracovišti u dětí s Crohnovou chorobou [48] a ALL [71]. I když Osika et al. svou studií prokázal, že není rozdíl v naměřených hodnotách RHI ve vztahu k pohlaví [89], v námi provedené studii odpovídal kontrolní soubor nemocným i z hlediska frekvence zastoupení pohlaví.

7. Výsledky

7.1. Demografická data

Do studie jsme zařadili 119 dětí a dospělých, z toho 74 nemocných (dvě skupiny s diagnózou CF a jedna skupina s diagnózou asthma bronchiale) a 45 zdravých probandů v kontrolním souboru.

Základní demografická data a charakteristika jednotlivých souborů jsou uvedeny v následujících 6 tabulkách.

7.1.1 Cystická fibróza – děti

Oba soubory (17 dětských pacientů s CF a 17 zdravých kontrol) byly srovnatelné věkem i zastoupením pohlaví a mezi jednotlivými soubory nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl v BMI jakožto parametru stavu výživy.

CF soubor není věkově symetrický, proto jsme věkové hledisko hodnotili pomocí mediánu, nikoli průměru. Medián věku CF nemocných byl 15,6 let, u zdravých kontrol 16,7 let. Arteriální krevní tlak (TK) byl v souboru nemocných statisticky významně nižší ($p < 0,05$), ale u obou skupin ve fyziologických mezích.

Čtyři dívky z našeho souboru splňovaly statut chronické infekce *Pseudomonas aeruginosa* (23,5%), ostatní měli intermitentní či chronickou infekci *Staphylococcus aureus* (Obr. 12). Molekulárně genetickým vyšetřením byla u šesti vyšetřovaných nemocných (35,3%) stanovena mutace genu CFTR F508del v homozygotní formě, u osmi dětí s CF (47,1%) se jednalo o tuto mutaci v heterozygotní formě a u ostatních nemocných byly prokázány jiné mutace CFTR genu (Obr. 12). Mutace F508del je přítomna na 71% chromozomů nemocných s CF v České republice [111].

Pět nemocných z našeho souboru (29,4%) se léčilo pro hepatální komplikaci základního onemocnění, stejný počet nemocných měl diagnostikovanou poruchu glukozové tolerance či již léčený diabetes mellitus vázaný na CF. Plicní funkce byly v normě u 13 vyšetřovaných nemocných (76,5%). Nutričně nebyl významný rozdíl mezi oběma skupinami, medián body mass indexu (BMI) u CF byl 18,7.

V souboru dětských nemocných s CF jsme potvrdili statisticky významně nižší hladiny HDL cholesterolu a současně hypertriglyceridémii jakožto obecně významné rizikové faktory KVO [95].

Data	CF medián(min; max)	Kontroly medián(min; max)	p-value	Statistická významnost
Počet	17	17		
Pohlaví (chlapci/dívky)	5/12	5/12	0,028	průkaz ekvivalence
Věk (roky)	15,62 (10,68; 18,20)	16,70 (12,01; 18,14)	0,007	Průkaz ekvivalence (±3 roky)
BMI(kg/m ²)	18,67 (14,84; 25,24)	20,28 (16,72; 25,51)	0,29	NS
Arteriální krevní tlak systolický (mmHg)	109 (90; 136)	118 (104; 135)	0,015	p < 0,05
Arteriální krevní tlak diastolický (mmHg)	57 (50; 80)	65 (55; 78)	0,025	p < 0,05
Celkový cholesterol (mmol/l)	3,32 (2,40; 4,70)	4,24 (2,10; 5,25)	0,062	NS
LDL cholesterol (mmol/l)	1,84 (1,09; 3,01)	2,35 (1,12; 2,85)	0,170	NS
HDL cholesterol (mmol/l)	1,18 (0,75; 1,81)	1,53 (1,14; 2,29)	0,002	p < 0,005
TG (mmol/l)	1,04 (0,54; 1,72)	0,77 (0,36; 1,36)	0,031	p < 0,05

Tab. 1. Demografická data CF děti

Hodnoty vyjadřují medián s minimální a maximální hodnotou v závorce.

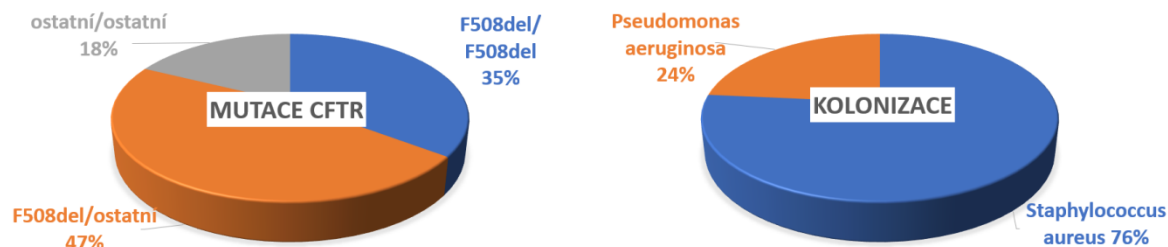
BMI - body mass index, CF - cystická fibróza, HDL - high density lipoprotein cholesterol, LDL - low density lipoprotein cholesterol, NS - nesignifikantní výsledek, TG – triglyceridy

Data	Počet	%
Mutace CFTR		
F508del/ F508del	6	35,29
F508del/ostatní	8	47,06
ostatní/ostatní	3	17,65
Kolonizace		
Staphylococcus aureus	13	76,47
Pseudomonas aeruginosa	4	23,53
FEV₁ (%)		
>80	13	76,47
<80	4	23,53
Komplikace CF		
Hepatopatie	5	29,41
Diabetes mellitus + porucha glukózové tolerance	2+3	29,41

Tab. 2. Charakteristika souboru CF děti

Hodnoty vyjadřují počet s procentuálním vyjádřením.

Mutace CFTR genu - mutace genu pro transmembránový regulátor vodivosti,
Kolonizace - chronická infekce Pseudomonas aeruginosa či Staphylococcus aureus,
FEV₁ - objem vzduchu vydechnutý s největším úsilím za 1. vteřinu po maximální nádechu



Obr. 12. Rozdělení souboru CF děti dle genotypu a kolonizace

7.1.2 Cystická fibróza - děti a dospělí

Data	CF medián(min; max)	Kontroly medián(min; max)	p-value	Statistická významnost
Počet	22	22		
Pohlaví (chlapci/dívky)	6/16	5/17	0,025	průkaz ekvivalence
Věk (roky)	16,07 (10,68; 35,58)	17,28 (12,64; 25,40)	0,006	průkaz ekvivalence (±5 let)
BMI(kg/m ²)	19,25 (14,84; 27,20)	20,52 (16,72; 27,16)	0,3	NS
Arteriální krevní tlak systolický (mmHg)	111 (90; 136)	116 (104; 135)	0,09	NS
Arteriální krevní tlak diastolický (mmHg)	60 (50; 86)	69 (55; 88)	0,13	NS
Celkový cholesterol (mmol/l)	3,26 (2,40; 4,70)	4,41 (2,10; 6,06)	0,002	p < 0,005
LDL cholesterol (mmol/l)	1,78 (1,09; 3,01)	2,42 (1,14; 3,63)	0,01	p < 0,01
HDL cholesterol (mmol/l)	1,15 (0,75; 1,81)	1,60 (1,14; 2,20)	0,0003	p < 0,001
TG (mmol/l)	1,00 (0,54; 1,72)	0,85 (0,57; 1,36)	0,17	NS

Tab. 3. Demografická data CF děti a dospělí

Hodnoty vyjadřují medián s minimální a maximální hodnotou v závorce.

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

Oba soubory (22 dětských a dospělých pacientů s CF a 22 zdravých kontrol) byly srovnatelné počtem a zastoupením pohlaví. Shoda věku mezi zkoumanými skupinami byla prokázána při limitu tolerance ±5 let. Medián věku CF nemocných byl 16,07 let, u zdravých kontrol 17,28 let.

Hodnoty arteriálního krevního tlaku (TK) byly shodné, stejně tak hladina triglyceridů.

Data	Počet	%
Mutace CFTR		
F508del/ F508del	8	36,36
F508del/ostatní	11	50,00
ostatní/ostatní	3	13,64
Kolonizace		
Staphylococcus aureus	16	72,73
Pseudomonas aeruginosa	6	27,27
FEV₁ (%)		
>80	15	68,18
<80	7	31,82
Komplikace CF		
Hepatopatie	6	27,27
Diabetes mellitus + porucha glukózové tolerance	5	22,73

Tab. 4. Charakteristika souboru CF děti a dospělí

Hodnoty vyjadřují počet s procentuálním vyjádřením.

Mutace CFTR genu - mutace genu pro transmembránový regulátor vodivosti,
Kolonizace - chronická infekce Pseudomonas aeruginosa či Staphylococcus aureus,
FEV₁ - objem vzduchu vydechnutý s největším úsilím za 1. vteřinu po maximální nádechu

Šest dívek z tohoto souboru splňovalo statut chronické infekce Pseudomonas aeruginosa (27,27%), ostatní měli intermitentní či chronickou infekci Staphylococcus aureus (Tab. 4). Molekulárně genetickým vyšetřením byla u osmi vyšetřovaných nemocných (36,36%) stanovena mutace genu CFTR F508del v homozygotní formě, jedenáct nemocných s CF (50%) bylo heterozygoty mutace F508del a u ostatních byly prokázány jiné mutace CFTR genu.

Šest nemocných z našeho souboru (27,27%) se léčilo pro hepatální komplikaci základního onemocnění, pět nemocných mělo poruchu glukózové tolerance či již léčený diabetes mellitus vázaný na CF. Plicní funkce byly v normě u 15 vyšetřovaných nemocných (68,18%).

Nutriční stav byl horší u nemocných s CF, ale bez prokázané statistické významnosti a bez známek progresu s věkem. Medián body mass indexu (BMI)

u nemocných v našem souboru byl 19,25. Reverri et al. ukazuje na vztah stavu výživy k plicním funkcím s přímou úměrou, kdy medián BMI v souboru dospělých pacientů s CF byl 22 a současně potvrdil korelaci mezi vyšší hladinou LDL cholesterolu nemocných spojenou s inzulinovou rezistencí u dospělých s CF s vyšším BMI v porovnání s nemocnými s normálním či astenickým stavem výživy [101].

V našem souboru nemocných s CF byla zjištěna statisticky významně nižší hladina celkového cholesterolu i LDL a HDL cholesterolu.

7.1.3 Asthma bronchiale

Data	AB medián(min; max)	Kontroly medián(min; max)	p-value	Statistická významnost
Počet	52	45		
Pohlaví (chlapci/dívky)	22/30	18/27	0.039	průkaz ekvivalence ($\pm 20\%$)
Věk (roky)	25,22 (13,97; 49,85)	17,04 (11,79; 28,32)	0,003	p < 0,01
BMI (kg/m ²)	23,77 (16,96; 41,87)	20,73 (15,56; 27,31)	0,0002	p < 0,001
Arteriální krevní tlak systolický (mmHg)	119 (98; 150)	116 (90; 136)	0,1	NS
Arteriální krevní tlak diastolický (mmHg)	74,5 (56; 95)	70 (50; 88)	0,003	p < 0,005

Tab. 5. Demografická data Astma

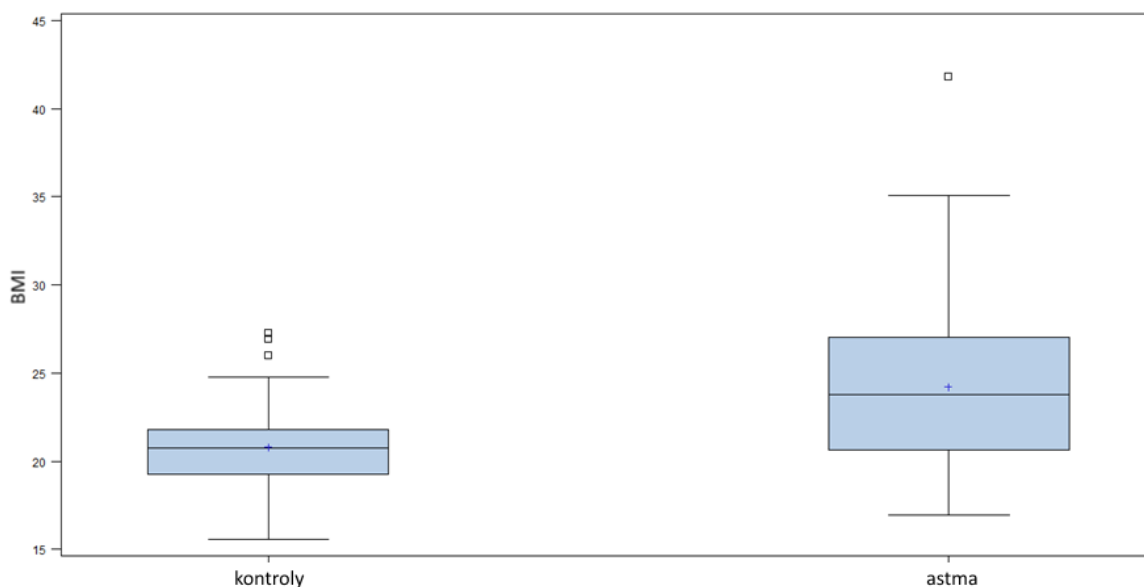
Hodnoty vyjadřují medián s minimální a maximální hodnotou v závorce.

AB – asthma bronchiale, BMI - body mass index, HDL - high density lipoprotein cholesterol, LDL - low density lipoprotein cholesterol, NS - nesignifikantní výsledek, TG – triglyceridy

Soubory 52 astmatiků a 45 zdravých kontrol byly srovnatelné počtem, v zastoupení pohlaví byla prokázána shoda při limitu tolerance $\pm 20\%$. Vzhledem k výběru nemocných s těžkým a těžkým refrakterním astmatem se posunula věková hranice výše a medián věku v našem souboru nemocných byl 25,22 let v porovnání se zdravými jedinci (17,04

let), z věkového hlediska byly kontroly mladší ($p < 0,01$) a ekvivalence věku mezi oběma skupinami při stanoveném maximálním limitu ± 5 let nebyla prokázána.

Stav výživy byl signifikantně odlišný, jak znázorňuje graf na Obr. 13. **V souboru astmatiků bylo prokázáno statisticky významně vyšší BMI ($p=0,0002$)**, což může souviset s nemožností dostatečné fyzické aktivity nemocných s těžkým a těžkým refrakterním astmatem, ale i s vyšším věkem vyšetřovaných a jejich životosprávou. I literární data potvrzují zvyšující se výskyt obezity s tíží astmatu, častější výskyt obezity u non-eozinofilního typu a u žen [21]. V našem souboru nemocných byl průměr BMI 24,24 vs. 20,82 u zdravých kontrol, **vyšší BMI bylo z pohledu pohlaví prokázáno u žen**, a to 24,73 vs. 23,58 a z pohledu tíže alergického astmatu jsme zjistili **vyšší průměrnou hodnotu BMI u těžkého astmatu** v porovnání s lehkým a středně těžkým typem astmatu, a to 28,60 vs. 23,20.



Obr. 13. Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí BMI v souboru asthma bronchiale vs zdravé kontroly (medián, minimální a maximální rozpětí)

BMI – body mass index

Arteriální krevní tlak (TK) diastolický byl v souboru nemocných statisticky významně vyšší s mediánem 74,5 (min 56; max 95) vs 70 (50; 88) u zdravých kontrol ($p < 0,005$), hodnoty systolického TK byly v obou skupinách srovnatelné, což podporuje vyšší kardiovaskulární riziko nemocných s astmatem a může souviset s vyšším BMI ve skupině nemocných.

Data	Počet	%
Typ astmatu		
Alergické perzistující lehké	28	53,85
Alergické perzistující středně těžké	8	15,38
Alergické perzistující těžké a těžké refrakterní	10	19,23
Ponámahové	6	11,54
FeNO		
Norma	31	59,62
Šedá zóna	10	19,23
Pozitivní	11	21,15
Křivka F/V – obstrukce periferních dýchacích cest		
Norma	33	63,46
Lehká	9	17,31
Středně těžká	4	7,69
Těžká a velmi těžká	6	11,54
TKA		
Plná	24	46,15
Částečná	12	23,08
Nedostatečná	16	30,77

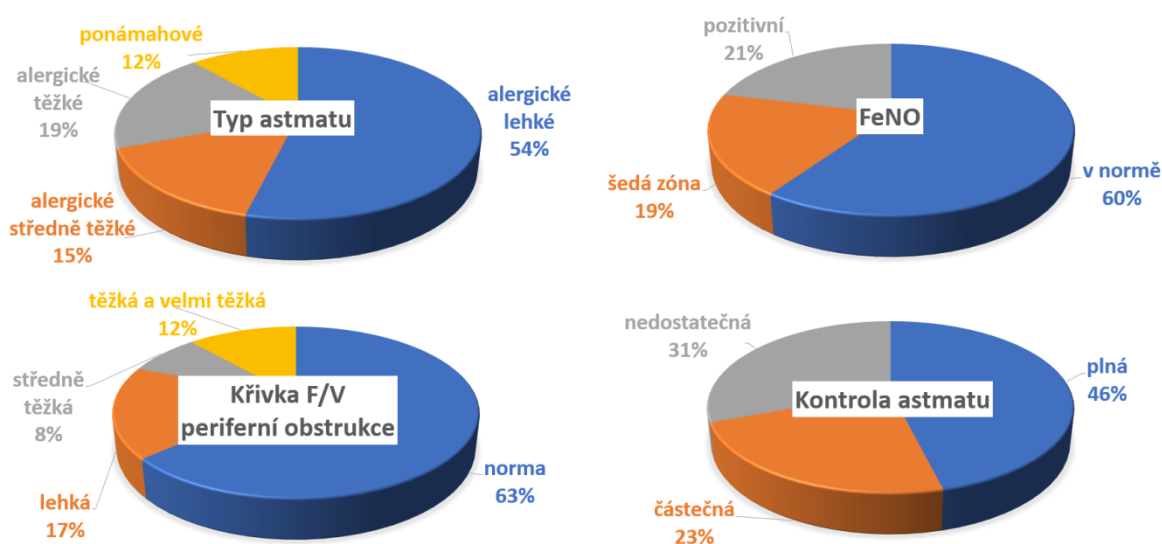
Tab. 6. Charakteristika souboru Astma

Hodnoty vyjadřují počet s procentuálním vyjádřením.

FeNO – frakce oxidu dusnatého ve vydechovaném vzduchu. Křivka F/V – spirometrické vyšetření metodou usilovného výdechu se záznamem smyčky průtok-objem. TKA – test kontroly astmatu.

V našem souboru splňovalo devět nemocných (17,3%) diagnostická kritéria refrakterního těžkého asthma bronchiale na anti IgE terapii. Sedm nemocných (13,5%) bylo na léčbě antagonisty leukotrienových receptorů, 36 astmatiků v našem souboru (69,2%) užívalo inhalační antiastmatickou terapii bez biologické léčby. 11,5% vyšetřovaných astmatiků mělo i na pravidelné terapii těžkou nebo velmi těžkou obstrukci periferních dýchacích cest. 46% nemocných vyšetřovaných dosáhlo plné kontroly nad nemocí. 21% nemocných mělo dle aktuální hladiny FeNO pozitivní nález svědčící pro floridní eozinofilní zánět průdušek.

Procentuální zhodnocení souboru ukazuje Tab. 6 a koláčové grafy v Obr. 14.



Obr. 14. Rozdělení souboru Astma dle čtyř zvolených kritérií

7.2. Hodnocení funkce endotelu a stanovení míry rizika endoteliální dysfunkce v jednotlivých skupinách

7.2.1 Cystická fibróza

7.2.1.1 Soubor CF děti

RHI

Nebyl prokázán signifikantní rozdíl RHI mezi testovanými soubory zdravých kontrol a CF dětí do 18 let včetně celkově ani rozděleně do 15 let a nad 15 let věku, přestože medián RHI v celkovém souboru dětských nemocných byl 1,49 (min 1,07; max 2,91) vs 1,74 u zdravých kontrol. Výsledky znázorňuje Tab. 7. RHI u zdravých kontrol odpovídá již dříve publikovaným výsledkům hodnocení u zdravých dětí v rozsáhlých studiích [89].

Zjistili jsme **klesající trend RHI od pubertálního období** a následně jsme potvrdili signifikantně nižší hodnoty RHI u CF v dospělosti.

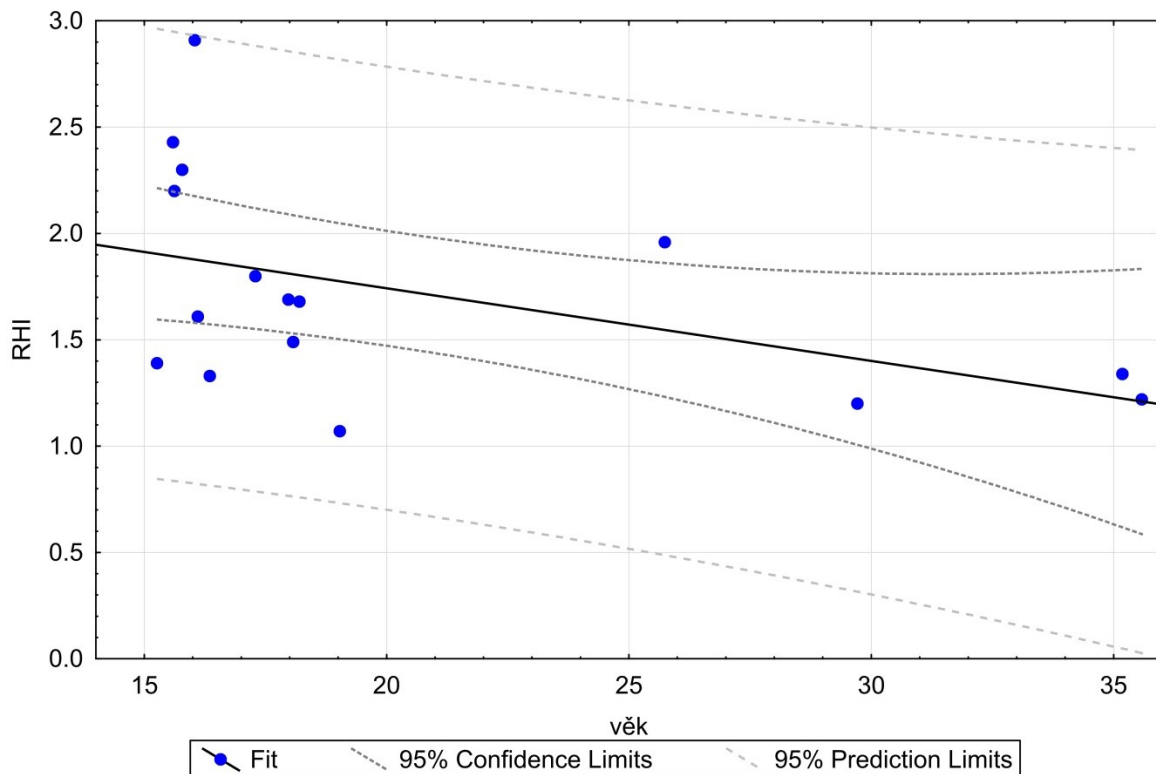
Data	CF	Kontroly	p-value	
RHI	1,49 (1,07; 2,91)	1,74 (0,80; 3,46)	0,40	NS
hsCRP (mg/l)	0,96 (0,03; 35,00)	0,20 (0,02; 1,53)	0,008	p < 0,01
sVCAM-1 (µg/l)	1121,00 (849,00; 1669,00)	963,00 (683,70; 1323,00)	0,008	p < 0,01
E-selektin (µg/l)	91,70 (36,10; 179,00)	63,10 (20,80; 142,20)	0,020	p < 0,05
ADMA (µmol/l)	0,49 (0,32; 0,65)	0,59 (0,34; 0,73)	0,039	p < 0,05

Tab. 7. Hodnoty RHI a biomarkerů

Hodnoty vyjadřují medián s minimální a maximální hodnotou v závorce.

