

**Univerzita Karlova**

**2. lékařská fakulta**

Doktorský studijní program: Fyziologie a patofyziologie člověka



**MUDr. Ondřej Hloch**

**Význam imunonutrice u pacientů s cystickou fibrózou**

The impact of immunonutrition in patients with cystic fibrosis

Disertační práce

Školitel: prof. MUDr. Jiří Charvát, CSc.

Praha, 2021

**Prohlášení:**

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

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

Praha, 20.12.2021

MUDr. Ondřej Hloch

### **Poděkování**

Rád bych na tomto místě poděkoval svému školiteli, prof. MUDr. Jiřímu Charvátovi, CSc., za nápady a vedení, bez nichž by tento projekt nevznikl. Jeho profesionální a lidský přístup v kombinaci s energií a nasazením je pro mě velkou životní inspirací. Dále bych rád poděkoval za spolupráci a ochotu doc. MUDr. Liborovi Filovi, PhD. a MUDr. Janu Havlínovi, PhD.

## Význam imunonutrice u pacientů s cystickou fibrózou

### Abstrakt

Cílem práce bylo zhodnocení aplikace imunonutrice u dospělých s cystickou fibrózou (CF) a malnutricí, užívajících nejméně rok enterální výživu formou standardního sippingu. U 30 dospělých nemocných byla imunonutrice (přípravek Impact) podávána po dobu 8 týdnů. Po 8 týdnech se pacienti vrátili ke standardní nutriční podpoře. Aplikace imunonutrice vedla k významnému snížení systolického tlaku a tepové frekvence, ke zvýšení glomerulární filtrace a k významným změnám v plazmatickém aminoacidogramu. Významně poklesla hodnota sérového amyloidu-A (SAA), která se po ukončení intervence opětovně zvýšila. Podání imunonutrice bylo ale asociováno se vzestupem sérového malonyldialdehydu, poklesem glutathionperoxidázy a selenu v séru. Podání imunonutrice vedlo tedy ke zvýšení markerů oxidačního stresu, avšak téměř všechny hodnoty zůstaly ve fyziologických mezích. Při 6-letém sledování byla dlouhodobá prognóza v multivariantní analýze závislá pouze na vstupním FEV1, respektive na stupni plicního postižení. Četnost a trvání následných hospitalizací a dlouhodobá prognóza byly významně asociovány s hladinou plazmatického fibrinogenu. Hlavním zjištěním práce je skutečnost, že aplikace imunonutrice u nemocných s CF vede k snížení aktivity zánětlivých parametrů (SAA). Je ale asociována se zvýšením sérového malonyldialdehydu jako markeru oxidačního stresu. Na podkladě našich výsledků je pravděpodobné, že toto zvýšení oxidačního stresu nemá negativní klinické důsledky.

**Klíčová slova:** cystická fibróza, imunonutrice, malnutrice, oxidační stres, zánětlivé parametry,

# **The impact of immunonutrition in patients with cystic fibrosis**

## **Abstract**

The aim of the study was to evaluate the application of immunonutrition in adults with cystic fibrosis (CF) and malnutrition, who have been receiving enteral nutrition in the form of standard sipping for at least a year. In 30 adult patients, immunonutrice (Impact) was given for 8 weeks. After 8 weeks, patients returned to standard nutritional support. The application of immunonutrition led to a significant reduction in systolic blood pressure and heart rate, to an increase in glomerular filtration and significant changes in the plasma aminoacidogram. Serum amyloid-A (SAA) levels decreased significantly and increased again after the intervention. However, immunonutrition administration was associated with an increase in serum malonyldialdehyde, a decrease in serum glutathione peroxidase and selenium. Thus, administration of immunonutrition led to an increase in oxidative stress, but almost all values remained within physiological limits. At 6-year follow-up, the long-term prognosis in the multivariate analysis depended only on baseline FEV1 and the degree of pulmonary involvement, respectively. The frequency and duration of subsequent hospitalizations and long-term prognosis were significantly associated with plasma fibrinogen levels. The main finding of the work is the fact that the application of immunonutrition in patients with CF leads to a reduction in the activity of inflammatory parameters (SAA). However, it is associated with an increase in serum malonyldialdehyde as a marker of oxidative stress. Based on our results, it is likely that this increase in oxidative stress does not have negative clinical consequences.