ADMA - asymetrický dimethylarginin, hsCRP - vysoce senzitivní C-reaktivní protein, NS - nesignifikantní výsledek, RHI - reaktivní hyperemický index, sVCAM-1 - vazoadhezivní molekuly

Ve věkové skupině nemocných nad 15 let (dospívající a dospělí) byla prokázána významná korelace RHI s věkem ($r = -0.60$, $p=0,014$). Tento vztah zobrazuje graf lineární regrese (Obr. 15).

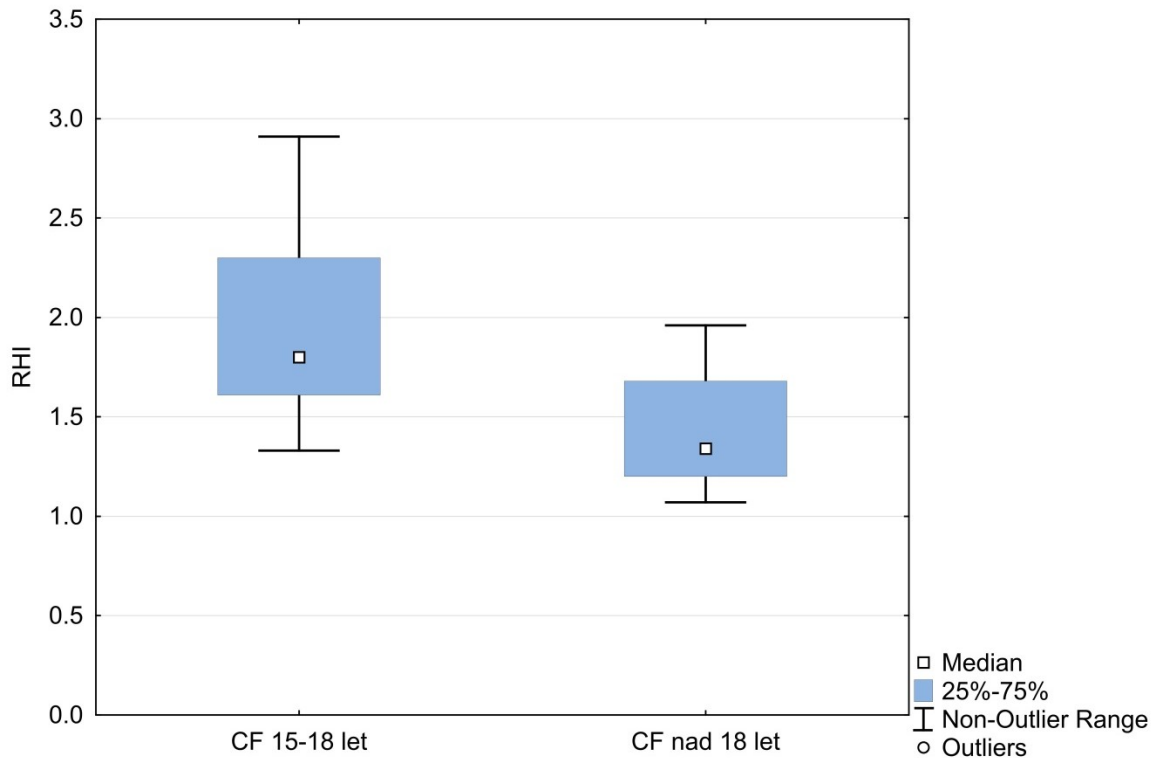


Obr. 15. Lineární regrese RHI s věkem u nemocných s CF ve věku > 15 let.

Prokázána středně silná, statisticky významná korelace.

CF - cystická fibróza, RHI - reaktivní hyperemický index

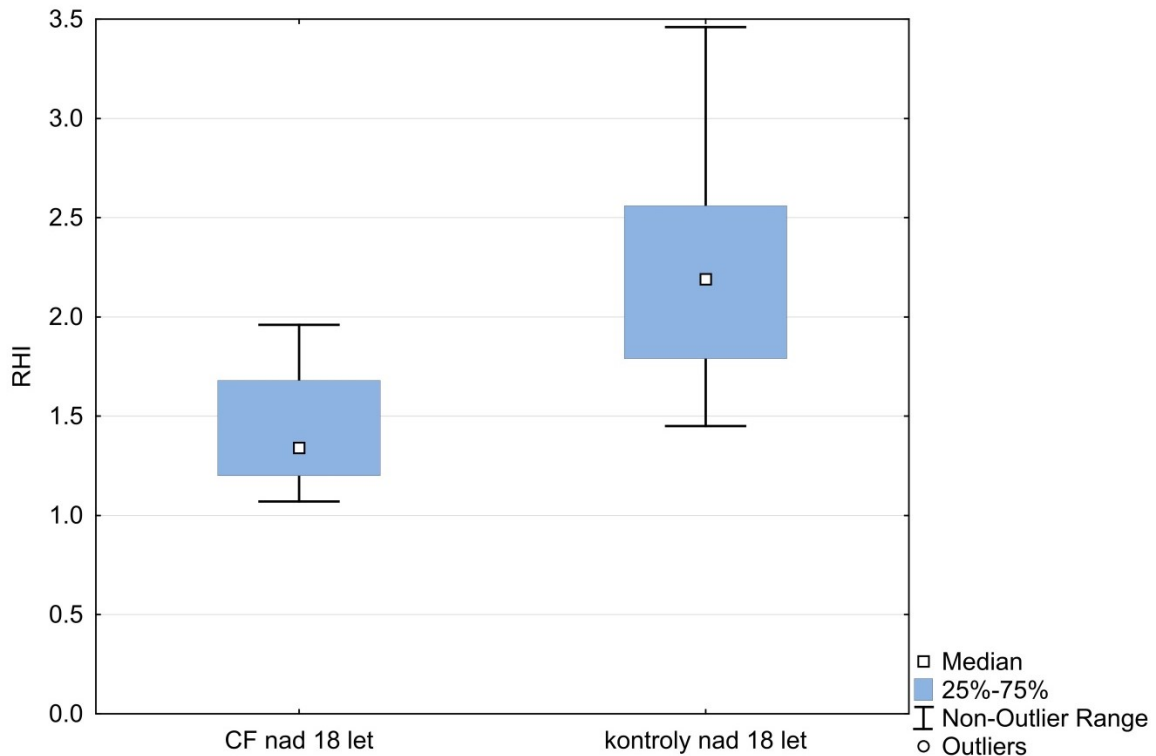
Vzhledem k výsledkům v dětské populaci s CF jsme rozšířili statistické zpracování souboru o dospělé nemocné s CF. Porovnáním RHI ve dvou věkových skupinách nemocných nad 15 let, tj. ve věkové skupině **15-18 let vs nad 18 let, jsme zjistili statisticky významný rozdíl ($p=0,03$)**. Ve věkové skupině nemocných 15-18 let byl medián RHI 1,80 (min 1,33; max 2,91) vs 1,34 (min 1,07; max 1,96) u dospělých s CF. Vztah RHI k oběma věkovým skupinám znázorňuje krabicový graf (Obr. 16).



Obr. 16. Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí RHI u dospívajících vs dospělých s CF (medián, minimální a maximální rozpětí)

CF - cystická fibróza, RHI - reaktivní hyperemický index

Pro dynamiku RHI s věkem svědčí též výsledek RHI v souboru dospělých s CF, kde medián RHI byl 1,34 (min 1,07; max 1,96) vs 2,19 (min 1,45; max 3,46) u zdravých kontrol (Obr. 17). **Ve věkové skupině nad 18 let byla prokázána významná korelace RHI s věkem (p=0,014).**



Obr. 17. Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí RHI u dospělých s CF vs kontroly (medián, minimální a maximální rozpětí)

CF - cystická fibróza, RHI - reaktivní hyperemický index

Biomarkery

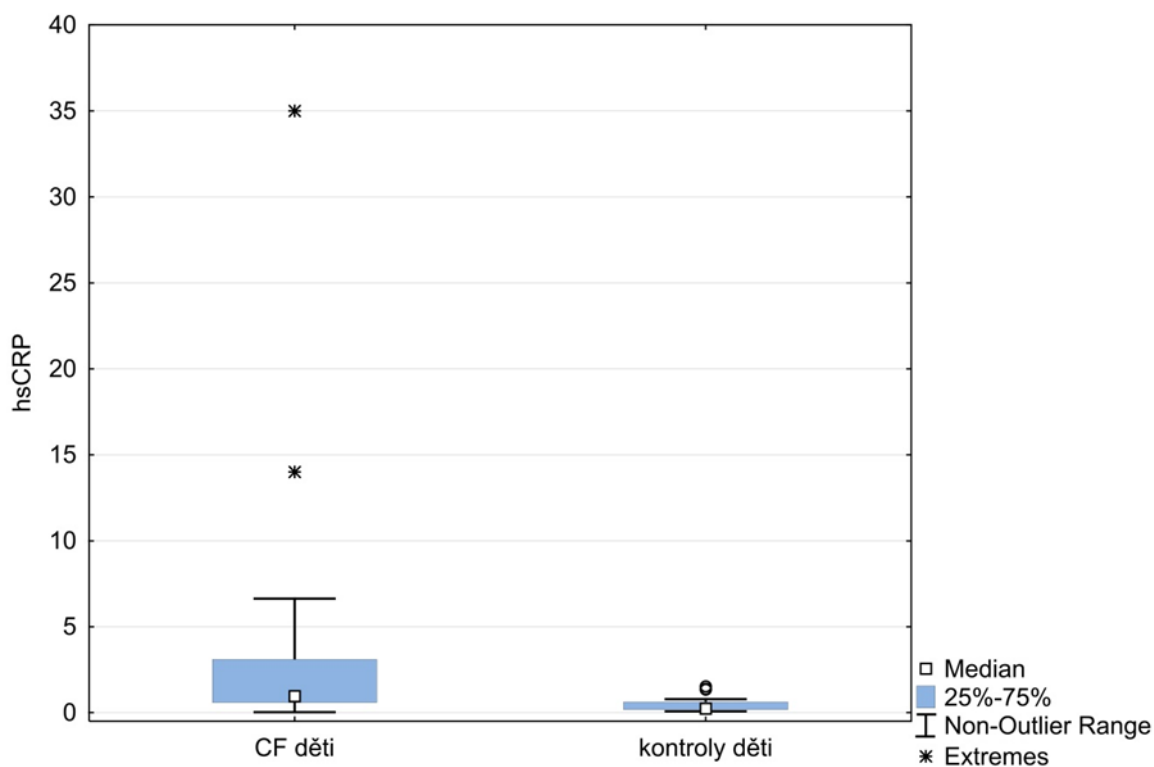
Výsledky všech stanovených biomarkerů souhrnně ukazuje tabulka 3. Hladina **hsCRP u dětí s CF byla signifikantně vyšší** v porovnání se zdravými jedinci ($p < 0,01$), výsledky jsou graficky znázorněny pomocí boxplotu (Obr. 18).

Hladiny **sVCAM-1 byly signifikantně vyšší u pacientů s CF** v porovnání se zdravými kontrolami (medián 1112; min 849; max 1669 $\mu\text{g/l}$ vs. 963; min 684; max 1323 $\mu\text{g/l}$; $p < 0,01$). Prokázaná statistická významnost u markeru sVCAM-1 byla obdobná jako u hsCRP (Obr. 19).

Hodnota **E-selektinu u dětí s CF byla signifikantně vyšší** v porovnání se zdravými kontrolami (medián 91,7; min 36,1; max 179 $\mu\text{g/l}$ vs. 63,1; min 20,8; max 142,2 $\mu\text{g/l}$; $p < 0,05$).

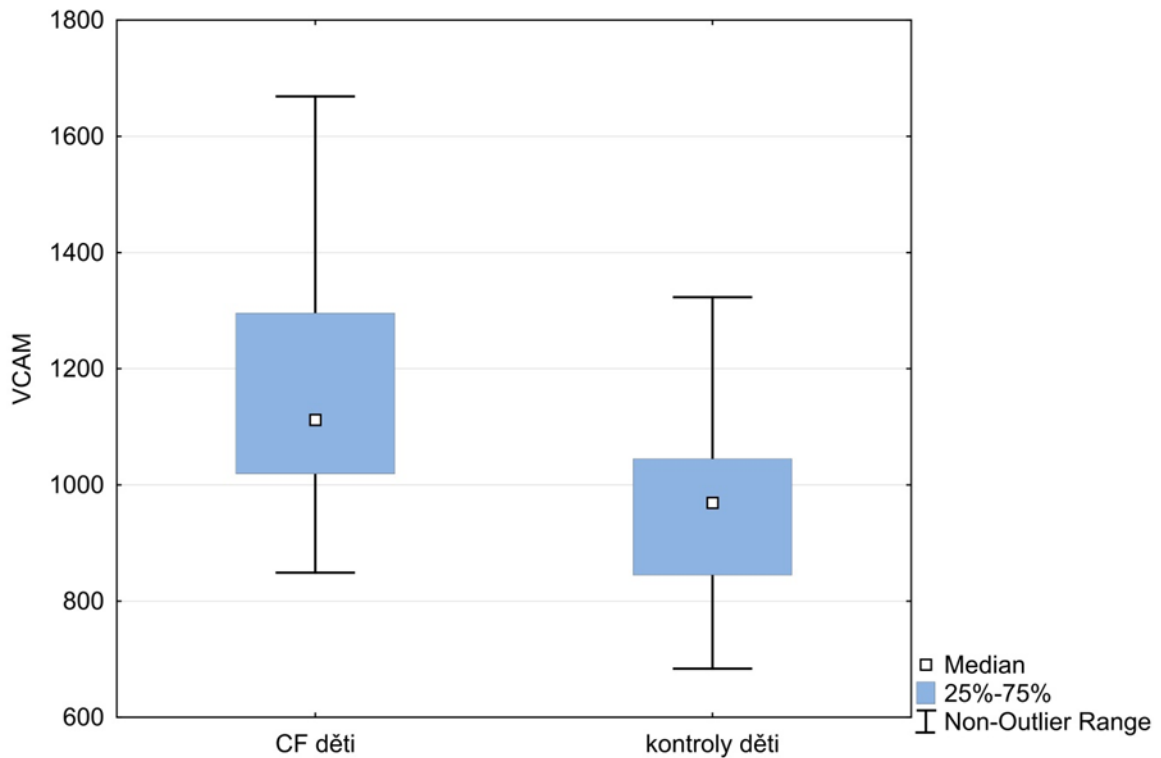
Hladina ADMA u dětí s CF byla překvapivě statisticky významně nižší v porovnání se zdravými kontrolami (medián 0,49; min 0,32; max 0,65 µg/l vs 0,59; min 0,34; max 0,73 µg/l; $p < 0,05$).

Porovnáním jednotlivých biomarkerů byla prokázána v souboru dětí s CF největší statistická významnost u hsCRP a sVCAM-1 a následně střední významnost u E-selektinu.



Obr. 18. Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí hsCRP u dětí s CF vs kontroly (medián, minimální a maximální rozpětí)

CF - cystická fibróza, hsCRP - vysoce senzitivní C-reaktivní protein



Obr. 19. Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí sVCAM-1 u dětí s CF vs kontroly (medián, minimální a maximální rozpětí)

CF - cystická fibróza, sVCAM-1– vazoadhezivní molekuly

Lipidogram

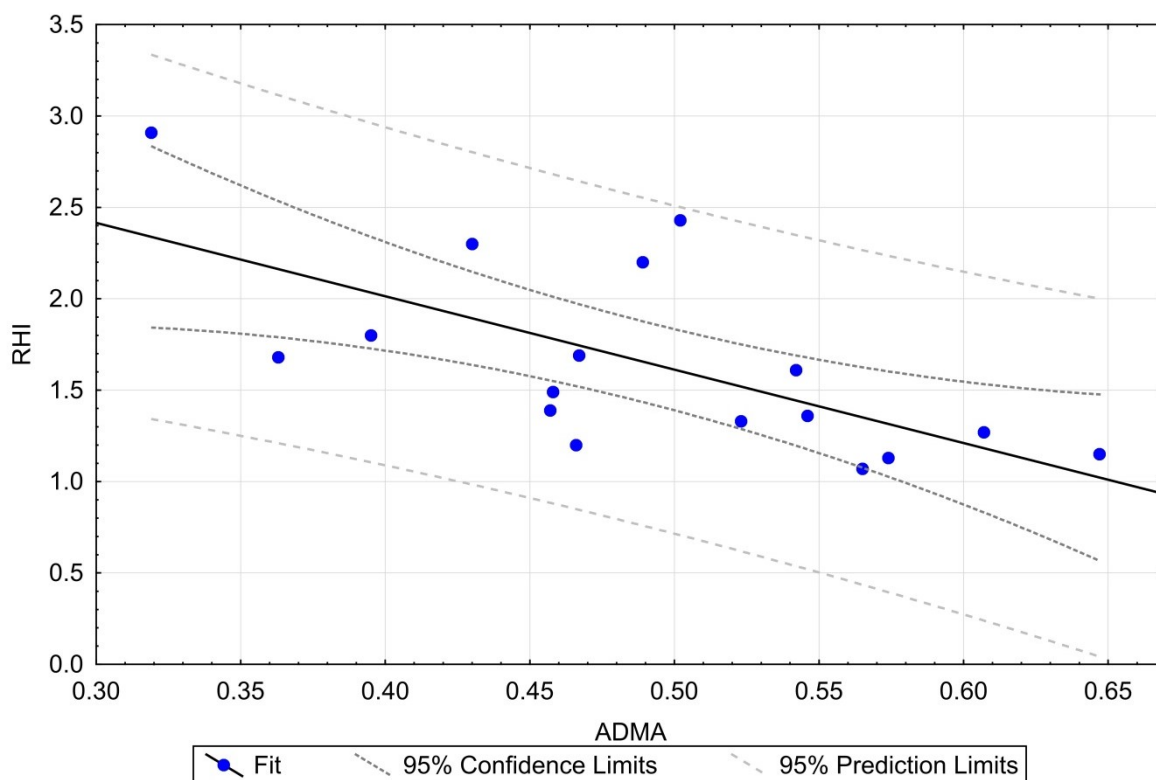
Hladiny HDL cholesterolu ve skupině dětí s CF byly statisticky významně nižší ($p < 0,05$) a současně jsme prokázali signifikantně vyšší hladinu triacylglycerolů ($p < 0,05$), což podporuje tezi o abnormalitách lipidového metabolismu jakožto faktoru potencujícím riziko KVO [15, 95]. Hypertriglyceridemie může souviset i s nezbytnou hyperalimentací u pacientů s touto diagnózou, ale u všech dětí byly hodnoty TGC v mezích referenčních hodnot.

Korelační analýza

Vztahy RHI s ADMA, hsCRP, sVCAM-1, E-selektinem

U dětí s CF byla nalezena **silná negativní korelace RHI s ADMA** ($r = -0,694$; $p < 0,01$), viz graf lineární korelace (Obr. 20). Prokázali jsme **střední pozitivní korelaci RHI s hsCRP** ($r = 0,592$; $p < 0,05$) a **střední negativní korelaci RHI s E-selektinem** ($r = -0,541$; $p < 0,05$). Výsledky znázorňuje Tab. 8.

V souboru zdravých kontrol do 18 let věku nebyly korelační analýzou prokázány vztahy mezi RHI a biomarkery.



Obr. 20. Lineární regrese RHI s ADMA u dětí s CF

Prokázána silná negativní korelace.

ADMA - asymetrický dimethylarginin, CF - cystická fibróza, RHI - reaktivní hyperemický index

	ADMA	hsCRP	E-selektin	sVCAM-1
RHI korelační koeficient	-0.694	0.592	-0.541	-0.469
RHI p-value	0.002	0.012	0.025	0.057

Tab. 8. Lineární regrese RHI s jednotlivými biomarkery u dětí s CF

ADMA - asymetrický dimethylarginin, hsCRP - vysoce senzitivní C-reaktivní protein, RHI - reaktivní hyperemický index, sVCAM-1- vazoadhezivní molekuly

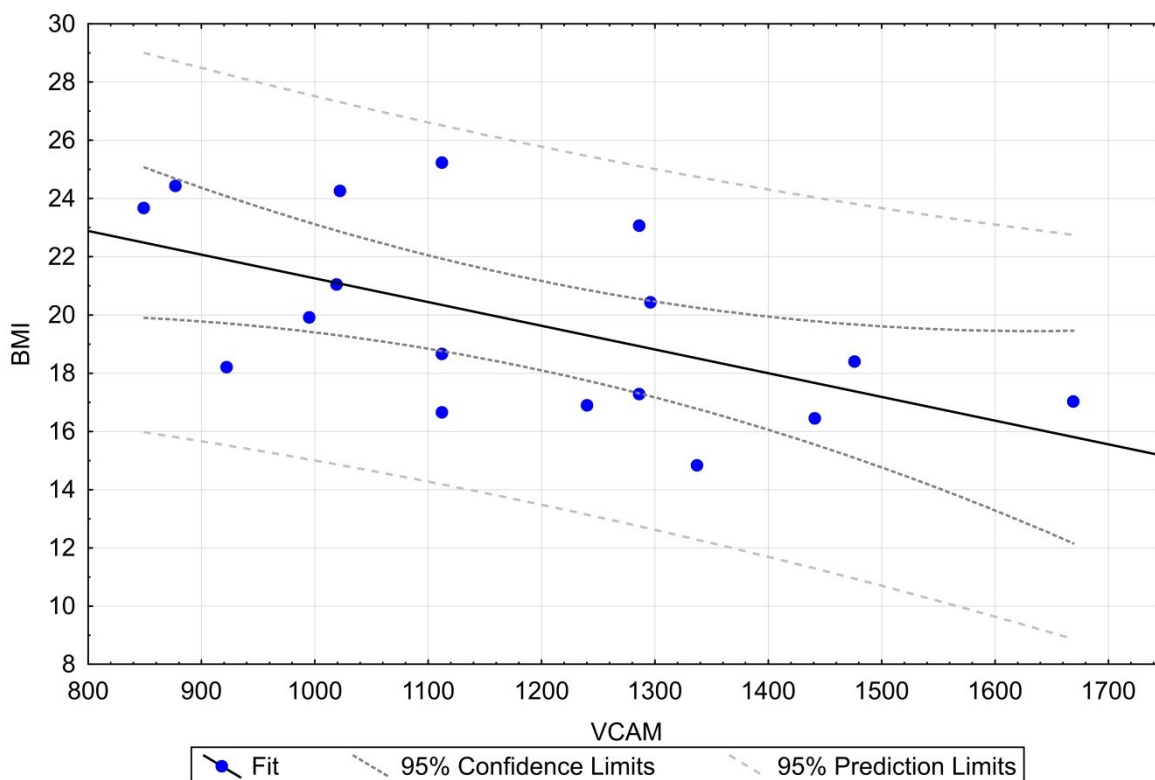
Vztahy BMI k RHI a jednotlivým biomarkerům

V souboru dětských nemocných s CF stav výživy nekoreloval s RHI, ale byla prokázána **středně silná negativní korelace s VCAM-1** ($r = -0,565$; $p < 0,05$), výsledky jsou uvedeny v Tab. 9 a grafu (Obr. 21). V souboru zdravých kontrol nebyly prokázány vztahy mezi BMI s RHI ani BMI s jednotlivými biomarkery.

	RHI	sVCAM-1
BMI korelační koeficient	0.328	-0.565
BMI p-value	0.198	0.018

Tab. 9. Lineární regrese BMI s RHI a VCAM-1 v souboru CF

BMI – body mass index, RHI – reaktivní hyperemický index, sVCAM-1– vazoadhezivní molekuly



Obr. 21. Lineární regrese BMI s VCAM-1 u dětí s CF

Prokázána středně silná negativní korelace.

BMI – body mass index, CF - cystická fibróza, sVCAM-1– vazoadhezivní molekuly

Vztahy RHI a jednotlivých biomarkerů k ostatním parametrům

Nebyl prokázán statisticky významný rozdíl mezi RHI či specifickými biomarkery ve vztahu k jednotlivým skupinám CFTR mutací (homozygoti F508del, heterozygoti F508del, ostatní). Nebyl potvrzen statisticky významný rozdíl mezi RHI či biomarkery ani ve vztahu ke kolonizaci dýchacích cest (chronická infekce *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*), k plicním funkcím (hranice normy FEV₁ 80%), k výskytu komplikací cystické fibrózy – hepatopatiím či diabetu vázaného na CF.

7.2.1.2 Cystická fibróza děti a dospělí

RHI

Hodnota **RHI** byla v celkovém souboru pacientů s CF **statisticky významně nižší** v porovnání s kontrolním souborem zdravých jedinců, a to 1,38 vs 1,81 ($p=0,003$). Výsledky jsou uvedeny v Tab. 10 a grafu (Obr. 22).

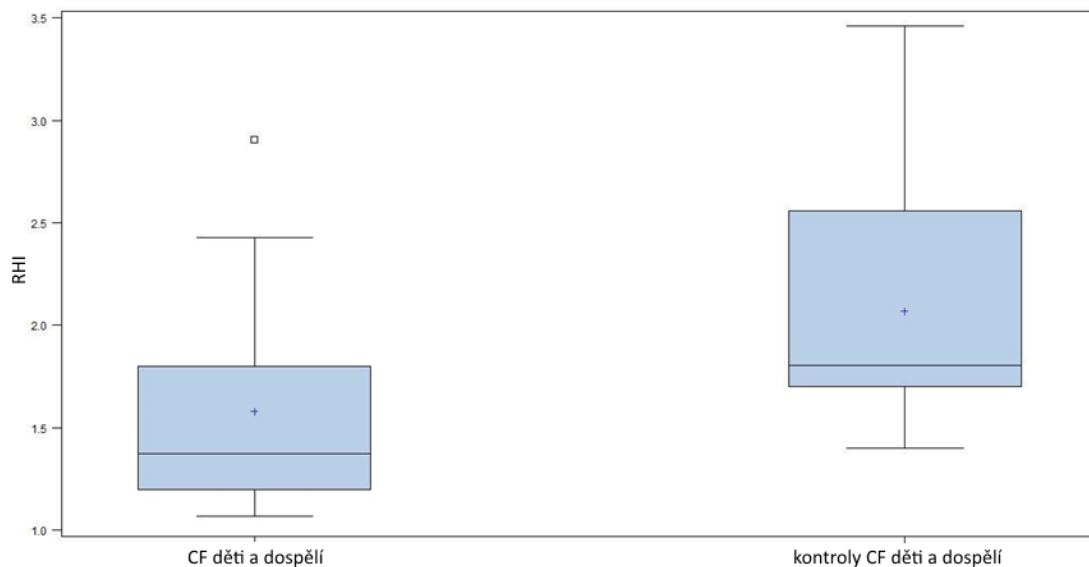
Při stanoveném cut-off RHI 1.67 jsme potvrdili statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) se specificitou 77,27% a senzitivitou 63,64%.

Data	CF	Kontroly	p-value	
RHI	1,38 (1,07; 2,91)	1,81 (1,40; 3,46)	0,003	p < 0,005
hsCRP (mg/l)	2,04 (0,03; 35,00)	0,31 (0,02; 1,64)	0,002	p < 0,005
sVCAM-1 (µg/l)	1112,00 (849,00; 1669,00)	939,95 (556,00; 1137,50)	0,001	p < 0,001
E-selektin (µg/l)	98,50 (36,10; 179,70)	46,10 (20,80; 106,10)	0,0002	p < 0,001
ADMA (µmol/l)	0,47 (0,27; 0,65)	0,56 (0,31; 0,73)	0,07	NS

Tab. 10. Hodnoty RHI a biomarkerů

Hodnoty vyjadřují medián s minimální a maximální hodnotou v závorce.

ADMA - asymetrický dimethylarginin, hsCRP - vysoce senzitivní C-reaktivní protein, NS - nesignifikantní výsledek RHI - reaktivní hyperemický index, sVCAM-1- vazoadhezivní molekuly



Obr. 22. Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí RHI u CF (souhrnně děti i dospělí) v porovnání s kontrolním souborem (medián, minimální a maximální rozpětí)

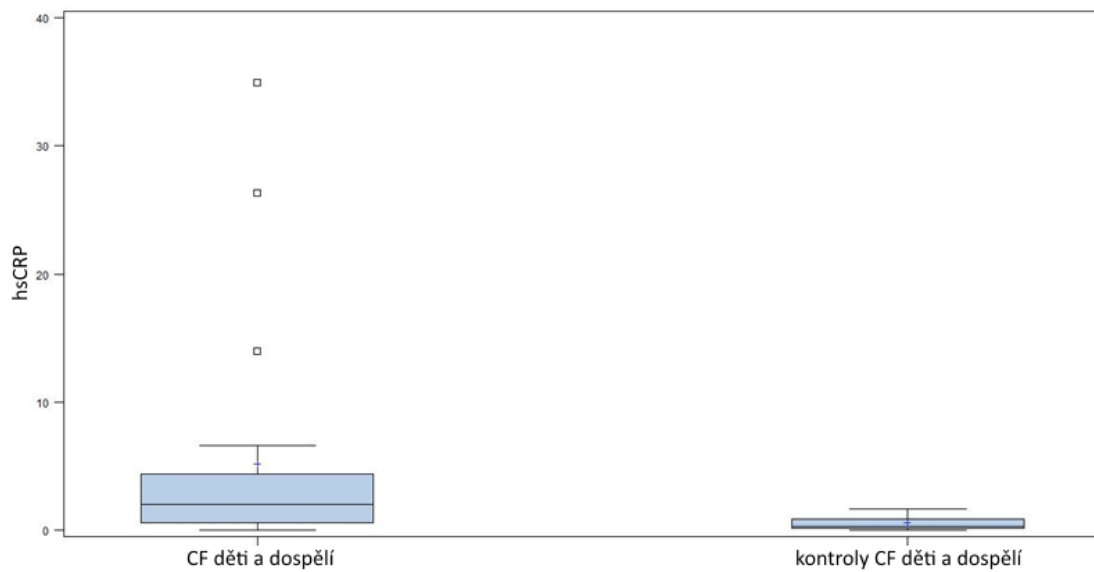
CF - cystická fibróza, RHI - reaktivní hyperemický index

Biomarkery

Výsledky stanovených biomarkerů souhrnně ukazuje Tab. 10.

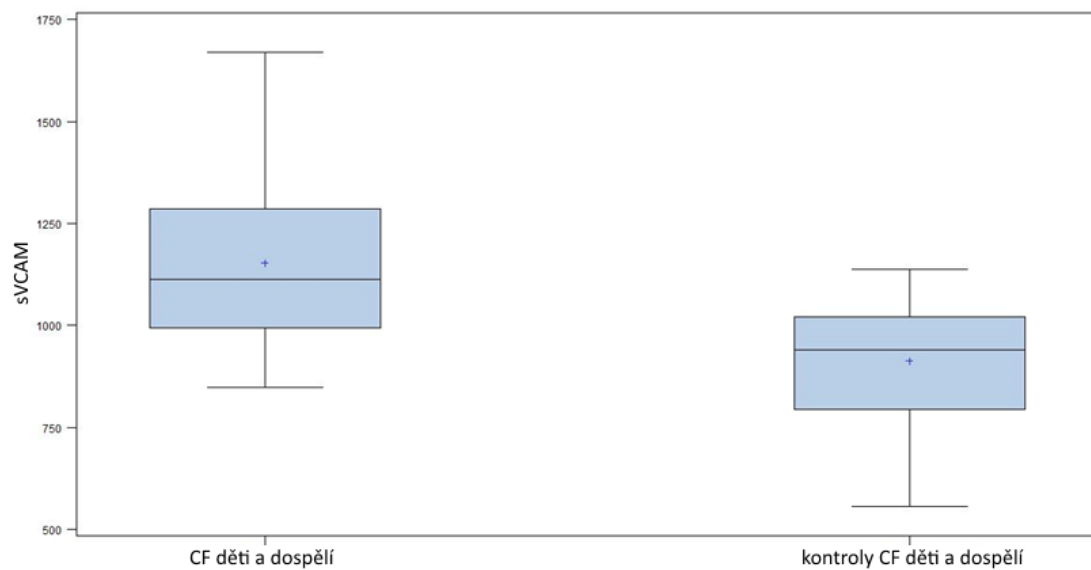
Hladiny hsCRP, sVCAM-1 a E-selektinu byly u nemocných statisticky významně vyšší (Obr. 23, Obr. 24, Obr. 25), v případě ADMA jsme zjistili v souboru nemocných nižší hodnoty bez statistické významnosti.

Největší statistická významnost byla prokázána v našem CF souboru **u E-selektinu** ($p=0,0002$), poté u sVCAM-1 ($p=0,001$) a hsCRP ($p=0,002$).



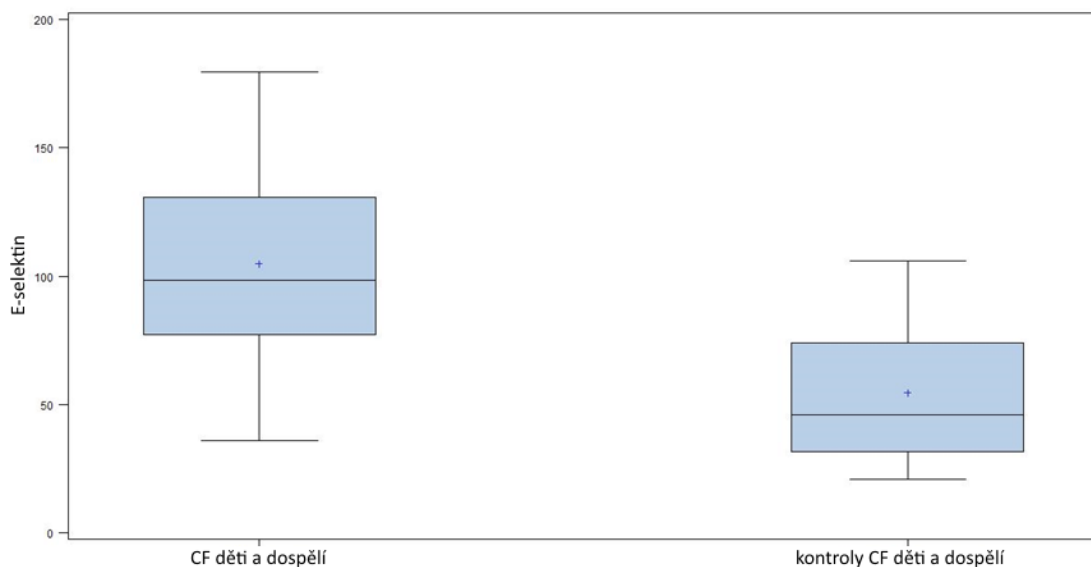
Obr. 23. Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí hsCRP v souboru CF děti i dospělí vs kontroly (medián, minimální a maximální rozpětí)

CF - cystická fibróza , hsCRP - vysoce senzitivní C-reaktivní protein



Obr. 24. Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí sVCAM-1 u CF (souhrnně děti i dospělí) vs kontroly (medián, minimální a maximální rozpětí)

CF - cystická fibróza, sVCAM-1– vazoadhezivní molekuly



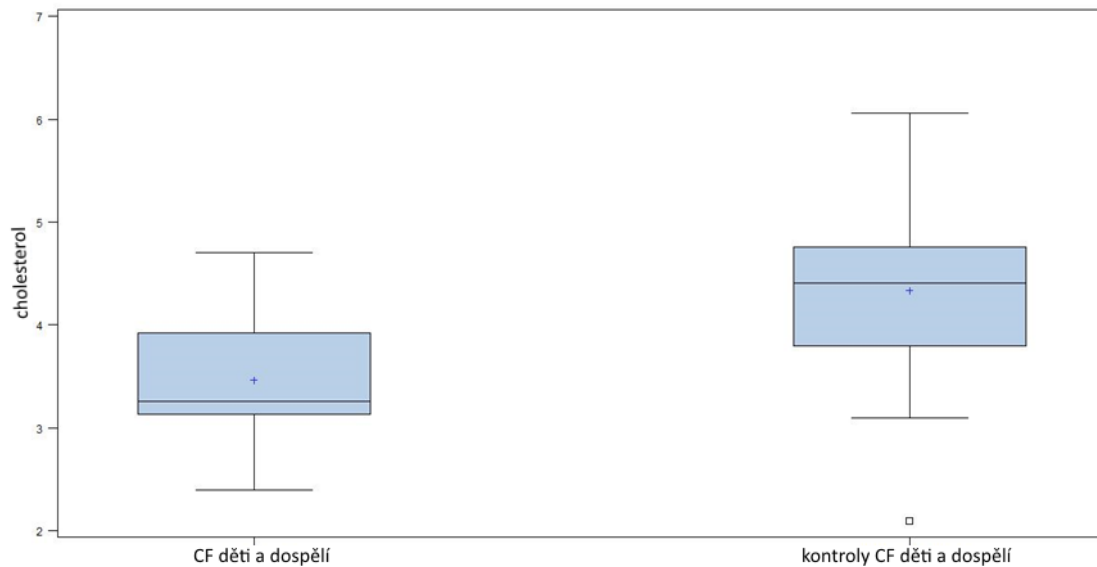
Obr. 25. Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí E-selektinu u CF (souhrnně děti i dospělí) vs kontroly (medián, minimální a maximální rozpětí)

CF - cystická fibróza, E-selektin– vazoadhezivní molekuly

Lipidogram

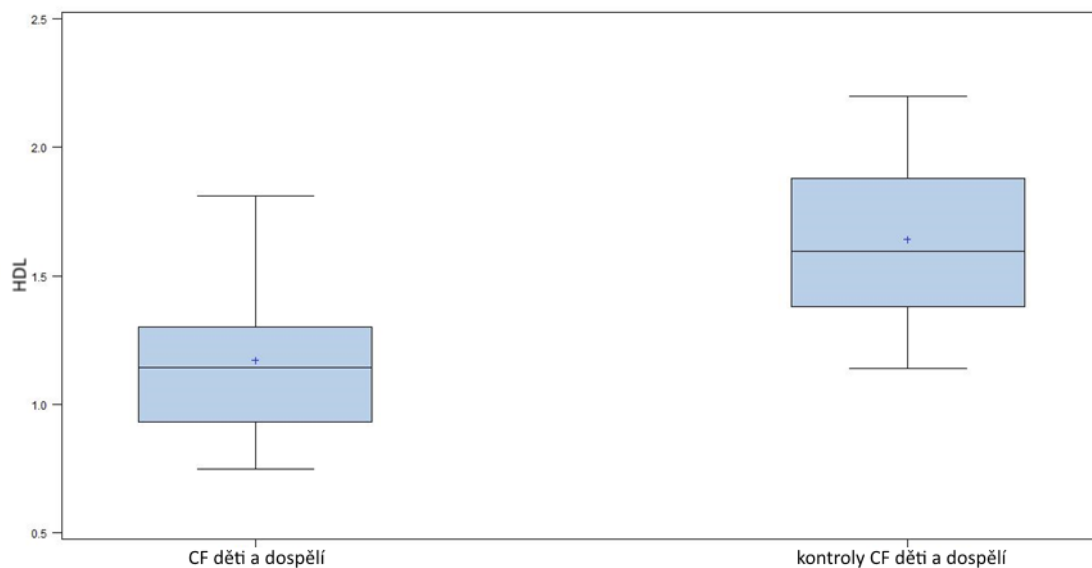
Byl prokázán statisticky významný rozdíl v hladinách celkového cholesterolu i jeho frakcí HDL a LDL cholesterolu (Obr. 26, Obr. 27), ve všech třech parametrech byly hodnoty u nemocných signifikantně nižší (cholesterol: $p=0,002$, LDL cholesterol: $p=0,01$, HDL cholesterol: $p=0,0003$). Hladina triacylglycerolů byla bez statistické významnosti mezi jednotlivými soubory.

Stejně jako jsme zjistili **signifikantně nižší hladinu HDL cholesterolu** u dětských pacientů s CF, i v této skupině jsme prokázali nízkou hladinu HDL, kterou považujeme za významný rizikový faktor aterogeneze u CF [15, 94].



Obr. 26. Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí celkového cholesterolu u CF (souhrnně děti a dospělí) v porovnání s kontrolním souborem (medián, minimální a maximální rozpětí)

CF - cystická fibróza



Obr. 27. Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí HDL cholesterolu u CF (souhrnně děti a dospělí) v porovnání s kontrolním souborem (medián, minimální a maximální rozpětí)

CF - cystická fibróza, HDL – lipoproteiny s vysokou denzitou

Korelační analýza

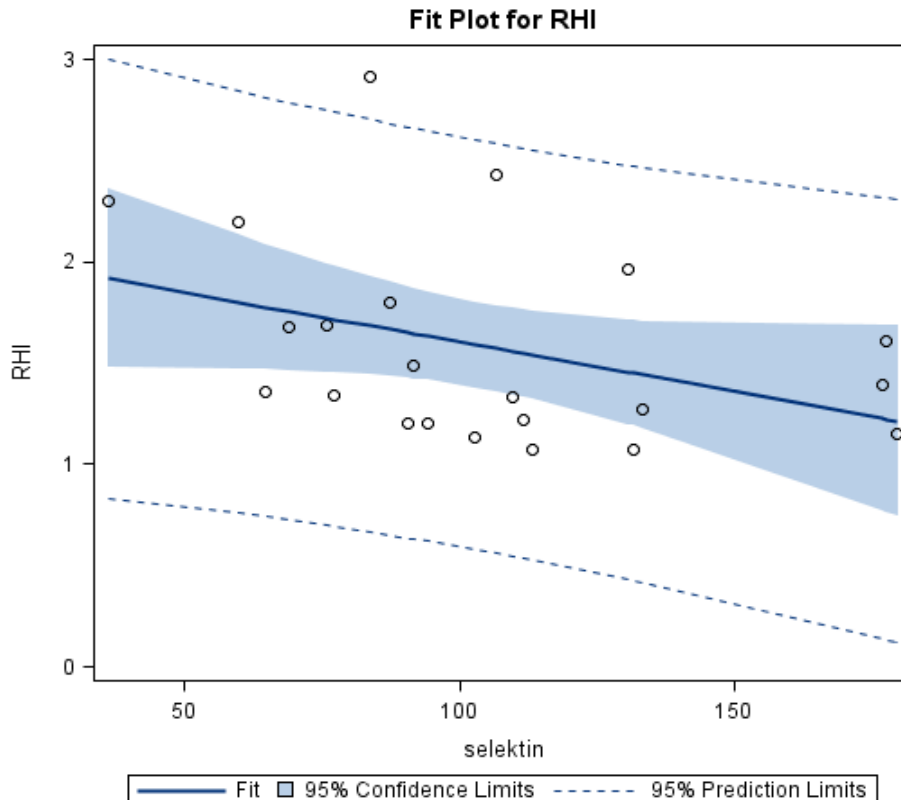
Vztahy RHI s ADMA, hsCRP, sVCAM-1, E-selektin

V souboru CF byla nalezena **slabě negativní korelace RHI s E-selektinem** ($r = -0,472$; $p < 0,05$). Mezi RHI a ostatními biomarkery nebyla prokázána statisticky významná korelace. Výsledky znázorňuje Tab. 11 a graf lineární korelace (Obr. 28).

	ADMA	hsCRP	E-selektin	sVCAM-1
RHI korelační koeficient	-0.403	0.355	-0.472	-0.299
RHI p-value	0.063	0.105	0.027	0.177

Tab. 11. Lineární regrese RHI s jednotlivými biomarkery u CF děti i dospělí

ADMA - asymetrický dimethylarginin, hsCRP - vysoce senzitivní C-reaktivní protein, RHI - reaktivní hyperemický index, sVCAM-1- vazoadhezivní molekuly

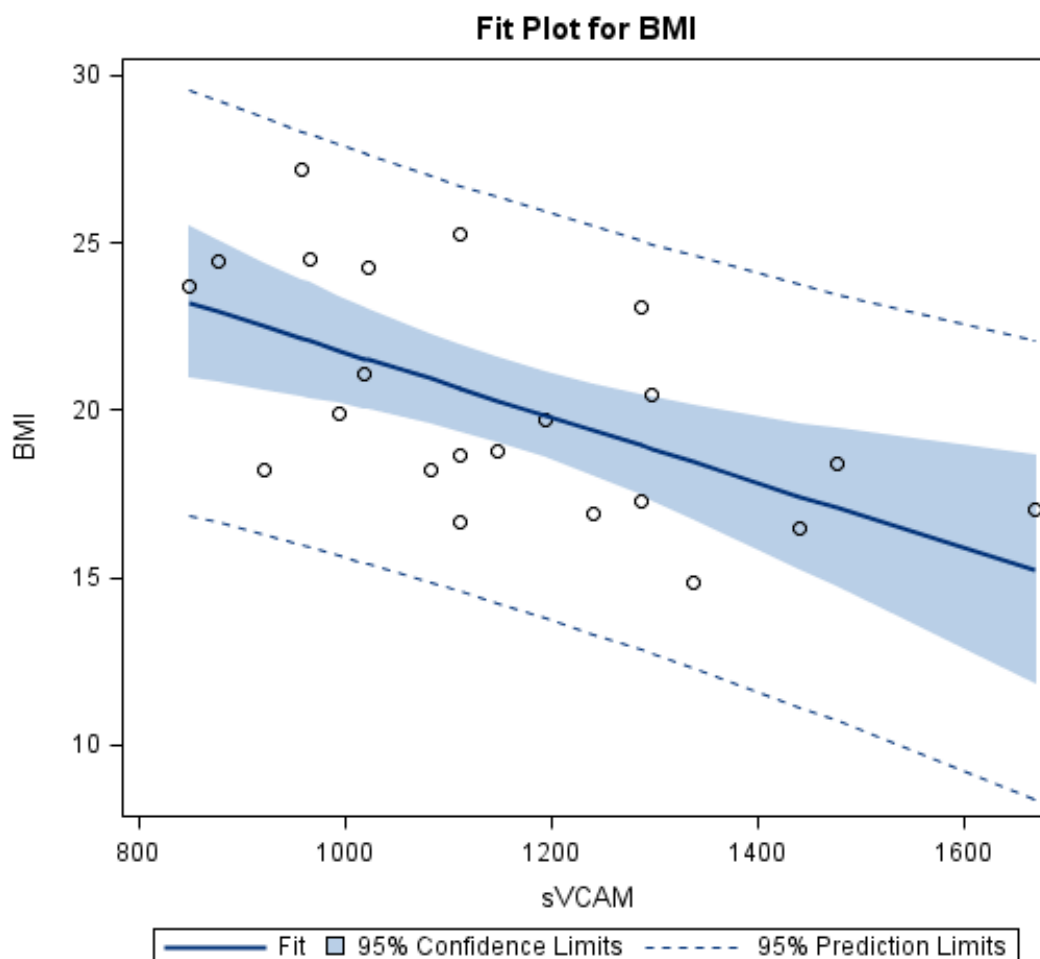


Obr. 28. Lineární regrese RHI s E-selektinem u CF. Prokázána slabě negativní korelace. CF - cystická fibróza, RHI - reaktivní hyperemický index

V souboru zdravých kontrol byla korelační analýzou prokázána slabě negativní korelace mezi RHI a ADMA ($r=-0,471$, $p=0,03$)

Vztahy BMI k RHI a jednotlivým biomarkerům

V souboru nemocných s CF stav výživy nekoreloval s RHI. Byla prokázána **středně silná negativní korelace BMI s VCAM-1** ($r = -0,601$; $p < 0,005$), výsledky jsou uvedeny v tabulce Tab. 12 a grafu (Obr. 29).