**Key words:** cystic fibrosis; immunonutrition; inflammatory parameters; malnutrition; oxidative stress

## Seznam použitých zkratk

ALP	alkalická fosfatáza
ALT	alaninaminotransferáza
AR	autozomálně recesivní
ARDS	syndrom akutní dechové tísně
AST	aspartátaminotransferáza
ATM	bezvodá tuková tkáň
BCM	body composition monitor
BMI	body mass index
cAMP	cyklický adenosinmonofosfát
CF	cystická fibróza
CFLD	Cystic fibrosis-related liver disease
CFRD	Cystic fibrosis-related diabetes mellitus
CFTR	cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
CHOPN	chronická obstrukční plicní nemoc
CI	korelační koeficient
CRP	C reaktivní protein
DIOS	distal intestinal obstruction syndrome
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ECW	mimobuněčná voda
ENac	epiteliální natriový kanál
FEV1	usilovně vydechnutý objem za první sekundu
FTI	poměr mezi tukovou masou a výškou v metrech na druhou
FVC	usilovná vitální kapacita
GMT	gama-glutamyltransferáza
GPx	glutation peroxidáza
GSH	glutation
HCT	hematokrit
HGB	hemoglobin
HSP	heat shock protein
ICW	voda uvnitř buněk
IgA	imunoglobulin A
IgG	imunoglobulin G

IgM	imunoglobulin M
IL_1	interleukin 1
IL_6	interleukin 6
IRT	imunoreaktivní trypsinogen
LTI	poměr mezi beztukou masou a výškou v metrech na druhou
LTM	beztuká tělesná hmota
MCH	průměrné množství hemoglobinu v buňce
MCV	střední objem erytrocytu
MDA	malonyldialdehyd
MEF50	maximální výdechový průtok v polovině usilovné vitální kapacity
MELAS	mitochondriální encefalomyopatie, laktátová acidóza a epizody podobné mrtvici
MPV	střední objem destičky
mRNA	messenger ribonukleová kyselina
NO	oxid dusnatý
NOS	syntázy oxidu dusnatého
PCT	destičkový hematokrit
PDW	distribuce trombocytů
PLT	trombocyty
PUFA	Polynenasycené mastné kyseliny
RBC	erytrocyty
RDW	distribuční šíře erytrocytů
RQ	respirační koeficient
RNA	ribonukleová kyselina
SAA	sérový amyloid A
SOD	superoxid dismutáza
STH	somatotropní hormon
TBW	celková tělesná voda
TG	triacylglyceroly
TK	tlak krve
VC	vitální kapacita
WBC	leukocyty