Obr. 29. Lineární regrese BMI s VCAM-1 u CF. Prokázána středně silná negativní korelace BMI – body mass index, CF - cystická fibróza, sVCAM-1– vazoadhezivní molekuly

	RHI	sVCAM-1
BMI korelační koeficient	0.231	-0.601
BMI p-value	0.301	0.003

Tab. 12. Lineární regrese BMI s RHI a VCAM-1 v souboru CF děti a dospělí

BMI – body mass index, RHI – reaktivní hyperemický index, sVCAM-1– vazoadhezivní molekuly

V souboru zdravých kontrol nebyly Spearmanovskou korelací prokázány vztahy mezi BMI k RHI a BMI k jednotlivým biomarkerům.

Vztahy RHI a jednotlivých biomarkerů k ostatním parametrům

Nebyl prokázán statisticky významný rozdíl mezi RHI či specifickými biomarkery ve vztahu k jednotlivým skupinám mutací CFTR genu (homozygoti F508del, heterozygoti F508del, ostatní). Nebyl potvrzen statisticky významný rozdíl mezi RHI či biomarkery ani ve vztahu ke kolonizaci dýchacích cest (chronická infekce *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*), k plicním funkcím (hranice normy FEV1 80%), k výskytu komplikací cystické fibrózy – hepatopatiím či diabetu vázaného na CF.

7.2.2 Asthma bronchiale

RHI

Prokázali jsme statisticky významný rozdíl RHI v obou vyšetřovaných souborech. **Hodnota RHI byla v souboru astmatiků statisticky významně nižší** v porovnání s kontrolním souborem zdravých jedinců, a to 1,53 vs 1,81 ($p=0,0003$). Výsledky jsou uvedeny v Tab. 13 a grafu (Obr. 30).

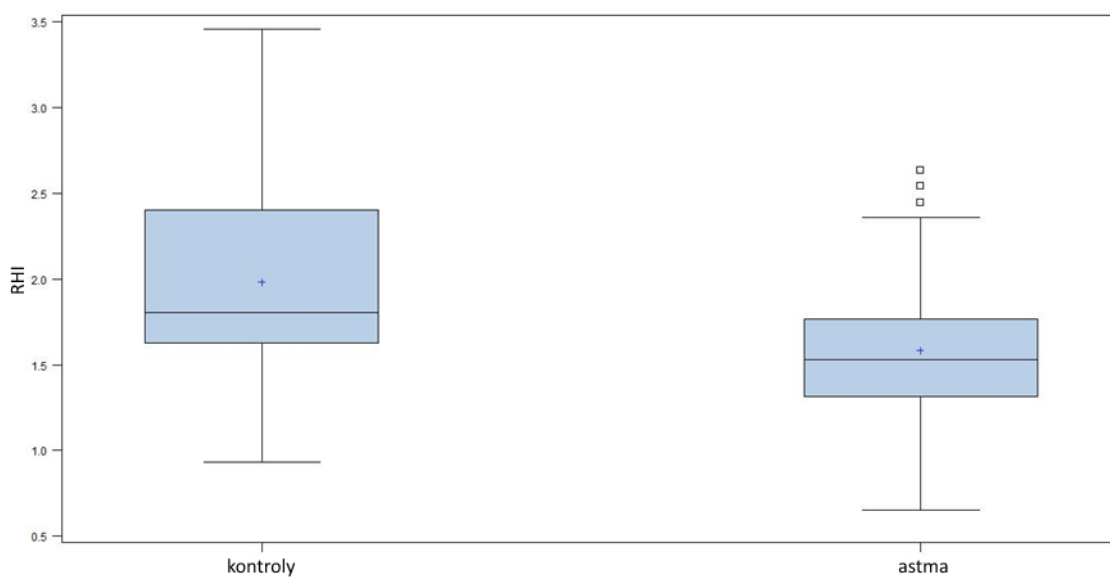
Při stanoveném cut-off RHI 1.67 jsme potvrdili statisticky významný rozdíl ($p=0,001$) se specificitou 72,73% a senzitivitou 61,54%.

Data	AB	Kontroly	p-value	Statistická významnost
RHI	1,53 (0,65; 2,64)	1,81 (0,93; 3,46)	0,0003	p < 0,001
hsCRP (mg/l)	0,90 (0; 20,80)	0,25 (0,02; 1,64)	0,0008	p < 0,001
sVCAM-1(µg/l)	758,10 (403,1; 1414,9)	942,15 (555,5; 1518,4)	0,008	p < 0,01
E-selektin (µg/l)	53,00 (10,10; 141,80)	53,20 (18,70; 145,80)	0,74	NS
ADMA (µmol/l)	0,44 (0,25; 0,83)	0,54 (0,31; 0,89)	0,005	p < 0,05

Tab. 13. Hodnoty RHI a biomarkerů

Hodnoty vyjadřují medián s minimální a maximální hodnotou v závorce.

AB – asthma bronchiale, ADMA - asymetrický dimethylarginin, hsCRP - vysoce senzitivní C-reaktivní protein, NS - nesignifikantní výsledek, RHI - reaktivní hyperemický index, sVCAM-1- vazoadhezivní molekuly



Obr. 30. Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí RHI u astmatiků v porovnání s kontrolním souborem. (medián, minimální a maximální rozpětí)

RHI - reaktivní hyperemický index

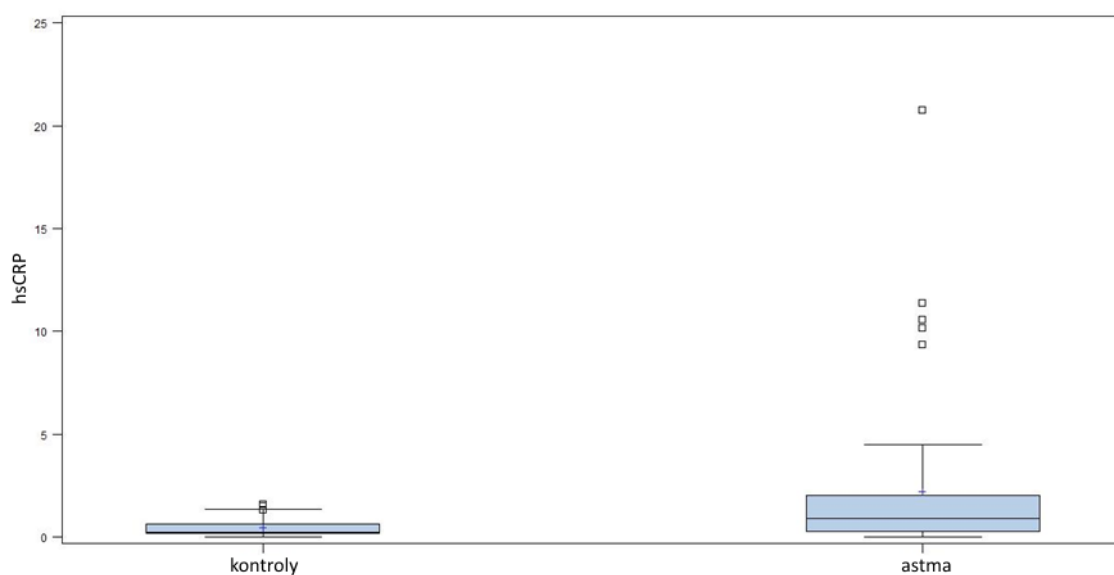
Biomarkery

Výsledky stanovených biomarkerů souhrnně ukazuje Tab. 13.

Byla prokázána statisticky významně vyšší hladina hsCRP u nemocných s asthma bronchiale (medián 0,9 vs 0,25 u zdravých kontrol, $p < 0,001$) s grafickým znázorněním na Obr. 31.

U markerů ADMA a sVCAM-1 byly zjištěny statisticky významně nižší hladiny, při věkové nehomogenitě vyšetřovaného souboru. Výsledky jsou graficky zobrazeny krabicovými grafy Obr. 32 a Obr. 33.

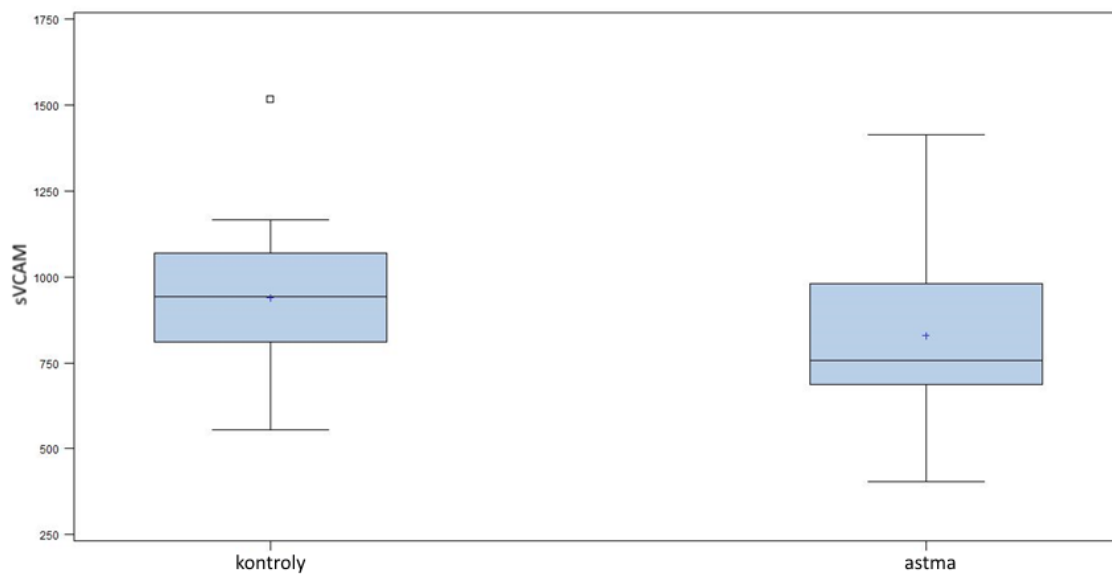
Statistická významnost mezi jednotlivými soubory nebyla prokázána u E-selektinu.



Obr. 31. Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí hsCRP v souboru Astma vs zdravé kontroly (medián, minimální a maximální rozpětí)

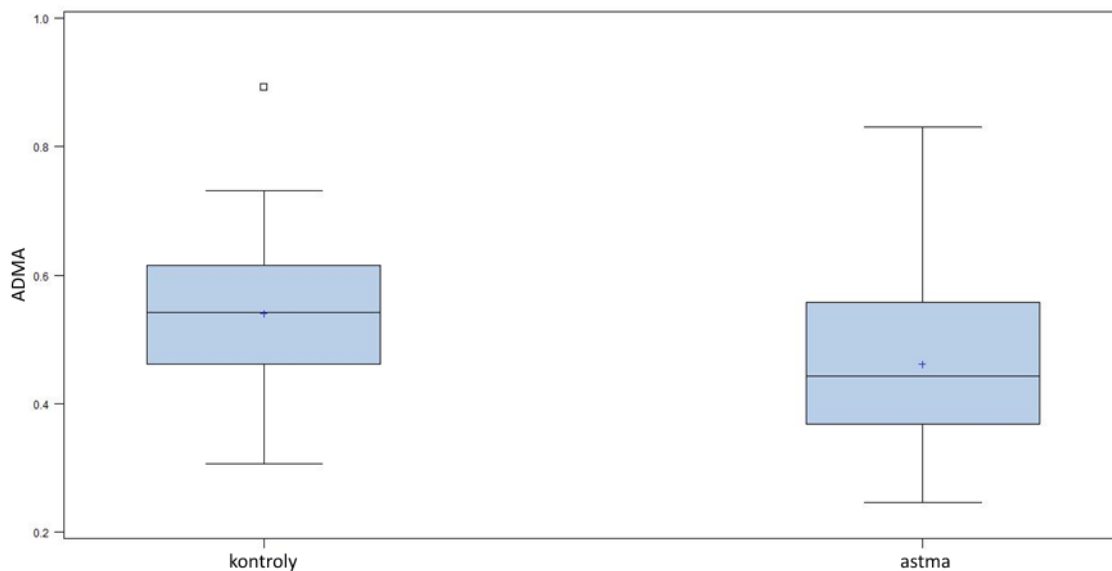
hsCRP - vysoce senzitivní C-reaktivní protein

BOX & WHISKER PLOT DIAGRAM



Obr. 32. Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí sVCAM-1 v souboru Astma vs zdravé kontroly (medián, minimální a maximální rozpětí)

sVCAM-1- vazoadhezivní molekuly



Obr. 33. Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí ADMA v souboru Astma vs zdravé kontroly (medián, minimální a maximální rozpětí)

ADMA - asymetrický dimethylarginin

Korelační analýza

Vztahy RHI s ADMA, hsCRP, sVCAM-1, E-selektinem

V souboru astmatiků nebyla nalezena korelace RHI s jednotlivými biomarkery. Výsledky znázorňuje Tab. 14.

	ADMA	hsCRP	E-selektin	sVCAM-1
RHI korelační koeficient	0.00397	0.03146	-0.14750	-0.23190
RHI p-value	0.9777	0.8248	0.2967	0.1051

Tab. 14. Lineární regrese RHI s jednotlivými biomarkery v souboru Astma

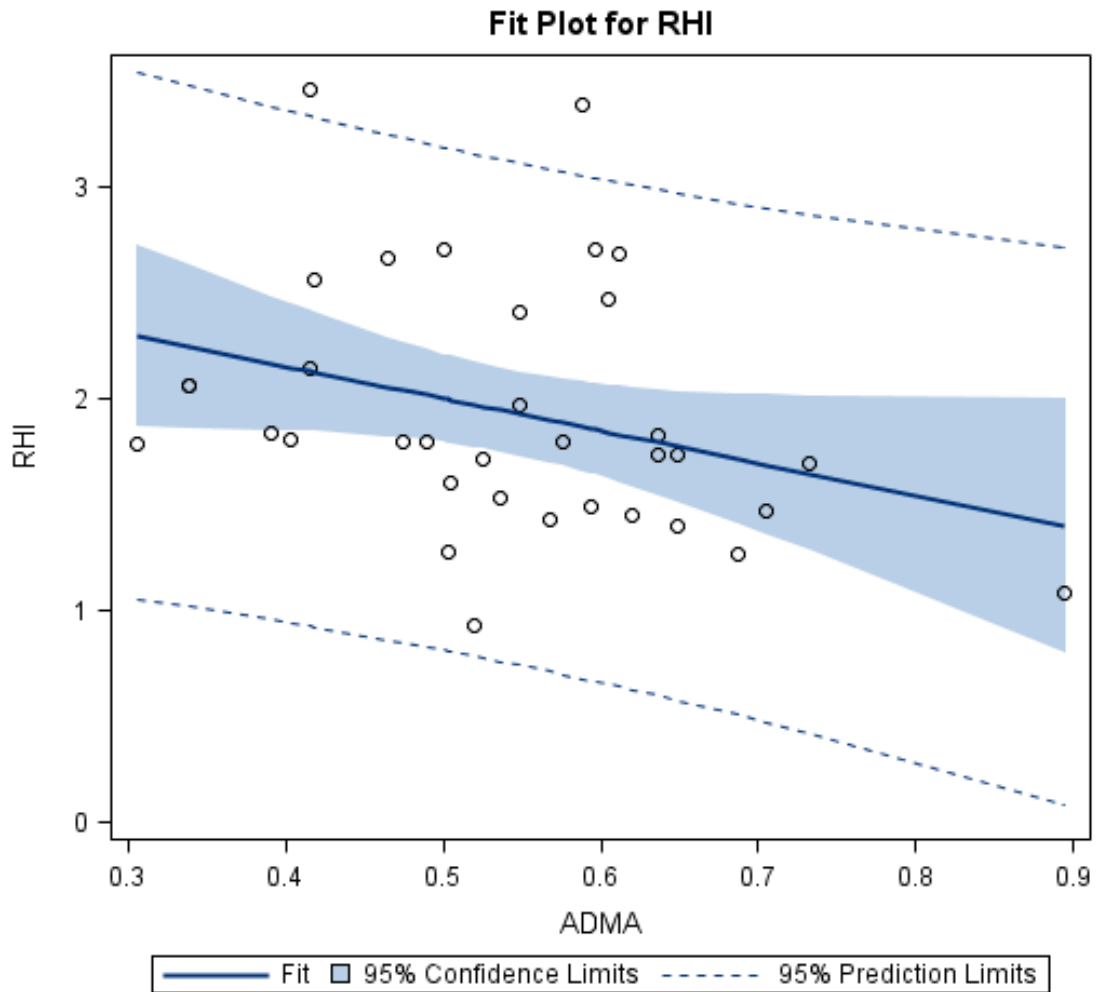
ADMA - asymetrický dimethylarginin, RHI - reaktivní hyperemický index, hsCRP - vysoce senzitivní C-reaktivní protein, sVCAM-1 - vazoadhezivní molekuly

V souboru zdravých kontrol byla korelační analýzou prokázána slabě negativní korelace mezi RHI a ADMA ($r=-0,407$, $p<0,05$). Výsledky znázorňuje Tab. 15 a graf (Obr. 34).

	ADMA	hsCRP	E-selektin	sVCAM-1
RHI korelační koeficient	-0.40664	0.21793	0.16032	-0.16569
RHI p-value	0.0153	0.2085	0.3651	0.3415

Tab. 15. Lineární regrese RHI s jednotlivými biomarkery v kontrolním souboru

ADMA - asymetrický dimethylarginin, RHI - reaktivní hyperemický index, hsCRP - vysoce senzitivní C-reaktivní protein, sVCAM-1- vazoadhezivní molekuly

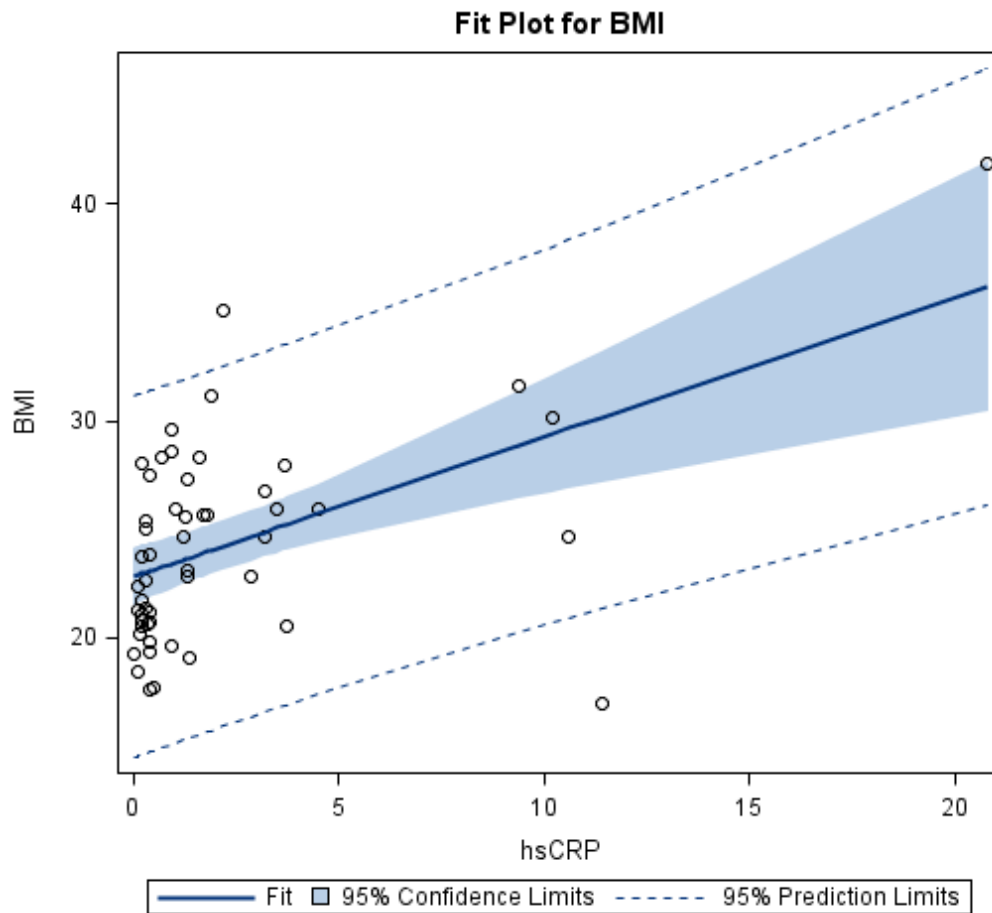


Obr. 34. Graf lineární regrese RHI s ADMA u zdravých kontrol

Vztahy BMI k RHI a jednotlivým biomarkerům

V souboru nemocných s astmatem stav výživy nekoreloval s RHI.