## OBSAH

1	Úvod .....	10
1.1	Cystická fibróza .....	10
1.1.1	Základní charakteristika .....	10
1.1.2	Epidemiologie.....	10
1.1.3	Etiologie .....	11
1.1.4	Patogeneze .....	12
1.1.5	Klinický obraz .....	13
1.1.5.1	Postižení respiračního systému .....	14
1.1.5.2	Postižení gastrointestinálního systému .....	15
1.1.5.3	Postižení pohlavního systému .....	16
1.1.5.4	Postižení skeletu.....	16
1.1.6	Nutrice u pacientů s CF .....	17
1.1.6.1	Deficit nutrientů .....	17
1.1.6.2	Formy nutriční podpory .....	18
1.1.7	Diagnostika CF .....	18
1.2	Oxidační stres .....	19
1.2.1	Biomarkery oxidačního stresu.....	19
1.2.2	Antioxidační mechanismy .....	20
1.3	Imunonutrice .....	21
1.3.1	Základní imunonutrienty .....	21
1.3.2	Dosavadní vědecké poznatky o klinickém použití imunonutrice.....	22
2	Cíle práce.....	25
3	Vědecká hypotéza.....	25
4	Metodika.....	26
4.1	Soubor pacientů .....	26
4.2	Laboratorní analýza .....	27
4.2.1	Nutriční parametry.....	27
4.2.2	Zánětlivé biomarkery.....	29
4.2.3	Parametry oxidačního stresu.....	29
4.3	Ostatní laboratorní parametry .....	31
4.4	Přístrojová vyšetření .....	33
4.5	Statistická analýza.....	34
5	Výsledky.....	35
5.1	Základní charakteristika souboru.....	35
5.2	Vliv aplikace imunonutrice na nutriční parametry ve sledovaném souboru.....	36
5.3	Cystická fibróza a zánětlivé biomarkery.....	39
5.4	Cystická fibróza a oxidační stres .....	40
5.5	Sledování bezpečnosti podání imunonutrice .....	43
5.6	Dlouhodobé sledování .....	45
6	Diskuze .....	50
6.1	Význam komponent imunonutrice u nemocných s cystickou fibrózou.....	50
6.2	Vliv aplikace imunonutrice na nutriční parametry ve sledovaném souboru.....	53
6.3	Cystická fibróza a zánětlivé biomarkery.....	56
6.4	Cystická fibróza a oxidační stres .....	58
6.5	Sledování bezpečnosti podání imunonutrice .....	63
6.6	Dlouhodobé sledování. ....	63
7	Vztah práce k testovaným hypotézám .....	65
8	Závěr.....	66
9	Souhrn.....	68



10	Summary.....	69
11	Seznam literatury.....	70
12	Dodatek disertační práce – seznam publikací autora práce.....	86
12.1	Publikace, které jsou podkladem disertační práce .....	86
12.1.1	S IF .....	86
12.1.2	BEZ IF .....	86
12.1.3	Posterová sdělení .....	86
12.2	Publikace bez vztahu k tématu disertační práce.....	87
12.2.1	S IF .....	87
12.2.2	Bez IF .....	87
12.2.3	Posterová sdělení .....	88
12.2.4	Přednášková sdělení .....	88
12.2.5	Knihy .....	88

# 1 Úvod

## 1.1 Cystická fibróza

### 1.1.1 Základní charakteristika

Cystická fibróza (CF) je vrozené multisystémové onemocnění s autozomálně recesivním (AR) typem dědičnosti. Je způsobeno mutací genu pro transmembránový regulátor vodivosti (CFTR – cystic fibrosis transmembran conductance regulator), která vede k dysfunkci žláz s vnější sekrecí, vysoké koncentraci chloridů v potu a tvorbě abnormálně vazkého hlenu v dýchacím, trávicím a pohlavním systému. V klinickém obraze pak dominuje chronické sinopulmonální onemocnění, dysfunkce trávicího systému s poruchou výživy a obstruktivní azoospermie.

Samotný název získalo onemocnění podle strukturálních změn pozorovaných na pankreatu americkou patoložkou D.Andersonovou již v roce 1938. Pro bližší pochopení patofyziologie onemocnění s následným využitím pro jeho diagnostiku byl zásadním milníkem objev zvýšené koncentrace chloridů v potu v roce 1953. Samotný objev CFTR genu se pak datuje až do roku 1989 (Collins et al. 1990). Intenzivní vývoj nových diagnostických a léčebných možností tak změnil vnímání cystické fibrózy jako nemoci časného dětského věku s krajně nepříznivou prognózou na onemocnění, s kterým se pacienti běžně dožívají dospělosti. Data dokládající tento pokrok je medián predikovaného přežití zveřejňovaný americkou CF Foundation, který se zvýšil od roku 1992 do roku 2015 z 29,4 na 41,6 roku.