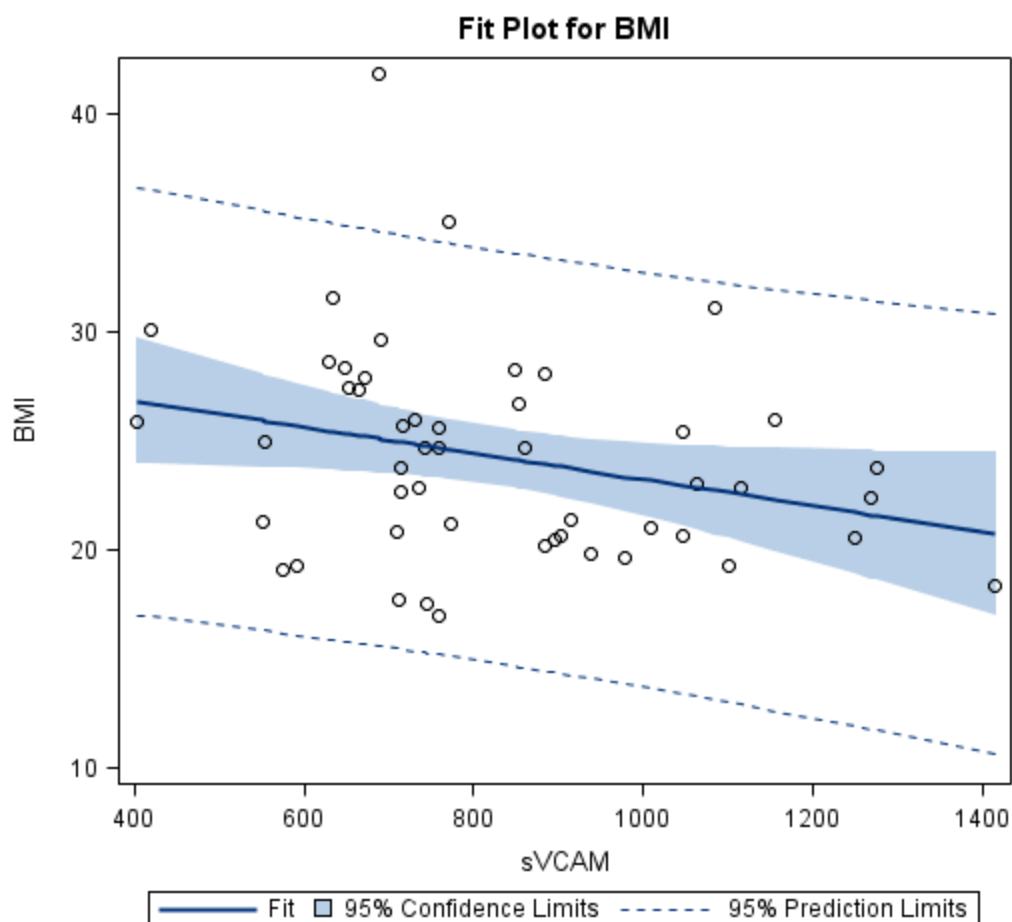
Byla prokázána **středně silná korelace BMI s hsCRP** ($r = -0,601$; $p < 0,005$), výsledky jsou uvedeny v Tab. 16 a grafech lineární regrese (Obr. 35, Obr. 36).



Obr. 35. Lineární regrese BMI s hsCRP u astmatiků.

Prokázána středně silná pozitivní korelace.

BMI – body mass index, hsCRP - vysoce senzitivní C-reaktivní protein



Obr. 36. Lineární regrese BMI s VCAM-1 u astmatiků.
 Prokázána slabá negativní korelace.
 BMI – body mass index, sVCAM-1– vazoadhezivní molekuly

	RHI	hsCRP	sVCAM-1
BMI korelační koeficient	0.14872	0.46118	-0.31240
BMI p-value	0.2927	0.0006	0.0272

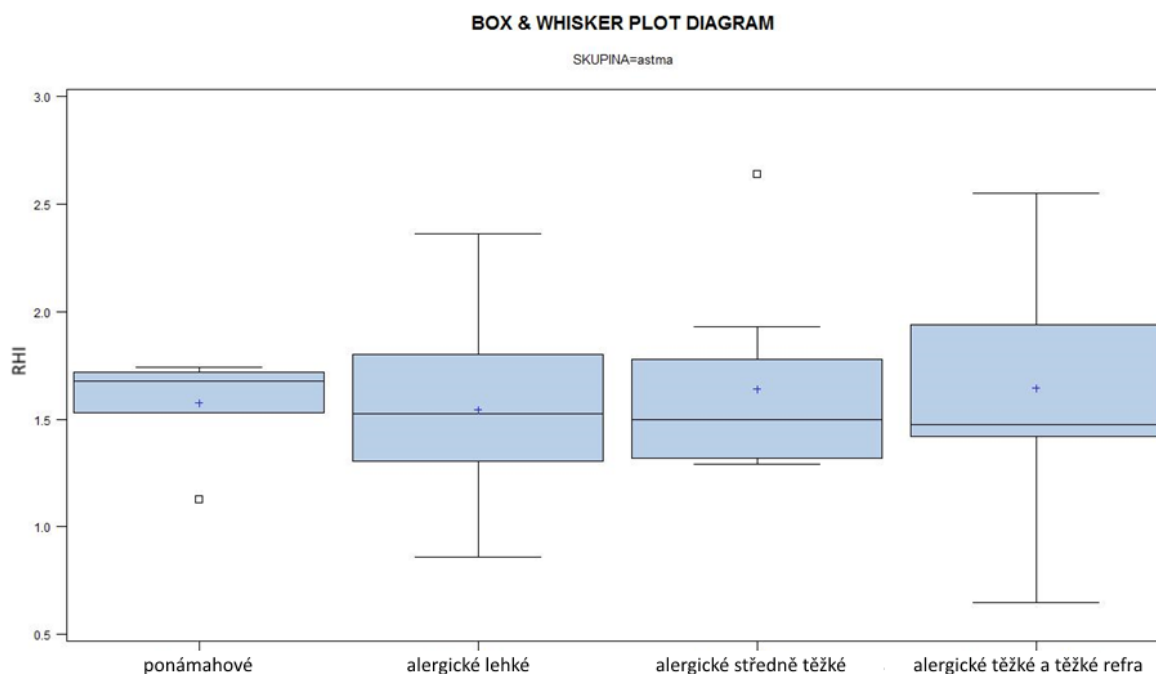
Tab. 16. Lineární regrese BMI s RHI, hsCRP a sVCAM-1 v souboru astmatiků
 BMI – body mass index, RHI – reaktivní hyperemický index, hsCRP - vysoce senzitivní C-reaktivní protein, sVCAM-1– vazoadhezivní molekuly

V souboru zdravých kontrol nebyly Spearmanovskou korelační analýzou prokázány vztahy mezi BMI k RHI ani BMI k jednotlivým biomarkerům.

Vztahy RHI a jednotlivých biomarkerů k ostatním parametrům

Ve vztahu k typu, resp. tíži astmatu byl v našem souboru zjištěn pokles RHI s tíží astmatu (medián 1,52 u lehkého astmatu vs 1,50 u středně těžkého astmatu vs 1,48 u těžkého a těžkého refrakterního astmatu), ale bez statistické významnosti, roli může hrát celkově nízký počet nemocných a početní zastoupení v jednotlivých podskupinách.

Medián RHI u ponámahového typu astmatu byl 1,67, což může souviset s nižším kardiovaskulárním rizikem v případě nealergického astmatu, za předpokladu s vědomím, že naši nemocní s tímto fenotypem byli celkově velmi dobře kompenzovaní na inhalační antiastmatické terapii. Rozdíly RHI graficky znázorňuje Obr. 37.



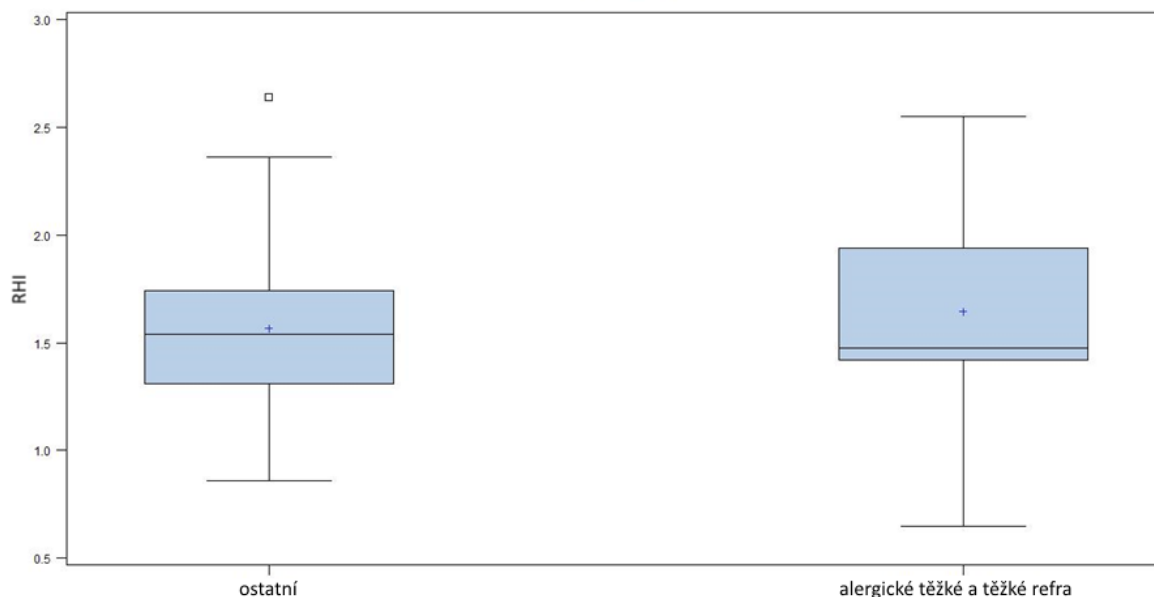
Obr. 37. Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí RHI v souboru Astma dle typu/tíže astmatu (medián, minimální a maximální rozpětí)

RHI - reaktivní hyperemický index

Při porovnání nejtěžší skupiny astmatiků s ostatními jsme zjistili nižší RHI (medián 1,48 u těžkého astmatu vs 1,54 u ostatních nemocných) bez prokázané statistické významnosti. Rozdíl je graficky znázorněn na Obr. 38. K ověření dynamiky RHI k tíži onemocnění budou zapotřebí další studie.

BOX & WHISKER PLOT DIAGRAM

SKUPINA=astma



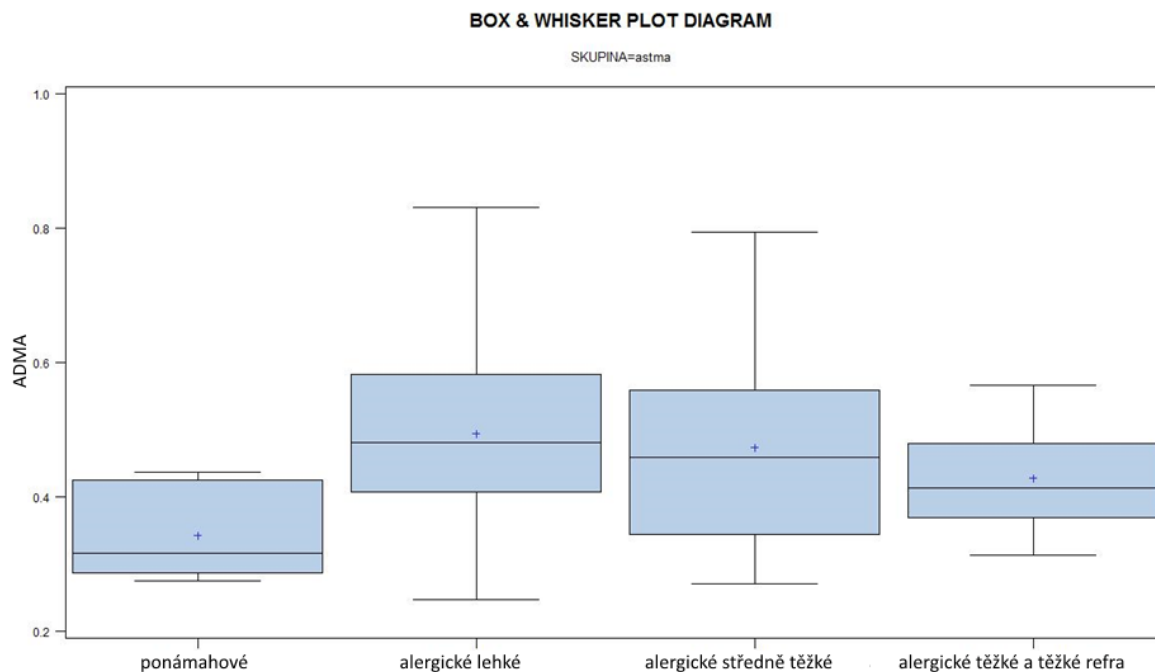
Obr. 38. Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí RHI v souboru Astma porovnáním těžkého a těžkého refrakterního astmatu s ostatními (medián, minimální a maximální rozpětí)
RHI - reaktivní hyperemický index

Ve vztahu RHI k tíži alergického endobronchiálního zánětu měřeného dle FeNO byl zjištěn klesající trend RHI s tíží daného faktoru (medián 1,60 u normálních hodnot FeNO vs 1,52 u lehce zvýšených v tzv. šedé zóně vs 1,42 u pozitivních hodnot znamenajících floridní eosinofilní zánět dýchacích cest), ale bez statistické významnosti. Při zhodnocení podskupiny s patologicky pozitivní hodnotou FeNO v porovnání s ostatními nemocnými je naznačen klesající trend mediánu RHI (1,55 u ostatních vs 1,42 u positivity FeNO), též jako v předchozí korelaci, ale bez statistické významnosti.

Ve vztahu RHI k plicním funkcím, kde jsme hodnotili tíži periferní obstrukce, jsme zjistili rozdíl RHI mezi skupinou nemocných s těžkou a velmi těžkou obstrukcí v porovnání s ostatními podskupinami dle plicních funkcí (medián 1,43 vs 1,54 u ostatních), ale bez statistické významnosti, korelace RHI s tíží obstrukce proto nebyla v našem souboru prokázána.

Ve vztahu RHI ke kontrole nad astmatem nebyla prokázána korelace, otázkou je i subjektivnost hodnocení dotazníků TKA pacienty.

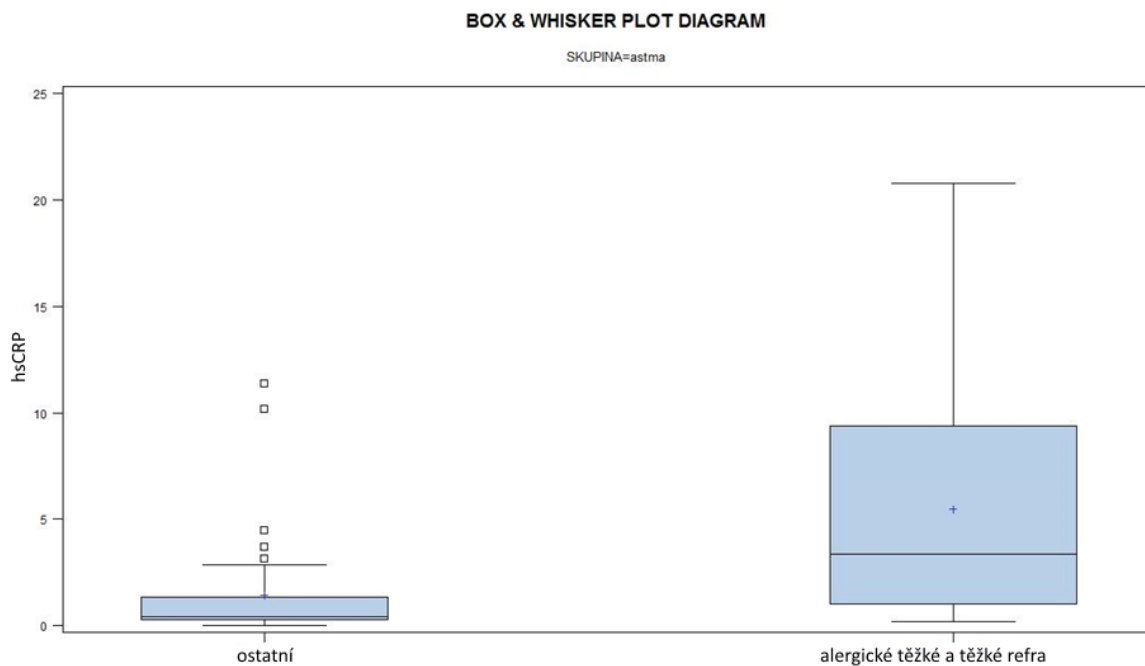
Z biomarkerů byl prokázán **pokles ADMA s tíží alergického astmatu** (medián 0,48 u lehkého astmatu vs 0,46 středně těžkého vs 0,41 u těžkého a těžkého refrakterního, $p < 0.05$, Obr. 39), hladina ADMA byla ale u nemocných signifikantně nižší.



Obr. 39. Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí ADMA v souboru AB dle typu onemocnění (medián, minimální a maximální rozpětí)

ADMA - asymetrický dimethylarginin

Z ostatních biomarkerů byl **prokázán statisticky významný rozdíl u hsCRP dle typu astmatu** (medián 3,35 u těžkého a těžkého refrakterního astmatu vs 0,44 u ostatních podskupin dle typu astmatu, $p=0,012$), graficky je rozdíl znázorněn na Obr. 40.

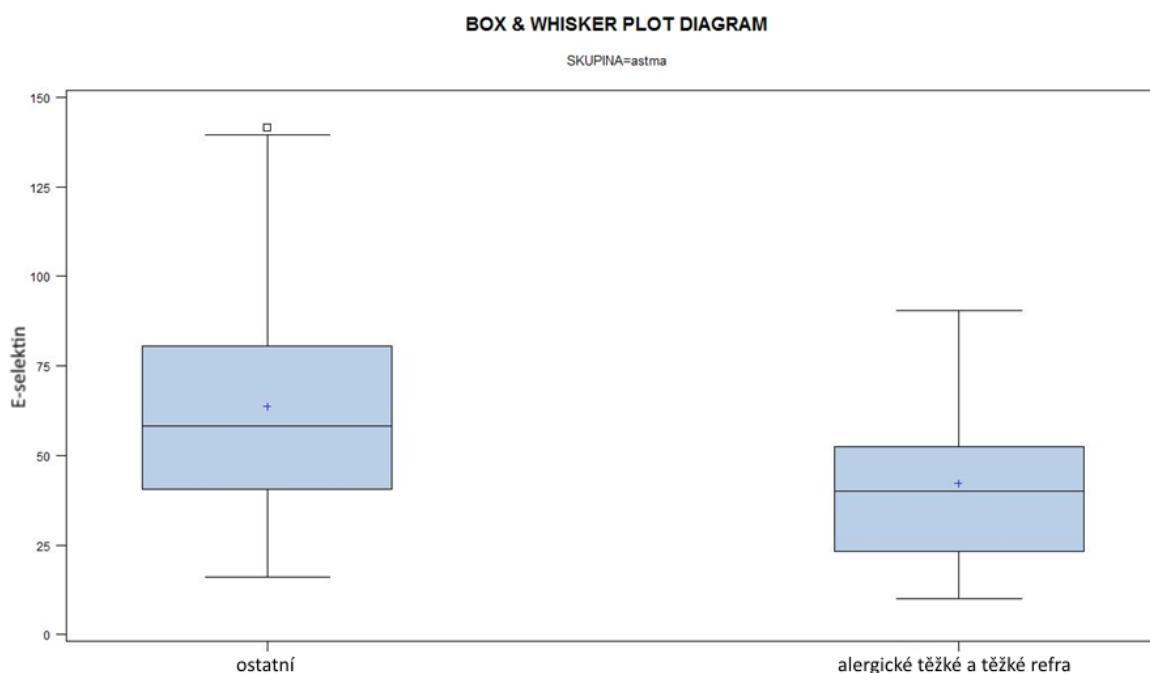


Obr. 40. Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí hsCRP u alergického těžkého a těžkého refrakterního typu astmatu vs ostatní (medián, minimální a maximální rozpětí)

hsCRP - vysoce senzitivní C-reaktivní protein

Byl prokázán statisticky významný rozdíl u **E-selektinu** dle typu astmatu porovnáním skupiny nemocných s těžkým a těžkým refrakterním astmatem k ostatním nemocným, a to **signifikantně nižší hladina** biomarkeru u **nejtěžší formy alergického astmatu**, (medián 39,95 u těžkého a těžkého refrakterního astmatu vs 58,20 u ostatních podskupin dle typu astmatu, $p=0,043$), graficky je rozdíl znázorněn na Obr. 41.

U sVCAM-1 byl zjištěn klesající trend hladiny tohoto biomarkeru s tíží alergického astmatu (medián 851 u lehkého typu vs 765,7 u středně těžkého vs 698,15 u těžkého a těžkého refrakterního astmatu), ale bez potvrzené statistické významnosti.

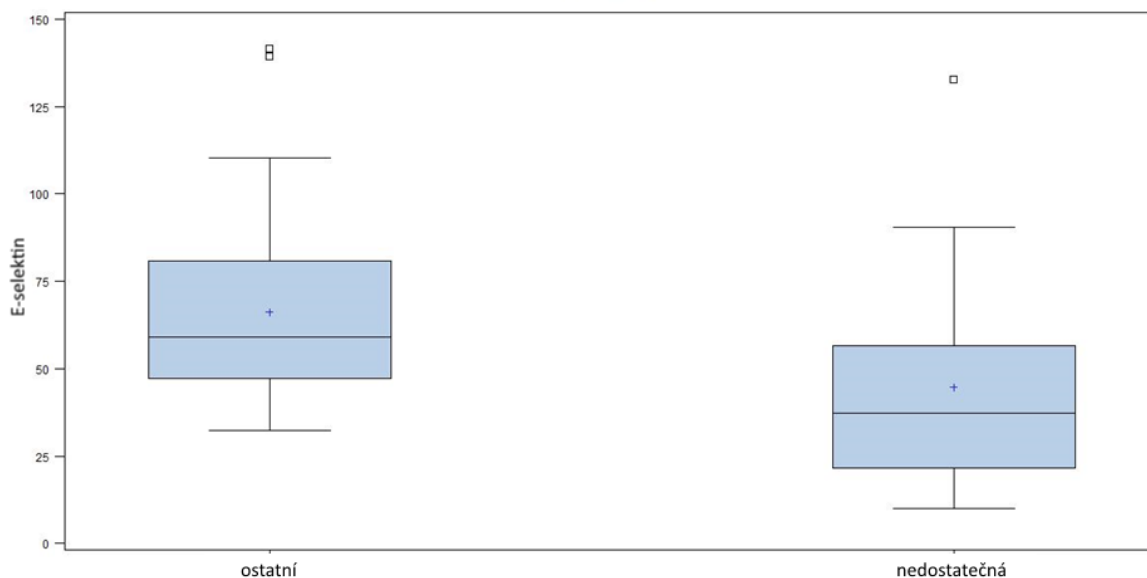


Obr. 41. Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí E-selektinu u alergického těžkého a těžkého refrakterního typu astmatu vs ostatní (medián, minimální a maximální rozpětí)

Ve vztahu biomarkerů ke kontrole nad astmatem byl v našem souboru astmatiků zjištěn klesající trend s horší kontrolou nad nemocí u markeru sVCAM-1 (medián 854 u plné kontroly vs 711,35 u nedostatečné kontroly) a u ADMA (medián 0,48 u plné kontroly vs 0,40 u nedostatečné kontroly), obojí ale bez statistické významnosti. **U E-selektinu byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi podskupinami s nedostatečnou kontrolou v porovnání s ostatními**, tj. plnou či částečnou kontrolou (medián 37,2 vs 59,0; $p < 0.01$). Rozdíl hladin E-selektinu v závislosti na stupni kontroly je vyjádřen graficky na Obr. 42.