### 1.1.2 Epidemiologie

Cystická fibróza patří k nejčastějším autozomálně recesivním onemocněním negativně ovlivňujícím délku života. Její výskyt se liší podle etnické příslušnosti, kdy nejčastěji je postižena kavkazská rasa s incidencí 1:3500 (Zemanick et al. 2010). U dalších etnických skupin pak incidence postupně klesá – Hispánci 1:9200, Afričané 1:15000 a Asiaté 1:30000 (Hamosh et al. 1998). (Committee on Genetics, American College of Obstetricians and Gynecologists 2005). Data pro Českou republiku se pohybují od 1:2736 z epidemiologických a genetických studií až po 1:4023 vycházejících z prenatální diagnostiky a novorozeneckého screeningu (Fila 2014) . Zastoupení obou pohlaví je vyrovnané. Ze všech sledovaných pacientů s CF tvoří dominantní skupinu děti (61%),

dospělí pacienti pak představují zbylých 39%. Ročně se v ČR narodí přibližně 35 dětí s cystickou fibrózou, novorozenecký screening však zachytí pouze necelou polovinu.

### 1.1.3 Etiologie

Cystická fibróza je způsobena mutací na dlouhém raménku 7.chromozomu v oblasti 7q31.3, kde je lokalizován gen *CFTR* (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) (Collins et al. 1990; Bear et al. 1992). Gen pro *CFTR* má 27 exonů a délku 250 kb. Ke vzniku samotného onemocnění je vzhledem k autozomálně recesivnímu typu dědičnosti nutná mutace obou alel. V současné době je známo více než 2000 těchto mutací. Nejčastější mutací vyskytující se v České republice je F508del (delece fenylalaninu na pozici 508), tvořící asi 70% *CF* chromozomů pacientů s *CF*. Podle četnosti výskytu patří mezi další významné mutace „slovanská“ s 5,8%, „keltská“ G551D s 2,9%, „středomořská“ N1303K s 2,4% a „fénická“ G542X s 2,0% pacientů (Křenková et al. 2013). Mutace de novo jsou velmi vzácné. Znalost typu jednotlivých mutací hraje významnou roli v predikci tíže onemocnění. Platí pravidlo, že vždy ta „mírnější“ mutace určuje výsledný fenotyp, tzn. že určuje míru poškození *CFTR* proteinu a s tím související tíži klinického průběhu.

Mutace *CFTR* genu se rozdělují do šesti tříd odlišujících se typem poškození i výsledným klinickým dopadem. Mutace třídy I-III jsou považovány za „těžké“, jsou asociovány s klasickou formou *CF*, sinopulmonálním onemocněním, zvýšením koncentrace chloridů v potu, porušenou zevněsekretorickou funkcí pankreatu a mužskou neplodností. Třídy IV-VI jsou „mírné“. Přítomnost alespoň jedné mutace z této skupiny může znamenat zachovalou funkci pankreatu a pouze hraniční koncentraci chloridů v potu.

**Mutace třída I** – *tvorba defektního proteinu CFTR*. Tato mutace způsobuje předčasné ukončení translace mRNA a *CFTR* protein se tak vůbec nevytvoří (Zielenski a Tsui 1995). Celosvětově představují tyto mutace 2-5% případů cystické fibrózy a jsou spojeny se závažným průběhem onemocnění. (Lukacs a Durie 2003)

**Mutace třída II** – *porušená maturace proteinu CFTR*. Mutace blokují posttranslační glykosylaci a prostorově změněný *CFTR* je organismem rozpoznáván jako defektní a je rozkládán. Do této skupiny patří i nejčastěji se vyskytující mutace F508del, která je v homozygotní formě přítomna u přibližně 50% všech pacientů s *CF* a až u 90% je

přítomna alespoň jedna kopie. (Moskowitz 2010) . Klinický průběh u této třídy mutací patří k závažným.