BOX & WHISKER PLOT DIAGRAM

SKUPINA=astma



Obr. 42. Krabicový graf vyjadřuje interkvartilové rozmezí E-selektinu u astmatiků s nedostatečnou kontrolou nad nemocí v porovnání s plnou a částečnou kontrolou (medián, minimální a maximální rozpětí)

Nebyl potvrzen statisticky významný vztah mezi jednotlivými biomarkery k tíži eosinofilního zánětu.

Ve vztahu k plicním funkcím, a to tíži periferní obstrukce, byl z biomarkerů zjištěn klesající trend s tíží obstrukce jen u hsCRP a E-selektinu, ale bez vyjádřené statistické významnosti. Medián hsCRP byl 0,41 u normálních plicních funkcí vs 1,30 u lehké obstrukce vs 1,75 u středně těžké obstrukce vs 2,85 u těžké a velmi těžké obstrukce.

Při hodnocení korelace jsou rozdíly mezi skupinami minimální, boxy v grafickém znázornění se velmi překrývají a zvolené testy polohy (neparametrická ANOVA) netestují jen mediány, ale celé rozložení box plotů včetně jejich posunů a rozptylů, proto hodnotíme dané výsledky jako statisticky nevýznamné, ale s naznačeným trendem dynamiky, která by mohla být v rámci dalších větších studií ověřena.

8. Diskuze

Endoteliální dysfunkce (ED) je v posledních letech jedním z intenzivně zkoumaných parametrů predikce rozvoje aterosklerózy. Je časným funkčním preklinickým projevem aterosklerózy a zaujímá klíčovou roli v rozvoji hypertenze a srdečního selhání [35]. Morfologické změny lze prokázat již v dětském věku, kdy klinické projevy bývají ještě zcela minimální [79]. ED je plně reverzibilním předstupněm aterosklerózy. Z toho vyplývá maximální snaha o časný záchyt patologických stavů již v časně reverzibilní fázi bez rozvinuté manifestní formy aterosklerózy s cílem oddálit nebo lépe i zabránit manifestaci aterosklerózy.

V rámci našeho výzkumného záměru jsme hodnotili endoteliální funkci u vybraných rizikových skupin nemocných kombinovaným diagnostickým přístupem, a to stanovením RHI pletysmografickým vyšetřením pomocí přístroje EndoPAT® a stanovením specifických biochemických parametrů. Měřili jsme ED u dětí i dospělých s CF, hodnotili lipidogram a stav výživy a hledali korelaci RHI ve vztahu k věku i dalším biomarkerům a hodnotili dynamiku změn s věkem. U nemocných s astmatem jsme se dále zaměřili na zjištění korelací mezi RHI a jednotlivými biomarkery ke zvoleným faktorům, a to k typu a tíži astmatu, tíži endobronchiálního eosinofilního zánětu, plicním funkcím a stupni kontroly nad nemocí.

Hodnoty RHI zdravých kontrol v naší studii odpovídají výsledkům již dříve publikované studie Osika et al. prokazující i indiferentnost RHI na pohlaví v souboru 248 zdravých dětí [89]. Rovněž nezařazení kuřáků a obézních do kontrolního souboru z důvodu zvýšené základní PAT amplitudy je v souladu se závěry z předchozích studií [35].

Aktuálně je nedostatek literárních dat zabývajících se ED u nemocných s CF v dětském věku. Mezi hlavní rizikové faktory vzniku KVO u CF řadíme chronický systémový zánětlivý proces, oxidační stres, snížení HDL cholesterolu a kolonizaci dýchacích cest patogeny. Z dostupných literárních údajů je zřejmé, že chronická zánětlivá a imunologická onemocnění, revmatická [40, 74, 75], chronická onemocnění ledvin [109], systémový lupus erythematosus [72, 141], progresivní systémová skleróza [92], psoriasis [74, 139], diabetes mellitus 2. typu [77], autoimunní thyroiditida [125], periodontitida [58], HIV [115, 126], ISZ [3, 48, 108] i respirační onemocnění včetně CF a astmatu [15, 24, 27, 65, 87], mohou souviset s vyšším rizikem dysfunkce endotelu a následné manifestace předčasné aterosklerózy.

HsCRP je celkovým zánětlivým markerem souvisejícím s aterosenním procesem. Zvýšení hsCRP predikuje morbiditu a mortalitu na KVO i u klinicky asymptomatických jedinců [79]. V naší studii jsme prokázali významně vyšší koncentrace hsCRP u dětí i dospělých s CF a také u nemocných s asthma bronchiale, ve shodě s již dříve publikovanými údaji u dětí s Crohnovou chorobou [68], ALL [67] a diabetes mellitus [73].

E-selektin zodpovídá za adhezi leukocytů v buňkách endotelu. Signifikantně vyšší hladiny E-selektinu byly prokázány v našem souboru nemocných s CF v dětském i dospělém věku, stejně jako v dřívějších studiích u dětí s ISZ [2, 72] a familiární hypercholesterolémií [73]. Obě onemocnění mohou souviset se zvýšeným rizikem předčasné aterosklerózy, což společně podporuje naši hypotézu o úzkém vztahu jednotlivých biomarkerů k ED.

Vyšší hladina ADMA je známkou ED, neboť je porušena syntéza NO, který je spouštěčem vazodilatace. V našich souborech jsme neprokázali signifikantní zvýšení tohoto markeru u nemocných s CF či astmatem, bude nutné ověření v dalších studiích, ale současně můžeme potvrdit důležitost komplexního diagnostického pohledu na detekci ED kombinací pletysmografického vyšetření s několika specifickými biochemickými parametry.

Průkaz signifikantně vyšší hladiny hsCRP u nemocných s CF i astmatem je známkou prozánětlivé aktivity endotelu související s celkovým chronickým systémovým zánětlivým procesem [62]. Vyšší hladiny vazoadhezivních molekul (VCAM-1) a E-selektinu u nemocných s CF a astmatem jsou projevem aktivace endotelu. Vazoadhezivní molekuly i hsCRP jsou markery ne zcela specifickými pro ED, protože mohou být ovlivněny zánětlivým procesem. ED může být ovlivněna i již subklinickým chronickým zánětlivým procesem. Důležité je proto srovnání výsledků obou metodik, jak pletysmografie, tak laboratorních markerů, a to i ve vztahu k věku nemocných. Výhledově je možné uvažovat též o vyšetření některých cytokinů ve snaze eliminovat vliv markerů ovlivněných chronickým zánětem v rámci základního neinfekčního zánětlivého onemocnění, kterým CF i astma jsou.

Z dosud publikovaných studií vyplývá souvislost mezi chronickými zánětlivými onemocněními aktivujícími systémové zánětlivé biomarkery a zvýšeným výskytem kardiovaskulárního onemocnění. Poore et al., zabývající se ve své studii ED u mladých pacientů s CF, popisuje čtyřnásobné zvýšení hsCRP u nemocných a detekci ED sonograficky metodou FMD (Flow mediated dilation) stejně jako analogické výsledky ED mladých pacientů s CF vs ISZ na podkladě systémově zánětlivého procesu [94]. I další studie se zabývají hodnocením cévních změn u CF [8, 38, 42, 104]. Mezi publikované

rizikové faktory vzniku kardiovaskulárního onemocnění u starších pacientů s CF se řadí především insuficience pankreatu, snížení HDL cholesterolu, poruchy metabolismu cholesterolu, snížení protizánětlivých co-3 mastných kyselin, zvýšení prozánětlivé kyseliny arachidonové [29, 31, 134].

V naší studii jsme prokázali signifikantně nižší hladinu HDL ($p < 0,05$) u dětských pacientů s CF, naopak hladina triacylglycerolů byla signifikantně vyšší v souboru nemocných v porovnání se zdravými kontrolami ($p < 0,05$), ale hodnoty TGC byly u všech dětí v mezích referenčních hodnot. V souboru dospívajících a dospělých s CF byly signifikantně snížené hladiny celkového cholesterolu i jeho frakcí LDL a HDL. Domníváme se, že tyto změny mohou být způsobeny poruchou lipidového metabolismu peroxidačním stresem na podkladě chronického progredujícího neinfekčního zánětu u CF. Poruchy lipidogramu byly prokázány v souvislosti s oxidačním stresem i u jiných chronických nemocí [86], je však nutné ověření dalšími klinickými studiemi u dětí. V obou věkových skupinách nemocných s CF jsme prokázali signifikantně nižší hladinu HDL cholesterolu, kterou považujeme za významný rizikový faktor aterogeneze u CF potvrzující již závěry z předchozích studií [15, 94].

Stav výživy byl u nemocných s CF jak v dětském věku, tak i v souboru s dospělými nemocnými nižší v porovnání se zdravými kontrolami, ale zcela bez statistické významnosti a bez tendence ke zhoršení s věkem, což může ukazovat i na pečlivou a řádnou nutriční edukaci našich nemocných. V souboru astmatiků jsme prokázali statisticky významně vyšší BMI ($p=0,0002$), což může souviset s nemožností dostatečné fyzické aktivity nemocných s těžkým a těžkým refrakterním astmatem, ale i s vyšším věkem vyšetřovaných a jejich životosprávou. V našem souboru nemocných s astmatem bylo vyšší BMI z hlediska pohlaví prokázáno u žen a z hlediska tíže onemocnění u těžkého alergického astmatu v porovnání s lehkým a středně těžkým typem astmatu, a to v souladu s literárními údaji, které potvrzují zvyšující se výskyt obezity s tíží astmatu, častější výskyt obezity u non-eozinofilního typu a u žen [21].

Důležitým výstupem z provedeného výzkumného záměru je vývoj RHI s věkem u nemocných s CF. Ve vyšetřovaném souboru dětských pacientů s CF nebyl prokázán statisticky významný rozdíl RHI v porovnání se souborem zdravých kontrol, a to celkově do 18 let ani rozděleně do 15 let a nad 15 let věku, i když medián RHI v celkovém souboru dětských nemocných byl 1,49 vs 1,74 při stanoveném cut-off RHI pro dětský věk $\leq 1,465$. U dospělých s CF jsme prokázali statisticky významné rozdíly RHI v porovnání se zdravými kontrolami. Ve skupině nemocných nad 15 let (dospívající a dospělí souhrnně) jsme prokázali statisticky významnou korelaci RHI s věkem. Porovnáním RHI

ve skupině 15-18 let se skupinou nemocných nad 18 let jsme prokázali statisticky významný rozdíl v hodnotách RHI s tendencí k poklesu RHI v dospělosti do patologických hodnot, což potvrzuje naši hypotézu o vlivu chronického zánětlivého, s věkem progradujícího procesu na cévní endotel.

Pro dynamiku RHI s věkem svědčí též výsledek RHI u skupiny nemocných s CF nad 18 let s prokázanou statisticky významnou korelací RHI s věkem ($p=0,014$). Signifikantně snížené hodnoty RHI u dospělých s CF a již naznačený klesající trend hladin RHI od pubertálního období a zároveň zvýšené plazmatické koncentrace biomarkerů, zvláště hsCRP a VCAM-1 a statisticky významně i E-selektinu naznačují pravděpodobný výskyt ED u nemocných s CF.

V souboru nemocných s astmatem jsme potvrdili endoteliální dysfunkci kombinací výsledků, a to signifikantně nižší hodnotou RHI u nemocných a statisticky významně vyšší hladinou hsCRP. Zjistili jsme klesající trend mediánu RHI s tíží astmatu a s tíží eosinofilního endobronchiálního zánětu, ale bez statisticky potvrzené významné korelace. RHI v našem souboru nekoreloval se stavem kontroly nad nemocí, což může být ovlivněno i subjektivitou hodnocení TKA nemocnými či procentuálním zastoupením v jednotlivých podskupinách. Z biomarkerů byl prokázán pokles ADMA s tíží alergického astmatu ($p<0,05$). U E-selektinu byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi podskupinami s nedostatečnou kontrolou v porovnání s ostatními tj. plnou či částečnou kontrolou nad astmatem ($p < 0,01$). Zjistili jsme statisticky významný rozdíl u E-selektinu dle typu astmatu porovnáním skupiny nemocných s těžkým a těžkým refrakterním astmatem k ostatním nemocným, a to signifikantně nižší hladinu biomarkeru u nejtěžší formy alergického astmatu ($p=0,043$). Potvrdili jsme statisticky významný rozdíl u hsCRP dle typu astmatu, a to porovnáním podskupiny těžkého a těžkého refrakterního astmatu vs ostatních podskupin dle tíže astmatu ($p=0,012$). Prokázali jsme středně silnou korelaci BMI s hsCRP.

Měření RHI má v současnosti v porovnání s dříve užívanými metodami hodnocení ED řadu technických výhod. Výhodou vyšetření je jednoduchost provedení, automatizovaná strojová analýza eliminující vlivy vyšetřujícím a zároveň minimalizace změn cévního tónu z vnějších příčin během měření hodnocením PAT amplitudy na simultánně měřené neokludované kontralaterální končetině. Osika et al. ve své studii, zahrnující 248 zdravých dětí, potvrdil, že není rozdíl v hodnotách RHI ve vztahu k pohlaví [89].

Možným důvodem zabraňujícím zavedení rutinního využití pletysmografického vyšetření k detekci ED v rizikových skupinách populace by mohla být cena, velikost i

uniformnost senzorů, prostorová a časová náročnost vyšetření a chybějící cut-off hodnota RHI pro dětský věk. Sensory jsou dodávány výrobcem unifikované, bez udání vhodné tloušťky prstu.

Při hodnocení a interpretaci výsledků naší studie jsme si vědomi limitací daných počtem vyšetřovaných v jednotlivých souborech i absencí cut-off hodnot pro RHI a biomarkery v dětském věku. Signifikantně snížené hodnoty RHI a naopak významně vyšší hladiny biochemických markerů, zvláště hsCRP a sVCAM-1, ukazují na možný výskyt ED u nemocných s CF již v časně dospělosti. Nowak et al. ve své studii také prokázal vyšší hladiny sVCAM-1 u nemocných s CF [83], v protikladu s výsledky De Rose et al., který v souboru nemocných s CF neprokázal rozdíl v hladinách sVCAM-1 u CF a zdravých kontrol [22]. Nejistili jsme statisticky významný rozdíl RHI mezi testovanými skupinami vyšetřovaných dětí s CF, ale potvrdili jsme klesající trend RHI od pubertálního období, což znamená, že pouze pletysmografickým vyšetřením nelze hodnotit endoteliální funkci u nemocných s CF v dětském věku, ale je třeba využít diagnosticky kombinovaného přístupu se zhodnocením specifických laboratorních markerů, pokud chceme detekovat již časná stadia poruchy funkce endotelu v dětském věku. Výsledky naší studie potvrdily probíhající proces aterogeneze s postupnou progresí s věkem, současně jsme potvrdili zhoršení endoteliální dysfunkce u dospělých nemocných s CF v porovnání s dospívajícími.

Výzkumný projekt je první studií svého druhu týkající se vyšetření a zhodnocení kardiovaskulárního rizika u pacientů s CF a astmatem v dětském i dospělém věku pomocí kombinovaného stanovení RHI a vyšetření specifických biochemických markerů působících na různé úrovni aterogenního procesu.

Laboratorní metody jsou důležitou součástí monitoringu nemocných, umožňují rychlou a přesnou diagnostiku a mohou přispívat ke stratifikaci nemocného s určením budoucího rizika. Zavedení laboratorního screeningu biomarkerů ED, zvláště hsCRP a sVCAM-1, v rámci roční kontroly CF pacientů již od pubertálního věku bez navyšování počtu invazivních vyšetření CF nemocným, může být tématem k diskusi. Na průběhu CF se podílejí nejen genetické faktory a zevní vlivy, tj. rodina, kvalita poskytované péče, ale i modifikující geny a řada dalších faktorů včetně stresu, které celkově ovlivňují průběh nemoci a rychlost progresu.

Astma je spojeno též se zvýšeným rizikem KVO, zejména u žen [66]. Tuto korelaci, včetně absence konvenčních rizikových faktorů KVO u astmatiků, je důležité zohlednit v péči o nemocné s astmatem. Vztah astmatu k riziku KVO přitahuje stále více lékařské pozornosti s ohledem na vysokou prevalenci astmatu a zdravotní i ekonomické důsledky

vyplývající z KVO. V současné době neexistují žádná doporučení ohledně rozpoznávání a prevence KVO u pacientů s astmatem. Výsledky studie Huai Liu et al. [66] ukazují na nezbytnost dalších studií k optimalizaci léčebné a hlavně preventivní strategie u žen s astmatem s ohledem na vysoké riziko KVO.

9. Závěr a doporučení pro praxi

Tato práce je první studií hodnotící kardiovaskulární riziko u nemocných s cystickou fibrózou a asthma bronchiale v dětském a dospělém věku pomocí kombinovaného diagnostického přístupu. Riziko kardiovaskulárního onemocnění u pacientů s CF stoupá již od dětského věku, ale k významnému zvýšení rizika dochází s věkem neboli s prodlužující se délkou trvání nemoci, kdy se riziko KVO výrazně zvyšuje. U nemocných s asthma bronchiale se kardiovaskulární riziko zvyšuje s tíží alergického astmatu.

Z naší studie vyplývá, že pacienti s chronickým plicním onemocněním si zaslouží velkou pozornost lékařské veřejnosti se snahou o co největší a zároveň individuální ovlivnění rizikových faktorů kardiovaskulárního onemocnění. Nezbytným předpokladem minimalizace rizika KVO je v obou případech maximální snaha o individualizovanou kompenzaci těchto závažných onemocnění.

Výsledky potvrzují důležitost aktivního vyhledávání rizikových pacientů se snahou o cílenou detekci již subklinického stadia aterosklerózy ve fázi endoteliální dysfunkce, abychom minimalizovali rozvoj dalších komplikací již tak velmi závažného onemocnění.

Tato studie je prvním projektem zabývajícím se hodnocením ED u nemocných s chronickým plicním onemocněním v dětském věku. Je však limitována počtem vyšetřovaných, které jsme cíleně vybírali z našeho plzeňského pracoviště. Praktický přínos této metodiky bude vhodné ověřit v dalších longitudinálních studiích. Teprve další výzkum nám může ukázat, do jaké míry bude možné naše závěry aplikovat v širším měřítku, využít je při určování kardiovaskulárního rizika nemocných s CF a astmatem, jak bude možné jednotlivá vyšetření zavést do praxe i jaká bude jejich dostupnost a nákladnost v porovnání s jejím přínosem spočívajícím v časně detekci aterosklerózy.

Námi užitá metoda měření RHI má řadu výhod v porovnání s ultrasonografickými metodami používanými k detekci ED. Aktuálně námi navrhovaná detekce ED kombinací neinvazivního měření RHI a hodnocením specifických biochemických parametrů zůstává na úrovni metodiky v rámci výzkumných záměrů. Výhledově by se tato metodika mohla stát vhodnou, možná i rutinně standardizovanou metodou umožňující detekci ED u rizikových skupin nemocných. Naší snahou bude, po ověření výsledků v dalších longitudinálních studiích v horizontu několika let, přijetí metodiky a její začlenění do preventivních programů péče o nemocné s chronickým plicním onemocněním.

10. Souhrn

Cílem disertační práce bylo zhodnocení kardiovaskulárního rizika využitím kombinovaného diagnostického přístupu měřením RHI a specifických biochemických markerů u nemocných s chronickým onemocněním dýchacích cest, u kterých jsme mohli předpokládat riziko předčasné manifestace aterosklerózy.

Celkem jsme vyšetřili 119 probandů, z toho 22 pacientů s CF a 52 nemocných s astmatem. RHI jsme hodnotili pomocí nové pletysmografické metody, která v porovnání s ultrasonografickými metodami užívanými v jiných studiích má řadu výhod, mezi které patří neinvazivita vyšetření, vysoká senzitivita, nízká biologická variabilita a objektivnost výsledků díky automatickému zpracování. Z biochemických parametrů jsme ve vztahu k ED měřili čtyři biomarkery: hsCRP, ADMA, E-selektin a sVCAM-1. Ve vztahu k ED jsme z dostupných dat hodnotili lipidogram a BMI.

Neprokázali jsme statisticky významný rozdíl RHI mezi testovanými skupinami s CF v dětském věku, ale potvrdili jsme klesající trend RHI od pubertálního období a potvrdili jsme signifikantně nižší hodnoty RHI u CF v dospělosti, což potvrzuje postupný vývoj aterogeneze a zhoršení endoteliální dysfunkce s věkem.

Nalezli jsme signifikantně snížené hodnoty RHI v souboru nemocných s astmatem a prokázali jsme pokles ADMA s tíží alergického astmatu a statisticky významný rozdíl u E-selektinu ve vztahu ke kontrole nad astmatem, dále vyšší BMI v celkovém souboru nemocných s asthma bronchiale v porovnání se skupinou zdravých kontrol, více u žen a také u těžkých forem astmatu, což může souviset s nemožností dostatečné fyzické aktivity nemocných s těžkým typem alergického astmatu, s vyšším věkem vyšetřovaných i jejich životosprávou. Naše výsledky jsou ve shodě se závěry předchozích studií [21].

Z biochemických parametrů jsme prokázali signifikantně zvýšené hladiny hsCRP, sVCAM-1 a E-selektinu u nemocných s CF. U pacientů s astmatem jsme prokázali signifikantní zvýšení hsCRP. Zvýšení hsCRP v obou rizikových skupinách nemocných svědčí pro důležitost chronického systémového zánětlivého procesu jakožto výrazného rizikového faktoru, kdy na progresi změn u obou onemocnění má velký vliv dlouhodobý systémový zánět, pokud není pod dostatečnou kontrolou, což může svědčit pro důležitost agresivně vedené důsledné antibiotické terapie u nemocných s CF a současně pro důležitost časného zahajování inhalační preventivně protizánětlivé terapie u nemocných s astmatem, jejímž smyslem je potlačení zánětlivých pochodů v dýchacích cestách.

Cílem léčby nemocných s chronickým respiračním onemocněním je snaha o maximální kompenzaci onemocnění s cílem udržet či zlepšit kvalitu života nemocných zvláště v dospělém věku, kdy je zřejmá progrese onemocnění, a maximálně prodloužit délku života a snížit komplikace základního onemocnění. S tím souvisí i možnost prevence kardiovaskulárního onemocnění u těchto rizikových nemocných. Endoteliální dysfunkce je jedním z klíčových faktorů manifestace předčasné aterosklerózy.

Kombinovaný diagnostický princip neinvazivní detekce ED stanovením RHI a specifických biomarkerů může být vhodnou metodou ke zjištění kardiovaskulárního rizika nemocných s CF s ohledem na závažnost onemocnění, limitované možnosti terapie a často i terapeuticky obtížně ovlivnitelnou progresi onemocnění. Současně by byla využitelná i u nemocných s astmatem, primárně u astmatiků s těžkým perzistujícím alergickým astmatem. Začlenění námi navrhované metodiky do preventivních programů mladších nemocných s astmatem i nemocných s lehčí formou astmatu odpovídající alergickému středně těžkému perzistujícímu astmatu doporučujeme z důvodu časně neinvazivní detekce ED.