**Mutace třída III** – *porucha regulace proteinu CFTR*. Mutace způsobují poruchy vazby ATP. Takto postižený kanál neodpovídá na stimulaci cAMP a je trvale uzavřen. Množství CFTR je na povrchu buňky kvantitativně normální, přesto se chloridy tímto trvale uzavřeným kanálem nepřenášejí. Nejčastější mutací u kavkazské populace je G551D (Moskowitz 2010) . Průběh CF je u tohoto typu mutace závažný.

**Mutace třída IV** – *defektní průchod iontů proteinem CFTR*. Stejně jako u III třídy není postižen počet CFTR, ale jeho funkce. Na rozdíl od III třídy kanál reaguje na stimulaci cAMP, ale v porovnání s normálním CFTR je jeho lumen zúžené a průtok chloridů tak výrazně redukován. Nejčastější mutací této třídy je R117H (Moskowitz 2010) . Částečně zachovalá funkce kanálu vede spíše k mírnému průběhu onemocnění.

**Mutace třída V** – *snížená tvorba normálního proteinu CFTR* . Mutace způsobují chybný sestřih mRNA, která je nestabilní a náchylná k rozpadu. Tím se redukuje celkové množství syntetizovaného CFTR. Vždy je však určité množství plně funkčního CFTR zachováno, což vede k mírnému průběhu onemocnění, která u mužské populace nemusí být provázena infertilitou (Vávrová 2006) .

**Mutace třída VI** – *snížená stabilita plně funkčního proteinu CFTR*. Mutace způsobuje sníženou stabilitu CFTR a jeho dřívější rozpad. Vzhledem k jinak plné funkčnosti takto alterované bílkoviny patří tato třída mutací k mírným formám.

#### 1.1.4 Patogeneze

CFTR je protein s funkcí chloridového kanálu lokalizovaný do apikální membrány epitelálních buněk. Gen pro CFTR je přítomen ve všech buňkách lidského organismu, avšak pouze v epitelálních buňkách je významně exprimován. Mimo cAMP řízený transport chloridových iontů ovlivňuje a reguluje i funkce jiných transmembránových proteinů (Rowntree a Harris 2003) . Právě lokalizace na membráně epitelálních buněk vede k typickému postižení žláz se zevní sekrecí. Podle typu mutace dochází k strukturální nebo funkční poruše CFTR proteinu. Patofyziologie samotného děje vedoucího

k poškození jednotlivých orgánů zahrnuje několik základních mechanismů. Jedním je samotná porucha transportu chloridů, bikarbonátů a tiokyanátů. Tím je narušena hypotonicita sekretu, která za normální situace aktivuje antimikrobiální peptidy defenziny. To vede k narušení cytikonové odpovědi, snížení obranyschopnosti a nakonec k rozvoji zánětu (Terheggen-Lagro et al. 2005). Druhou cestou je nadměrná resorbce sodíku a vody z produkovaného hlenu cestou epiteliálního natriového kanálu (ENaC), jehož funkce je správně fungujícím CFTR proteinem blokována. Tím dochází k vzestupu viskozity hlenu .

### 1.1.5 Klinický obraz

Výsledný klinický obraz u pacientů s CF je dán věkem manifestace a mírou postižení jednotlivých orgánových systémů (respirační, gastrointestinální, reprodukční) a je značně variabilní. Dříve vedl nejčastěji k diagnóze CF právě nález typických klinických symptomů. Zavedením a rozvojem novorozeneckého screeningu se tento trend změnil a od roku 2009 narostl poměr asymptomatických pacientů diagnostikovaných právě na základě novorozeneckého screeningu.

**Typická CF** je charakterizovaná výrazným zvýšením hladiny chloridů v potu nad 60mmol/l a přítomností dvou těžkých mutací v CFTR genu. Klinicky do obrazu patří současné postižení respiračního i gastrointestinálního systému. K diagnostice dochází nejčastěji již v dětském věku.