Závěry studie jsou limitovány počtem vyšetřovaných, ale svědčí pro možný výskyt ED u nemocných s cystickou fibrózou i asthma bronchiale, spojené s vyšším rizikem předčasné manifestace aterosklerózy. Elevace tří stanovených biomarkerů u nemocných s CF již v dětském věku při ještě neprokázané změně RHI, ale s již signifikantně sníženou hodnotou RHI v dospělosti a změny v lipidovém metabolismu, ukazují na možný výskyt ED se specifickými rizikovými faktory u nemocných s CF i na postupnou progresi endoteliálních změn s věkem prokázanou korelací RHI k stanoveným věkovým skupinám.

Limitací naší studie byly kromě počtu vyšetřovaných i uniformnost sensorů, chybějící cut-off hodnota RHI a biomarkerů v dětském věku, proto jsme za dolní věkovou hranici v souboru s asthma bronchiale zvolili 14 let.

Výsledky výzkumného záměru naznačují využitelnost dané metodiky k detekci dysfunkce endotelu a následnému hodnocení kardiovaskulárního rizika dětí i dospělých s CF a astmatem v dlouhodobém časovém horizontu a výhledově její zavedení do klinické praxe. Prevence KVO je velmi účinná. V důsledku změn v rizikových faktorech je prokázáno více než 50% snížení mortality na KVO [13], což podtrhuje významnost naší studie. Z výše uvedeného vyplývá, že všichni pacienti s CF i astmatem si zaslouží velkou pozornost ve snaze o maximální snížení rizikových faktorů kardiovaskulárního onemocnění. Závěry vyplývající z našeho výzkumného záměru by mohly pomoci při optimalizaci léčebné strategie nemocných s astmatem i cystickou fibrózou, a to zvláště v období časně dospělosti.

11. Summary

The aim of this thesis was to evaluate cardiovascular risk by using a combined diagnostic approach by measuring RHI and specific biochemical markers in patients with chronic respiratory disease, where we could assume a possible risk of premature manifestation of atherosclerosis.

A total of 119 probands were examined, including 22 patients with CF and 52 patients with asthma. We evaluated RHI using a new plethysmographic method that has a number of advantages over the ultrasonographic methods used in other studies. These include non-invasiveness, high sensitivity, low biological variability and objectivity of the results due to automatic processing. Of the biochemical parameters, we measured four biomarkers in relation to ED: hsCRP, ADMA, E-selectin, and VCAM-1. In relation to ED we evaluated lipidogram and BMI from available data.

We did not prove a statistically significant difference in RHI between the test groups with CF children but we confirmed the decreasing trend of RHI since adolescence and we found significantly lower RHI values in CF adults, confirming the progressive development of atherogenesis and worsening of endothelial dysfunction with age.

We found significantly reduced RHI values in the asthma group and we showed a decrease in ADMA with allergic asthma severity and a statistically significant difference in E-selectin in relation to asthma control, as well as higher BMI in the total asthma group compared to the healthy controls but more in women and more in severe asthma which may be related to the lack of sufficient physical activity in patients with severe allergic asthma and to the older age as well as their diet. Our results are in line with the findings of previous studies [21].

Regarding the biochemical parameters, we demonstrated significantly elevated levels of hsCRP, sVCAM-1 and E-selectin in CF patients. In asthma patients, we demonstrated a significant increase in hsCRP. Increased hsCRP in both risk groups of patients suggests the importance of the chronic systemic inflammatory process as a significant risk factor, where the progression of changes in both diseases is greatly affected by the chronic inflammatory process if not controlled adequately, which may indicate the importance of aggressively conducted consistent antibiotic therapy in CF patients and, at the same time, the importance of early initiation of inhaled preventive anti-inflammatory therapy in asthma patients to suppress inflammatory processes in the airways.

The aim of the treatment of patients with chronic respiratory disease is to strive for maximum compensation of the disease in order to maintain or improve the quality of patients' life, especially in adults, when disease progression is evident, and to maximize life expectancy and reduce complications of the underlying disease. Related to this is the possibility of cardiovascular disease prevention in these at-risk patients. Endothelial dysfunction is one of the key factors in the manifestation of premature atherosclerosis.

The combined diagnostic principle of non-invasive determination of ED by RHI and specific biomarkers could be a useful method to assess the cardiovascular risk in all CF patients with regard to the severity of the disease, limited therapy options and often therapeutically difficult to affect disease progression. It would also be useful in patients with asthma, primarily in asthmatics with severe persistent allergic asthma. We also recommend to incorporate the proposed methodology into prevention programs of younger asthmatic patients as well as patients with mild asthma corresponding to allergic moderate persistent asthma because of early non-invasive detection of ED.

The conclusions of the study are limited by a number of examined patients, but suggest a possible occurrence of ED in patients with cystic fibrosis as well as bronchial asthma, associated with a higher risk of premature manifestation of atherosclerosis. Elevations of three biochemical markers in CF patients already in childhood with not yet demonstrated RHI change but with significantly reduced RHI in adulthood and changes in lipid metabolism indicate the possible occurrence of ED with specific risk factors in CF patients and gradual progression of endothelial changes with age-proven correlation of RHI to established age groups.

The limitations of our study were, besides the number of examined persons, also the uniformity of sensors and missing cut-off value of RHI and biomarkers in childhood, therefore we chose 14 years as the lower age limit in the asthma bronchiale group.

The results of the research plan suggest the applicability of the given methodology to the detection of endothelial dysfunction and subsequent evaluation of cardiovascular risk of children and adults with CF and asthma in the long term and its prospective usage in clinical practice. Prevention of CVD is very effective. Changes in risk factors show a more than 50% reduction in CVD mortality [13], underlining the significance of our study. It means that all CF and asthma patients deserve a great attention in the effort to reduce the risk factors of CVD. The conclusions of our research study could help in optimizing the treatment strategy of CF and asthma patients, especially in young adults.

12. Literatura

1. A Pocket Guide for Physicians and Nurses. [Online] 20. 9. 2019. http://ginasthma.org/wp-content/uploads/2016/01/GINA_Pocket_2015.pdf.
2. Adamska I, Czerwionka-Szaflarska M, Kulwas A et al. Value of E-selektin and L-selectin determination in children and youth with inflammatory bowel disease. *Med Wieku Rozwoj*, 2007; 11: 413–8.
3. Aloi M, Tromba L, Di Nardo G et al. Premature subclinical atherosclerosis in pediatric inflammatory bowel disease. *J Pediatr*. 2012; 161: 589–94.
4. Atherosclerosis. [Online] 14. 9. 2019. <https://en.wikipedia.org/wiki/Atherosclerosis>
5. Attia EF, Jolley SE, Crothers K et al. Soluble vascular cell adhesion molecule-1 (sVCAM-1) is elevated in bronchoalveolar lavage fluid of patients with acute respiratory distress syndrome. *PLoS ONE* 2016; 11: e0149687.
6. Bel EH, Sousa A, Fleming L et al. Unbiased Biomarkers for the Prediction of Respiratory Disease Outcome (U-BIOPRED) Consortium, Consensus Generation. Diagnosis and definition of severe refractory asthma: an international consensus statement from the Innovative Medicine Initiative (IMI). *Thorax* 66 2011; 10: 910–917.
7. Bonetti PO, Pumper GM, Higano ST et al. Non-invasive identification of patients with early coronary atherosclerosis by assessment of digital reactive hyperaemia. *J Am Coll Cardiol*. 2004; 44: 2137–41.
8. Buehler T, Steinmann M, Singer F et al. Increased arterial stiffness in children with cystic fibrosis. *Eur Respir J*. 2012; 39 (6): 1536–1537.
9. Cangemi R, Casciaro M, Rossi E et al. Platelet activation is associated with myocardial infarction in patients with Pneumonia. *J Am Coll Cardiol* 2014; 64: 1917–1925.
10. Celebi Sozener Z, Aydin O, Mungan D et al. Obesity-asthma phenotype: effect of weight gain on asthma control in adults. *Allergy Asthma Proc*. 2016; 37: 311–317.
11. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992; 340: 1111–1115.
12. Centers for Disease Control and Prevention. Current Asthma Prevalence Percents by Age. [Online] 25. 9. 2019. National Health Interview Survey, United States. <https://www.cdc.gov/asthma/nhis/2016/data.htm>.
13. Cífková R, Vaverková H, Filipovský J, Aschermann M. Souhrn Evropských doporučení pro prevenci kardiovaskulárních onemocnění v klinické praxi (verze 2012). Připraven Českou kardiologickou společností. *Cor et Vasa* 2014; 56: 168–188.
14. Correti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilatation of brachial artery: A report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol* 2001; 39: 257–265.

15. Cross CE, Reverri EJ, Morrissey BM. Joining the Crowd: Cystic Fibrosis and Cardiovascular Disease Risk Factors. *Chest J* 2013; 143 (4): 882–884.
16. Czech asthma initiative: Strategies for the diagnosis, prevention and treatment of asthma. Putting global strategy into practice in the Czech Republic. Prague: Jalna, 2012.
17. Česká iniciativa pro astma, ČIPA 2006. [Online] 24. 9. 2019. <http://www.cipa.cz>.
18. Český registr cystické fibrózy [Online] 14. 10. 2019. <https://cregistr.cz/>.
19. Češka R, a kolektiv: Cholesterol a ateroskleróza, léčba dyslipidemií, Triton, 2005, ISBN 80-7254-738-0.
20. Češka R, Prusíková M, Šnejdrlová M. Predikce a prevence aterosklerózy a personalizovaná léčba dyslipidemií. *Kardiol Rev Int Med*. 2011; 13(2): 81–86.
21. ČIPA (Česká iniciativa pro astma): Strategie diagnostiky, prevence a léčby astmatu. Uvedení globální strategie do praxe v ČR. Praha: Jalna, 2012. [Online] 22. 9. 2019. https://www.csaki.cz/dokumenty/DP_diagnostiky_a_lecby_astmatu_2015.pdf.
22. De Rose V, Oliva A, Messori B et al. Circulating adhesion molecules in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998; 157:1234–1239.
23. Deneva-Kochyeva TI, Vladimirova-Kitova LG, Angelova EA, Tsvetkova TZ. Plasma asymmetric dimethylarginine levels in healthy people, *Folia Med (Plovdiv)*. 2011; 53(1): 28–33.
24. Divo M, Cote C, de Torres JP et al. Comorbidities and risk of mortality in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012; 186: 155–161.
25. Domsic R, Dezfulian C, Shoushtari A et al. Endothelial Dysfunction is Present Only in the Microvasculature and Microcirculation of Early Diffuse Systemic Sclerosis Patients. *Clin Exp Rheumatol*. 2014; 32(6 0 86): 154–60.
26. Doporučené postupy ESC/EAS pro diagnostiku a léčbu dyslipidemií v dospělosti vypracované výborem České společnosti pro aterosklerózu. [Online] 30.9.2019. https://www.cskb.cz/res/file/doporuzeni/lipidy/dopor_csat_eas_2015.pdf.
27. Duckers JM, Shale DJ, Stockley RA et al. Cardiovascular and musculoskeletal comorbidities in patients with alpha 1 antitrypsin deficiency. *Respir Res*. 2010; 11: 173.
28. Dweik RA, Boggs PB, Erzurum SC et al. American Thoracic Society Committee on Interpretation of Exhaled Nitric Oxide Levels (FeNO) for Clinical Applications. An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FeNO) for clinical applications. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011; 184, 5: 602–615.
29. Fang D, West RH, Manson ME et al. Increased plasma membrane cholesterol in cystic fibrosis cells correlates with CFTR genotype and depends on de novo cholesterol synthesis. *Respir Res*. 2010; 11 (5): 61.
30. Freedman DS, Dietz WH, Srinivasan SR et al. The Relation of Overweight to Cardiovascular Risk Factors Among Children and Adolescents: The Bogalusa Heart Study. *Pediatrics*. 1999; 103(6).

31. Gentsch M, Choudhury A, Chang XB et al. Misassembled mutant DeltaF508 CFTR in the distal secretory pathway alters cellular lipid trafficking. *J Cell Sci.* 2007; 120 (pt 3): 447–455.
32. Global Initiative for Asthma. Pocket Guide for Asthma Management and Prevention: A Pocket Guide for Physicians and Nurses. [Online] 24. 9. 2019. http://ginasthma.org/wp-content/uploads/2016/01/GINA_Pocket_2015.pdf.
33. Glowinska B, Urban M, Peczynska J, Florys B (2005) Soluble adhesion molecules (sICAM-1, sVCAM-1) and selectins (sE selectin, sP selectin, sL selectin) levels in children and adolescents with obesity, hypertension, and diabetes. *Metabolism* 54: 1020–1026.
34. Hallan una nueva molécula eficaz contra la aterosclerosis y la miocarditis. [Online] 14. 9. 2019. <https://medicinaysaludpublica.com/hallan-una-nueva-molecula-eficaz-contra-la-aterosclerosis-y-la-miocarditis/>.
35. Hamburg NM, Keyes MJ, Larson MG, Vasani RS, Schnabel R, Pryde MM et al. Cross sectional relations of digital vascular function to cardiovascular risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2008; 118: 2467–74.
36. Hartl D, Gaggar A, Bruscia E et al. Innate immunity in cystic fibrosis lung disease. *J Cyst Fibros.* 2012; 11 (5): 363–382.
37. Hector A, Griese M, Hartl D. Oxidative stress in cystic fibrosis lung disease: an early event, but worth targeting. *Eur Respir J.* 2014;44: 17–9.
38. Henno P, Maurey C, Danel C et al. Pulmonary vascular dysfunction in end-stage cystic fibrosis: role of NF-kappaB and endothelin-1. *Eur Respir J.* 2009; 34 (6): 1329 –1337.
39. Ho JW, Poon RT, Tong CS et al. Clinical significance of serum vascular cell adhesion molecule-1 levels in patients with hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2004; 10(14): 2014–2018.
40. Holmes MV, Jiang B, McNeill K et al. Paradoxical association of C-reactive protein with endothelial function in rheumatoid arthritis. *PLoS ONE.* 2010; 5: 10242.
41. <https://www.wikiskripta.eu/w/Ateroskleróza> [30.9.2019].
42. Hull JH, Garrod R, Ho TB et al. Increased augmentation index in patients with cystic fibrosis. *Eur Respir J.* 2009; 34 (6): 1322–1328.
43. Hulok A, Sciborski K, Marczak J et al. Soluble cell adhesion molecules—does estimating sVCAM-1 and sICAM-1 concentration provide additional information about cardiovascular risk in patients with coronary artery disease? *Adv Clin Exp Med* 2014; 23: 735–741.
44. Humbert M, Beasley R, Ayres J et al. Benefits of omalizumab as add-on therapy in patients with severe persistent asthma who are inadequately controlled despite best available therapy. *Allergy* 2005; 60, 3: 309–316.
45. Hwang SJ, Ballantyne CM, Sharrett AR et al. Circulating Adhesion Molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in Carotid Atherosclerosis and Incident Coronary Heart Disease Cases. *Circulation.* 1997; 96: 4219–4225

46. 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; 55(2): 313–321.
47. Iribarren C, Tolstykh IV, Miller MK et al. Adult asthma and risk of coronary heart disease, cerebrovascular disease, and heart failure: a prospective study of 2 matched cohorts. *Am J Epidemiol*. 2012; 176: 1014–1024.
48. Jehlička P, Huml M, Schwarz J et al. 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: 55–60.
49. Jehlička P, Huml M, Votava T et al. Reaktivní hyperemický index v detekci endoteliální dysfunkce u dětí – pilotní studie. *Česko-slovenská Pediatrie*, 2011; 76–79.
50. Jehlička P, Stožický F, Mayer O Jr. 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.
51. Kaplanski G, Marin V, Fabrigoule M et al. Thrombin-activated human endothelial cells support monocyte adhesion in vitro following expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1; CD54) and vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1; CD106). *Blood* 1998; 92: 1259–1267.
52. Karásek D, Vaverková H. Endoteliální dysfunkce, možnosti její detekce a využití v klinické praxi. *Interní medicína pro praxi*. 2004; 9, 450–453.
53. Karetová D. Význam endotelu pro rozvoj kardiovaskulárních chorob, *Interní Med*. 2002; 4(3): 119–122.
54. Kašák V. *Asthma bronchiale*. 2. vydání, Maxdorf, 2013.
55. Keselman A, Heller N. Estrogen signaling modulates allergic inflammation and contributes to sex differences in asthma. *Front Immunol*. 2015; 6: 568.
56. Kettle AJ, Turner R, Gangell CL et al. Oxidation contributes to low glutathione in the airways of children with cystic fibrosis. *Eur Respir J*. 2014;44:122–9.
57. Khan R, Spagnoli V, Tardif JC et al. Novel anti-inflammatory therapies for the treatment of atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2015; 240: 497–509.
58. Kholý KE, Genco RJ, Van Dyke TE. Oral infections and cardiovascular disease. 2015; (26), 6: 315–321.
59. Klimiuk PA, Sierakowski S, Domysławska I et al. Reduction of soluble adhesion molecules (sICAM-1, sVCAM-1, and sE-selectin) and vascular endothelial growth factor levels in serum of rheumatoid arthritis patients following multiple intravenous infusions of infliximab. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2004; 52: 36–42.
60. Kolopp-Sarda MN, Guillemin F, Chary-Valckenaere I et al. Longitudinal study of rheumatoid arthritis patients discloses sustained elevated serum levels of soluble CD106 (V-CAM). *Clin Exp Rheumatol* 2001; 19: 165–170.
61. Konstan MW, McKone EF, Moss RB et al. Assessment of safety and efficacy of long-term treatment with combination lumacaftor and ivacaftor therapy in patients with cystic fibrosis homozygous for the F508del-CFTR mutation. *Lancet Respir Med* 2017;5: 107–118.

62. Kreslová M, Sýkorová A, Jehlička P et al. Pletysmografické a biochemické metody jako nové možnosti neinvazivního hodnocení endotelové dysfunkce u dětí s cystickou fibrózou – kombinovaný diagnostický přístup, Česko-slov. Pediatrie 2019; 74 (7): 401–410.
63. Kunutsor SK, Bakker SJL, Dullaart RPF. Soluble vascular cell adhesion molecules may be protective of future cardiovascular disease risk: findings from the PREVEND prospective cohort study. *J Atheroscler Thromb.* 2017.
64. Lee HM, Liu MA, Barrett-Connor E et al. Association of lung function with coronary heart disease and cardiovascular disease outcomes in elderly: the Rancho Bernardo study. *Respir Med.* 2014; 108: 1779–1785.
65. Lee HM, Truong ST, Wong ND. Association of adult-onset asthma with specific cardiovascular conditions. *Respir Med.* 2012; 106 (7): 948–953.
66. Liu H, Fu Y, Wang K. Asthma and risk of coronary heart disease, A meta-analysis of cohort studies. *Annals of Allergy, Asthma et Immunology*, 2017; 118 (6): 689–695.
67. Luc G, Arveiler D, Evans A et al. Circulating soluble adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 and incident coronary heart disease: the PRIME Study. *Atherosclerosis* 2003; 170: 169–176.
68. Macías C, Villaescusa R, 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.
69. Macrophage to Foam Cell Differentiation Pathway. [Online] 10. 10. 2019. <https://www.news-medical.net/life-sciences/Macrophage-to-Foam-Cell-Differentiation-Pathway.aspx>
70. Majka DS, Vu TT, Pope RM et al. Rheumatoid factors are associated with subclinical and clinical atherosclerosis in African American women: the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA). *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2017; 69: 166–174.
71. Masopustová A, Jehlička P, Huml M et al. Plethysmographic and Biochemical Markers in the Diagnosis of Endothelial Dysfunction in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia Survivors—New Applications. *Physiol. Res.* 2018; 67: 903–909,
72. Masopustová A, Jehlička P, Sýkora J et al. Endoteliální dysfunkce u dětí s Crohnovou chorobou - kombinovaný diagnostický přístup. *Čes-Slov Pediatr.* 2015; 70 (1): 3–8.
73. Masopustová A, Kreslová M, Sýkora J et al. Endothelial dysfunction in Children and Young Adults: A combined Diagnostic Approach of Plethysmographic and Biochemical Markers, In *Advances in Health and Disease*. New York: Nova Science Publishers, Inc., 2018; (6), 9: 189–202, ISBN 978-1-5361-3951-8.
74. Mehta NN, Yu Y, Pinnelas R et al. Attributable risk estimate of severe psoriasis on major cardiovascular events. *Am J Med.* 2011; 124: 775.e1–775.e6.
75. Mellana WM, Aronow WS, Palaniswamy C et al. Rheumatoid arthritis: cardiovascular manifestations, pathogenesis, and therapy. *Curr Pharm Des.* 2012; 18: 1450–1456.

76. Měření RHI. [Online] 10. 7. 2019.
<http://www.kvrwg.org/data/pdf/course/20050807.pdf>
77. Meyer MF, Lieps D, Schatz H et al. 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.
78. Miner JJ, Kim AH. Cardiac manifestations of systemic lupus erythematosus. *Rheum Dis Clin North Am*. 2014; 40: 51–60.
79. 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: 501–5.
80. Murdaca G, Colombo BM, Cagnati P et al. Endothelial dysfunction in rheumatic autoimmune diseases. *Atherosclerosis*. 2012; 224: 309–317.
81. Nanayakkara PWB, Teerlink T, Stehouwer CDA et al. Plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) concentration is independently associated with carotid intima-media thickness and plasma soluble vascular cell adhesion molecule-1 (sVCAM-1) concentration in patients with mild-to-moderate renal failure. *Kidney Int* 2005; 68:2230–2236.
82. Neunteufl T, Heher S, Katzenschlager R et al. Late prognostic value of flow-mediated dilatation in the brachial artery of patients with chest pain. *Am J Cardiol* 2000; 86: 207–210], [Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 1235–1241.
83. Nowak JK, Wojsyk-Banaszak I, Mądry E et al. Increased Soluble VCAM-1 and Normal P-Selectin in Cystic Fibrosis: a Cross-Sectional Study, *Lung*, August 2017; 195 (4).
84. Tietjens JR, Claman D, Kezirian EJ et al. Obstructive Sleep Apnea in Cardiovascular Disease: A Review of the Literature and Proposed Multidisciplinary Clinical Management Strategy. *Journal of the American Heart Association*. 2019; 8: e01044.
85. Oliveira G, Oliveira C, Dorado A et al. Cellular and plasma oxidative stress biomarkers are raised in adults with bronchiectasis. *Clin Nutr*. 2013;32: 112–7.
86. Onkelinx S, Cornelissen V, Goetschalckx K et al. Reproducibility of different methods to measure the endothelial function. *Vasc Med*. 2012; 17: 79–84.
87. Onufrak SJ, Abramson JL, Austin HD et al. Relation of adult-onset asthma to coronary heart disease and stroke. *Am J Cardiol*. 2008; 101 (9): 1247–1252.
88. Oshma T, Laroux FS, Coe LI et al. Interferon-gamma and interleukin-10 reciprocally regulate endothelial junction integrity and barrier function. *Microvasc Res*. 2001; 61: 130–43.
89. Osika W, Montgomery SM, Dangardt F et al. Anger depression and anxiety associated with endothelial function in childhood and adolescence. *Arch Dis Child*. 2011; 96: 38–43.