U **atypické CF** je množství chloridů v potu pouze mírně zvýšené, nebo hraniční tj. 40-60mmol/l, a jedna ze dvou mutací MCFR genu může být „mírná“. Orgánové postižení je často patrné pouze v jednom z uvedených orgánových systémů. Častěji se s touto formou setkáváme v období dospívání nebo v dospělosti. Postupem času může u pacientů s atypickou formou CF dojít k rozvoji dalších příznaků až do obrazu formy typické (Vávrová 2006).

**CFTR-related disease** je monosymptomatická forma onemocnění, u které můžeme nalézt i pouze jednu mutaci v CFTR genu a hladina chloridů v potu může být i v normálním rozmezí, tj. pod 40mmol/l.

### 1.1.5.1 Postižení respiračního systému

V dýchacích cestách vede porušený transport chloridových a natriových iontů k tvorbě viskózního obtížně odstranitelného hlenu (Wine 1999), jehož hromadění je příčinou produktivního kašle, který patří k nejčastějším klinickým projevům onemocnění. Jeho charakter se v průběhu onemocnění mění z paroxysmálního na chronický produktivní. V časných fázích onemocnění je typická hyperreaktivita dýchacích cest s dobrou odpovědí na bronchodilatační léčbu, jejíž efekt však s progresí onemocnění klesá. Obtížná toaleta dýchacích cest se stagnujícím sekretem jsou příčinou sekundární bakteriální infekce a rozvoje neutrofilního zánětu. Ten je příčinou typických exacerbací plicních obtíží s celkovou alterací stavu. Mezi nejčastější mikrobiologické agens patří *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa* a komplex *Burkholderia cepacia*. Exacerbace v důsledku infekce *Burkholderia cepacia* tzv. cepacia syndrom s typickým nekrotizujícím zánětem patří k nejzávažnějším život ohrožujícím komplikacím. Lokálně produkované kyslíkové radikály a proteázy buněk imunitního systému jsou zodpovědné za poškození plicní tkáně s vznikem bronchiektázií, obstrukční ventilační poruchy a následnou respirační insuficienci (Boucher 2004). Bronchiektázie byly prokázány u 50-75% dětí s CF ve věku 3-5let (Stick et al. 2009; Mott et al. 2012). Riziko časného rozvoje bronchiektázií zvyšuje přítomnost mekoniového ileu po narození, respirační obtíže v době vyšetření a průkaz neutrofilní elastázy v bronchoalveolární laváži (Sly et al. 2013). Uvedené změny jsou také příčinou pozdních závažných komplikací, ke kterým patří masivní hemoptýza nebo spontánní pneumotorax. I přes intenzivní péči a terapii dochází k postupné progresi respirační insuficience s hypoxemií, rozvoji plicní hypertenze a sekundárního pravostranného srdečního postižení. Mezi základní sledované parametry k monitoraci progresu onemocnění patří usilovná vitální kapacita (FVC) a usilovně vydechnutý objem za první sekundu (FEV1). Hodnota FEV1 je parametr, který koreluje s délkou přežití u pacientů s CF (Konstan et al. 2007) a její pokles pod 30% predikované hodnoty by měl vést k zvážení indikace transplantace plic (Kerem et al. 1992).

K typickým projevům v horních dýchacích cestách patří postižení vedlejších nosních dutin. Zánětlivé změny pozorovatelné na RTG snímku jsou přítomny u více než 90% pacientů, u 10 až 32% jsou přítomny nosní polypy. Postižení vedlejších nosních dutin může být kromě zdroje sekrece a pocitu ucpaného nosu i příčinou exacerbace plicního onemocnění (Fila 2014).

### 1.1.5.2 Postižení gastrointestinálního systému

S postupným prodlužováním délky života pacientů s CF narůstá význam a četnost gastrointestinálních obtíží jako zdroje morbidity nemocných. Patofyziologie obtíží je stejně jako u respiračního systému způsobena produkcí abnormálně viskózního sekretu obturujícího lumen orgánů.

**V gastrointestinálním systému** postihuje CF pankreas, játra a střevo.

**Mekoniový ileus** je obstrukční postižení tenkého střeva novorozence na úrovni terminálního ilea. Klinické obtíže se projevují nejčastěji v prvních třech dnech života poruchou pasáže a opakovaným zvracením. Rentgenologický obraz je typický s dilatací ilea před místem obstrukce a microcolon za obstrukcí. Jako první manifestaci CF ho pozorujeme přibližně u 10% pacientů. Ze všech pacientů s mekoniovým ileem je incidence CF 80-90% (Fakhoury et al. 1992).

#### **Syndrom obstrukce distálního střeva (DIOS – distal intestinal obstruction syndrome)**

Představuje variantu mekoniového ileu vyskytující se u dětí staršího věku. Podkladem je částečná, nebo úplná obstrukce střeva viskózním obsahem střevním. Nejčastější lokalizace postižení je terminální ileum a proximální část tračníku. Častou příčinou DIOS je dehydratace a chybějící, nebo nedostatečná substituce pankreatických enzymů.

#### **Pankreas**

Postižení pankreatu nacházíme až u 90% pacientů s CF a vede k typické fibróze a cystické přestavbě, která dala tomuto onemocnění jméno. Ztráta funkční tkáně slinivky se zánikem Langerhansových ostrůvků vede k deficitu inzulínu s rozvojem diabetu mellitu (CFRD Cystic fibrosis-related diabetes mellitus). Prevalence CFRD se zvyšuje s věkem z cca 15% v období dospívání až k 50% ve 30 letech věku. CFRD je asociován se zhoršením respiračních funkcí, malnutricí a zvýšenou mortalitou.

Selhání exokrinní sekrece patří ke klinicky nejzávažnějším komplikacím CF. Nediagnostikovaná a neléčená způsobuje malabsorpci tuků, proteinů a řady mikronutrientů (vit A,D,E,K ). Nepřímo se podílí na poruše růstu a kostním poškození. Substituce pankreatických enzymů představuje jeden pilířů komplexní terapie pacientů s CF.

## **Hepatobiliární systém**

Jaterní postižení (CFLD Cystic fibrosis-related liver disease) nacházíme u 20-40% pacientů s CF. Klinicky pozorujeme celou šíři projevů od izolované asymptomatické elevace jaterních testů (až 45% pacientů s CF) až po nejzávažnější komplikace, kam řadíme portální hypertenzi s možností progresu do jaterní cirhozy (5-10% pacientů s CF) se všemi známými komplikacemi (Stonebraker et al. 2016). Výjimečně vede CFLD až k jaternímu selhání. Včasná identifikace CFLD umožňuje terapeutickou intervenci ještě před rozvojem závažných, život ohrožujících komplikací. K diagnostice CFLD musí být splněny alespoň dvě z níže uvedených kritérií. Mezi ty řadíme hepatomegalii, změny na ultrazvukovém vyšetření jater a abnormality v jaterních enzýmech (Debray et al. 2011). K dalším projevům v hepatobiliárním systému patří jaterní steatosa (Akata et al. 2002), cholelithiasa a cholecystitida.

## **Tenké střevo**

Ke komplikacím v oblasti tenkého střeva patří bakteriální přerůstání (SIBO Small intestine bacterial overgrowth), které je zodpovědné za snížení absorpce tuků a snížení chuti k jídlu. Různě vyjádřené formy SIBO nacházíme až u 35% pacientů s CF (Fridge et al. 2007). Příčina je multifaktoriální zahrnující sníženou mobilitu střeva, dysmikrobii v důsledku opakované léčby antibiotiky.

### **1.1.5.3 Postižení pohlavního systému**

Nesplodnost postihuje až 95% mužů s CF. Příčinou je obstrukční azoospermie bez postižení spermatogeneze způsobená nejčastěji absencí vas deferens (Ahmad et al. 2013). U žen s CF je snížena plodnost způsobena horším nutričním stavem a bariérou tvořenou abnormálně viskozním hlenem v děložním hrdle.