90. Perk J, De Backer G, Gohlke H et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). *European Heart Journal* 33 2012; 1635–1701.
91. Petruš V. Aktuální trendy v léčbě dětského astmatu. *Pediatric pro Praxi*, 2007; 8(4): 216–219.
92. Piccione MC, Bagnato G, Zito C et al. Early identification of vascular damage in patients with systemic sclerosis. *Angiology*. 2011; 62: 338–43.
93. Pohunek P, Kořátko P, Tuková J et al. *Dětská pneumologie kniha*. Mladá fronta a.s., 2018; ISBN 978-80-204-4912-2.
94. Poore S, Berry B, Eidson D et al. Evidence of vascular endothelial dysfunction in young patients with cystic fibrosis. *Chest*. 2013; 143 (4): 939–945.
95. Postadzhyan AS, Tzontcheva AV, Kehayov I, Finkov B (2008) Circulating soluble adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 and their association with clinical outcome, troponin T and C-reactive protein in patients with acute coronary syndromes. *Clin Biochem* 41: 126–133.
96. Pressler T. Targeting airway inflammation in cystic fibrosis in children: past, present, and future. *Paediatric Drugs*. 2011;13: 141–7.
97. proLékaře.cz. Diabetes mellitus a kardiovaskulární riziko, možnosti jeho ovlivnění. [Online] 12. 9. 2019 <https://www.prolekare.cz/kreditovane-kurzy/diabetes-mellitus-a-kardiovaskularni-riziko-moznosti-jeho-ovlivneni-113025>.
98. Přístroj EndoPAT®. [Online] 10. 9. 2019. <http://www.itamar-medical.com/atherosclerosis-a-symptom-of-endothelial-dysfunction/>.
99. Racek J. Oxidované LDL a ateroskleróza. [Online] 1.10.2019. https://www.roche-diagnostics.cz/content/dam/diagnostics_czechrepublic/cs_CZ/documents/Labor_Aktuell/LA2010/LA0310/OxidovaneLDL.pdf.
100. Ratjen F, Hug C, Marigowda G et al. Efficacy and safety of lumacaftor and ivacaftor in patients aged 6–11 years with cystic fibrosis homozygous for F508del-CFTR: a randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Respir Med* 2017; 5: 557–567.
101. Reverri EJ, Morrissey BM, Cross CE et al. Inflammation, oxidative stress, and cardiovascular disease risk factors in adults with cystic fibrosis. *Free Radic Biol Med*. 2014 Nov;76: 261–77.
102. Ridker PM. From C-reactive protein to interleukin-6 to interleukin-1: moving upstream to identify novel targets for atheroprotection. *Circ Res*. 2016; 118: 145–156.
103. Rodriguez-Miguel P, Thomas J, Seigler N et al. Evidence of microvascular dysfunction in patients with cystic fibrosis, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2016 Jun 1;310(11): 1479–1485.
104. Romano M, Collura M, Lapichino L et al. Endothelial perturbation in cystic fibrosis. *Thromb Haemost*. 2001; 86 (6): 1363–1367.
105. Sala M, Jain M. Tezacaftor for the treatment of cystic fibrosis, *Expert Review of Respiratory Medicine*. 2018; 12 (9): 725–32

106. Salonen I, Huttunen K, Hirvonen MR et al. Exhaled nitric oxide and atherosclerosis, *Eur J Clin Invest*. 2012 Aug;42(8): 873–80.
107. Sanz J, Fayad ZA. Imaging of atherosclerotic cardiovascular disease. 2008; *Nature* volume 451: 953–957.
108. Sappati Biyyani RS, Fahmy NM, Baum E et al. Inflammatory bowel disease and coronary artery disease. *Indian J Gastroenterol*. 2009; 28: 28–30.
109. Satoh M. Endothelial dysfunction as an underlying pathophysiological condition of chronic kidney disease. *Clin Exp Nephrol*. 2012; 16: 518–521.
110. Singh S, Singh H, Loftus EV Jr. et al. Risk of cerebrovascular accidents and ischemic heart disease in patients with inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2014; 12: 382–393
111. Skalická V. Terapeutické trendy cystické fibrózy *Pediatr. praxi* 2014; 15(6): 340–343.
112. Snímání PAT signálu. [Online] 10. 9. 2019. <https://www.feistdental.com/sleep-apnea-detection>.
113. 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; 92: 1355–1374.
114. Stožický F. Hyperlipidemie u dětí, *Pediatric pro Praxi*, 2002; 4: 167–171.
115. Subramanian S, Tawakol A, Burdo TH et al. Arterial inflammation in patients with HIV. *JAMA*. 2012; 308: 379–386.
116. Špičák V. Léčba astmatu. *Klinická Farmakologie* 2015; 29(2): 73–76.
117. Tattersall MC, Guo M, Korcarz CE et al. Asthma predicts cardiovascular disease events: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015; 35: 1520–1525.
118. Taylor-Cousar JL, Munck A, McKone EF. Tezacaftor–Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis Homozygous for Phe508del. *N Engl J Med* 2017; 377: 2013–2023.
119. Teerling T, Nijveldt RJ, De Jong S et al. Determination of Arginine, Asymmetric Dimethylarginine, and Symmetric Dimethylarginine in Human Plasma and Other Biological Samples by High-Performance Liquid Chromatography. *Analytical Biochemistry*. vol. 303 (2), 2002; 131–137.
120. Teřl M. Současné možnosti léčby těžkého astmatu v ČR. *Remedia* 22. 2012; 4: 248–252.
121. Thielemann A, Baszczuk A, Kopczyński Z et al. The clinical usefulness of assessing the concentration of cell adhesion molecules sVCAM-1 and sICAM-1 in the serum of women with primary breast cancer. *Contemp Oncol (Pozn)*. 2014; 18: 252–259.
122. Tonetti, MS, D'Aiuto, F, Nibali, L et al. Treatment of periodontitis and endothelial function. *N Engl J Med*. 2007; 356: 911–920.
123. Totani L, Plebani R, Piccoli A et al. Mechanisms of endothelial cell dysfunction in cystic fibrosis, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 2017; 1863(12): 3243–3253.

124. Tucker MA, Fox BM, Seigler N. Endothelial Dysfunction in Cystic Fibrosis: Role of Oxidative Stress, Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2019; 1629638.
125. Turemen EE, Cetinarslan B, Sahin T et al. Endothelial dysfunction and low grade chronic inflammation in subclinical hypothyroidism due to autoimmune thyroiditis. *Endocrine Journal*. 2011; 58: 349–54.
126. Vachiat A, McCutcheon K, Tsabedze N et al. HIV and ischemic heart disease. *J Am Coll Cardiol*. 2017; 69: 73–82.
127. Vasilev V, Matrozova J, Elenkova A et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and soluble vascular cell adhesion molecule 1(sVCAM-1) as circulating markers for endothelial dysfunction in patients with pheochromocytoma. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2013; 121: 551–555. doi: 10.1055/s-0033-1353183.
128. Vávra V et al. *Cystická fibróza*. Grada, 2006 ISBN 80-247-0531-1.
129. Veas CJ, Aguilera VC, Muñoz IJ et al. Fetal endothelium dysfunction is associated with circulating maternal levels of sE-selectin, sVCAM1, and sFlt-1 during pre-eclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2011; 24: 1371–1377.
130. Vijayakumar J, Subramanian S, Singh P et al. Arterial inflammation in bronchial asthma. *J Nucl Cardiol*. 2013; 20: 385–395.
131. Vrablík M, Janotová M, Motyková E et al. Endoteliální dysfunkce – první stadium aterosklerózy. *Med. praxi* 2011; 8(3): 119–122
132. Weber Ch, Noels H. Atherosclerosis: Current pathogenesis and therapeutic options, November 2011; *Nature medicine* 17(11): 1410–22.
133. Wei L, MacDonald TM, Walker BR. Taking glucocorticoids by prescription is associated with subsequent cardiovascular disease. *Ann Intern Med*. 2004; 141: 764–770.
134. White NM, Jiang D, Burgess JD et al. Altered cholesterol homeostasis in cultured and in vivo models of cystic fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2007; 292 (2): 476–486.
135. Widlansky ME, Gokce N, KeaneyJF Jr. et al. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. 2003; 42: 1149–1160.
136. Wilson PWF, Pencina M, Jacques P et al. C-reactive protein and reclassification of cardiovascular risk in the Framingham Heart Study. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2008; 1: 92–97.
137. Winderman R, Rabinowitz SS, Vaidy K et al. Measurement of Microvascular Function in Pediatric Inflammatory Bowel Disease, *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2019; 68(5): 662–668.
138. Wong BW, Meredith A, Lin D et al. The biological role of inflammation in atherosclerosis. *Can J Cardiol*. 2012; 28: 631–641.
139. Wu Y, Mills D, Bala M. Psoriasis: cardiovascular risk factors and other disease comorbidities. *J Drugs Dermatol*. 2008; 7(4): 373–377.
140. Záznam PAT amplitudy. [Online] 10. 7. 2019. <https://level1diagnostics.com/testing>.

141. Zhang CY, Lu LJ, Li FH 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: 111–116.
142. Zhou F, Chen J, Tao G et al. Increased levels of exhaled sICAM1, sVCAM1, and sE-selectin in patients with non-small cell lung cancer. *Respir Med.* 2014; 108: 1670–1676.
143. Zimmerman GA, McIntyre TM, Prescott SM et al. The platelet-activating factor signaling system and its regulators in syndromes of inflammation and thrombosis. *Crit Care Med.* 2002; 30: 294–301.

13. Přehled publikační činnosti autora

Kapitoly v monografiích

- 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, In Advances in Health and Disease. New York: Nova Science Publishers, Inc., 2018, Volume 6, Chapter 9: 189–202, ISBN 978-1-5361-3951-8.
- Stožický F, Sýkora J, Amblerová V, Černá Z, Honomichlová H, Jehlička P, Kobr J, **Kreslová M** et al. Základy dětského lékařství, 2016, kapitola pneumologie: 142–173, ISBN: 978-80-246-2997-1.

Články v impaktovaných časopisech

- Sýkora J, Pomahačová R, **Kreslová M**, Cvalínová D, Štych P, Schwarz J. Current global trends in the incidence of pediatric-onset inflammatory bowel disease. World Journal of Gastroenterology, 2018, vol. 24: 2741–2763. ISSN 1007–9327, IF (3.41).
- 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., 2018, 67: 903–909, (IF1.39).

Abstrakta v impaktovaných časopisech

- **Kreslová M**, Masopustová A, Jehlička P, Huml M, Bittenglová R, Trefil L, Sýkora J. Endothelial dysfunction in children and young adults with Cystic Fibrosis – a combined diagnostic approach of plethysmographic and biochemical markers: new applications. European Respiratory Journal 2016 48: PA1263; DOI: 10.1183/13993003.congress-2016.PA1263, (IF12.24).
- **Kreslová M**, Jehlička P, Vondráková R, Sýkora J. Vascular malformations as rare causes of respiratory disorders, 2015, Pediatric Pulmonology 50: S72 (IF 2.81).
- Tesfaye H, Jedličková B, Průša R, Bartošová J, Kučerová T, Skalická V, **Kreslová M**. Therapeutic Drug Monitoring Guided Extended Aminoglycosides Dosing Regimen in Paediatric Cystic Fibrosis (Cf) Patients: A Step Forward, Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology, 2013, Volume: 35, Issue: 5 (IF 0.09).
- Dřevínek P, Bílková A, Pecková M, Bartošová J, Skalická V, Fila L, Borek-Dohalská L, **Kreslová M**. Waning Effect of a Long-term Azithromycin Therapy, Pediatric Pulmonology, 2018, sv. 53, vydání S2: 327, (IF 2.81).

Články v recenzovaných časopisech

- 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, Česko-slov. Pediatrie, 2017; 72(8): 478–488.
- **Kreslová M**, Sýkorová A, Jehlička P, Kobr J. , Huml M, Trefil L, Sýkora J. Pletysmografické a biochemické metody jako nové možnosti neinvazivního hodnocení endotelové dysfunkce u dětí s cystickou fibrózou – kombinovaný diagnostický přístup, Česko-slov. Pediatrie, 2019; 74 (7): 401–410.

Články v ostatních časopisech

- Fremuth J, Kobr J, Vondráková R, Šperlová L, Špidlen V, Pizingerová K, Šašek L, **Kreslová M**, Zamboryová J. Complicated pneumonia in a 16 year old boy, Pediatrie pro Praxi, 2012, vol. 13(3): 182–184.
- **Kreslová M**, Kobr J, Beránková K, Kučerová T, Vondráková R. Exogenní alergická alveolitida v dětském věku. Vox pediatrae, 2013, vol. 13: 26–28. ISSN1213-2241.
- Kučerová T, **Kreslová M**, Lád V, Hanušová Z, Ondráková R, Brázdilová M, Paulas L, Kobr J. Akutní bolest zad s netypickým průběhem - opravená diagnóza?, Pediatrie pro Praxi, 2014, vol. 15: 164–166, ISSN 1213-0494.
- **Kreslová M**, Bittenglová R, Sýkora J. Současný pohled na diagnostiku a nové možnosti terapie cystické fibrózy, Plzeňský lékařský sborník - supplementum 86, 2016: 81–87, ISSN 0139–603X.
- Mocková A, Čadová M, Matas M, Dort J, **Kreslová M**. Příklad extrémně nezralých dvojčat s cystickou fibrózou, Neonatologické listy, 2017, vol. 23, s. 16–19, ISSN 1211–1600.
- Vidunová J, **Kreslová M.**, Sunkovský J. Intoxikace v dětském věku aneb první dojem možná klame..., Urgentní medicína, 2018; vol. 21, s. 18–22. ISSN 1212–1924.

Prezentace

- **Kreslová M**, Vondráková R. Mukokéla – neobvyklá komplikace CF, I. ročník zasedání Registru pacientů s cystickou fibrózou RECYF, Praha, 2012.
- Tesfaye H, Jedličková B, Průša R, Bartošová J, Kučerová T, Skalická V, **Kreslová M**. Therapeutic Drug Monitoring Guided Extended Aminoglycosides Dosing Regimen in Paediatric Cystic Fibrosis (Cf) Patients: A Step Forward, 13th International Congress of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology, Salt Lake City, 2013.
- **Kreslová M**, Pohunek P. , Jurovčík M. , Černá Z. , Sládková E. Neobvyklá příčina stridoru v dětském věku, XXV. Plzeňské pediatrie dny, Plzeň, 2013.

- **Kreslová M**, Beránková K, Kučerová T, Vondráková R, Kobr J. Exogenní alergická alveolitida v dětském věku, XXV. Plzeňské pediatrické dny, Plzeň, 2013.
- **Kreslová M**, Jehlička P, Kučerová T, Vondráková R, Hecht P, Kobr J. Recidivující respirační infekty v dětském věku na podkladě mimoplicní příčiny, XI. Český pediatrický kongres Zlín, 2014.
- **Kreslová M**. Cystická fibróza – Principy inhalační terapie a fyzioterapie, Plzeň, regionální seminář pro rehabilitační lékaře a fyzioterapeuty, 2014.
- **Kreslová M**, Jehlička P, Vondráková R, Sýkora J. Recidivující bronchopneumonie na podkladě cévní anomalie, Plzeň, regionální pediatrický seminář, 2014.
- **Kreslová M**. Inhalační léčba v dětském věku, Pediatrický regionální seminář Plzeň, 2014.
- Skalická V, **Kreslová M**. Cystická fibróza – od diagnostiky k léčbě, XI. Český pediatrický kongres – sekce Meet-the-Expert, Zlín, 2014.
- Liška M, **Kreslová M**. Primární ciliární dyskineze – nové možnosti vyšetření, Postgraduální lékařské dny, Plzeň, 2014, In: Sborník s.11.
- **Kreslová M**. Péče o dítě s chronickým respiračním onemocněním v ordinaci PLDD, III. Kongres pediatriů a dětských sester, Plzeň, 2015.
- **Kreslová M**, Jehlička P, Huml M, Šimůnková P, Vondráková R, Sýkora J. Není astma jako astma, XXXII. Dny praktické a nemocniční pediatrie, Olomouc, 2015.
- **Kreslová M**, Jehlička P, Huml M, Šimůnková P, Vondráková R, Sýkora J. „Ne všechno, co píská, je astma“, 14. Konference dětské pneumologie, Praha, 2015.
- **Kreslová M**, Jehlička P, Huml M, Šimůnková P, Vondráková R, Sýkora J. „Ne každé astma píská“, XXVII. Plzeňské pediatrické dny, Plzeň, 2015.
- **Kreslová M**. Novorozenecké pneumopatie, Vyšetřovací postupy v dětské pneumologii, TBC v dětském věku, Cystická fibróza – možnosti diagnostiky a léčby, Předatestační kurz pro lékaře k přípravě k atestaci z pneumologie a ftizeologie, Plzeň, 2015.
- **Kreslová M**, Bittenglová R, Sýkora J. Současný pohled na diagnostiku a léčbu cystické fibrózy, Postgraduální lékařské dny, Plzeň, 2016.
- **Kreslová M**, Masopustová A, Jehlička P, Huml M, Bittenglová R, Trefil L, Sýkora J. Endoteliální dysfunkce u dětí a dospělých s cystickou fibrózou, 15. konference dětské pneumologie Praha, 2016.
- **Kreslová M**, Bittenglová R. Současné možnosti terapie cystické fibrózy, XXVIII. 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, 56. Studentská vědecká konference, Plzeň, 2016, In: Sborník s. 74.
- **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, 12. Kongres českých pediatriů a sester, 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, 15. Konference dětské pneumologie, Praha, 2016, In: Sborník s.15.

- **Kreslová M.** Respirační onemocnění v dětském věku – současný pohled na diagnostiku a léčbu, Klatovy, 2016.
- Šašek L, **Kreslová M**, Fremuth J, Huml M, Kobr J. Recentní kazuistiky závažných plicních nálezů, Pediatrický regionální seminář Plzeň, 2016. Práce získala ocenění.
- Havlová Š, **Kreslová M.** Vliv ototoxických ATB na percepční poruchu sluchu u dětí s CF - Retrospektivní studie, 15. Česko-slovenský foniatrický kongres 2017 a XXVIII. Celostátní foniatrické dny Evy Sedláčkové, 2017, Ostravice.
- **Kreslová M**, Havlová Š. Nové možnosti v diagnostice a léčbě Primární ciliární dyskinezy – spolupráce pediatra a ORL lékaře, regionální ORL seminář, 2017, Plzeň.
- Mocková A, Čadová M, Matas M, **Kreslová M.** Případ extrémně nezralých dvojčat s cystickou fibrózou, Neonatologický regionální seminář Plzeň, 2017.
- Šašek L, **Kreslová M**, Pizingerová K, Fremuth J, Huml M. Cizí těleso v dýchacích cestách, Pediatrický regionální seminář Plzeň, 2017.
- **Kreslová M**, Křepela K, Doležalová K, Fremuth J, Schwarzová V. Tuberkulózní pleuritis v dětském věku, XXIX. Plzeňské pediatrické dny, Plzeň, 2017.
- Bartošová J, **Kreslová M.** Hypersenzitivní pneumonitis v dětském věku, Krajský pediatrický seminář, Praha, 2017.
- **Kreslová M.** SOP po 5 letech, VI. ročník zasedání Registru pacientů s cystickou fibrózou RECYF, Praha, 2017.
- **Kreslová M**, Bartošová J, Martinů V. Neobvyklá příčina dušnosti v dětském věku, 16. Konference dětské pneumologie, Praha, 2017, in:Sborník s.14.
- **Kreslová M**, Křepela K, Doležalová K, Fremuth J, Schwarzová V. TBC pleuritis, XXIX. Plzeňské pediatrické dny, Plzeň, 2017.
- **Kreslová M.** et pracovní skupina CF při ČLS JEP: Cystická fibróza, Respirační akademie III, Plzeň, 2018.
- Pizingerová K, Šašek L, **Kreslová M**, Fremuth J, Huml M. Cizí těleso v dýchacích cestách, Kongres pediatrické intenzivní medicíny 1. Valčianské nástrahy s mezinárodní účastí, Valčianska dolina, 2018.
- Skalická A, **Kreslová M**, Skalická E. Neobvyklá příčina dušnosti u pacientky s cystickou fibrózou – XIV. Pediatrický kongres Olomouc, 2019.
- Schwarzová V, **Kreslová M.** Aktuální pohled na léčbu pneumonií v dětském věku, Pediatrický regionální seminář Plzeň, 2019.
- **Kreslová M**, Schwarzová V. Novinky v dětské pneumologii. Pertuse. Simeox, Pediatrický regionální seminář Plzeň, 2019.
- **Kreslová M.** Simeox jako součást komplexní terapie CF nemocných - kazuistika, VIII. ročník zasedání Registru pacientů s cystickou fibrózou RECYF, Praha, 2019.
- **Kreslová M.** Dětská pneumologie v kostce – doporučené postupy, regionální seminář pro infektology, Plzeň, 2019. 1924.

Postery

- **Kreslová M**, Jehlička P, Vondráková R, Sýkora J. Vascular malformations as rare causes of respiratory disorders, CIPP XIVth International Congress on Pediatric Pulmonology Krakow, 2015, poster 138.
- **Kreslová M**, Masopustová A, Jehlička P, Huml M, Bittenglová R, Trefil L, Sýkora J. Endothelial dysfunction in children and young adults with Cystic Fibrosis – a combined diagnostic approach of plethysmographic and biochemical markers: new applications. ERS International Congress London, 2016, thematic poster 74.
- **Kreslová M**, Jehlička P, Huml M, Vondráková R, Schwarzová V, Sýkora J. Není astma jako astma – diferenciální diagnostika, XXXIII. Sjezd českých a slovenských alergologů a klinických imunologů, 2016, Plzeň.
- **Kreslová M**, Masopustová A, Bittenglová R, Trefil L, Sýkora J. Hodnocení endoteliální funkce u dětí a dospělých s cystickou fibrózou – kombinovaný diagnostický přístup, VII. ročník zasedání Registru pacientů s cystickou fibrózou RECYF, Praha, 2018.
- Dřevínek P, Bílková A, Pecková M, Bartošová J, Skalická V, Fila L, Borek-Dohalská L, **Kreslová M**. Waning Effect of a Long-term Azithromycin Therapy, 32nd Annual North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC) Denver, 2018, thematic poster 473.

14. Seznam použitých zkratk

- AB – asthma bronchiale
- ADMA – asymetrický dimetylarginin
- AS – ateroskleróza
- BMI – body mass index
- CF – cystická fibróza
- CFTR – transmembránový regulátor vodivosti
- CMP – cévní mozková příhoda
- ECP – eozinofilní kationický protein
- ED – endoteliální dysfunkce
- FENO – frakční koncentrace oxidu dusnatého ve vydechovaném vzduchu
- FMD – Flow Mediated Dilatation
- HDL – lipoproteiny s vysokou denzitou
- hs-CRP– C-reaktivní protein stanovený vysoce citlivou metodou
- ICHS – ischemická choroba srdeční
- IKS – inhalační kortikosteroid
- IM – infarkt myokardu
- ISZ – nespecifický střevní zánět
- KVO – kardiovaskulární onemocnění
- LABA – beta2-agonisté s dlouhodobým účinkem
- LDL – low density lipoprotein
- NO – oxid dusnatý
- PAT – postokluzní arteriální tonus
- RHI – reaktivní hyperemický index
- sVCAM-1 – vaskulární adhezivní molekuly
- TG – triglyceridy
- VLDL – lipoproteiny s velmi nízkou denzitou