### **1.1.5.4 Postižení skeletu**

Postižení skeletu zahrnuje snížení kostní denzity se zvýšeným rizikem fraktur (Henderson a Specter 1994). Až 60% pacientů s CF má kyfózu se snížením tělesné výšky a změnami konfigurace hrudního koše s negativním vlivem na dechové objemy a plicní funkce (Aris et al. 1998). Etiologie skeletálního postižení zahrnuje malabsorpci kalcia, magnezia a vit D, nedostatečný příjem živin a užívání kortikosteroidů. Mezi rizikové faktory postižení skeletu patří BMI pod 10percentil pro daný věk, FEV1 pod 50% predikované hodnoty nebo užívání glukokortikoidů v dávce nad 5mg déle než 90 dnů/rok.



### 1.1.6 **Nutrice u pacientů s CF**

Problematika nutrice u pacientů s CF je z pohledu prognózy onemocnění, morbidity a mortality zásadní. Etiologie obtíží je multifaktoriální s podílem malabsorpce, zvýšeného energetického výdeje (Zemel et al. 2000) a snížené chuti k jídlu v důsledku chronické infekce (Reilly et al. 1997). Ke správné a komplexní léčbě CF patří nutriční podpora, suplementace jednotlivých nutrientů a ovlivnění malabsorpce.

#### 1.1.6.1 Deficit nutrientů

##### Kalorie

Celková energetická potřeba je v podstatě u všech pacientů s CF zvýšená. Její hodnota je přímo závislá na závažnosti genotypu CF a na míře pankreatického postižení. Klinicky se jako ukazatel adekvátního energetického příjmu využívá sledování růstové křivky a hodnoty BMI. BMI v rozmezí 50-85 percentil je považováno za ukazatel adekvátního energetického příjmu.

##### Vit A

Vitamin A je v tucích rozpustný vitamin, jehož vstřebávání je u pacientů s CF v důsledku pankreatického postižení omezeno. Vzhledem k nezbytnosti vit A v imunitních pochodech, vlivu na zrak, reprodukci a v dalších fyziologických funkcích, je nutno jeho hladinu substituovat. K dispozici jsou preparáty obsahující přímo vit A, nebo jeho prekurzor beta karoten. Dlouhodobá substituce vit A vyžaduje vzhledem k jeho toxicitě při předávkování pravidelné laboratorní kontroly (Graham-Maar et al. 2006).

##### Vit D

Deficit vit D patří u pacientů s CF k hlavním příčinám kostního postižení. Cílové hodnoty jsou 75-150nmol/l. Hodnoty nižší než 75nmol/l jsou indikací k suplementaci vitaminem D3 (cholecalciferol) nebo D2 (ergokalciferol). Forma D3 vedla v porovnání s D2 k lepšímu dosažení cílových hodnot (Tangpricha et al. 2012). Doporučená dávka je 800-2000 mezinárodních jednotek denně.

##### Vit E

Vitamin E je v tucích rozpustný vitamin, jehož dominantní funkcí je antioxidační aktivita na membránách buněk. Předpokládá se, že se touto cestou podílí na snížení zánětlivé reakce a tkáňového poškození. Denní doporučené dávky vit E jsou u pacientů s CF asi

20krát vyšší než v běžné populaci a jeho hladiny je vhodné kontrolovat (Huang et al. 2006).

## Vit K

Vitamin K je v tucích rozpustný vitamin podílející se významně na koagulační kaskádě a kostním metabolismu. U pacientů s CF je jeho deficit zapříčiněn malabsorbací tuků a také bakteriálními změnami v tenkém střevě (SIBO), které se na vstřebávání vit K podílejí.

### 1.1.6.2 Formy nutriční podpory

Dosažení a udržení dobrého nutričního stavu patří k hlavním cílům léčby pacientů s CF. K pokrytí zvýšené energetické potřeby vyžaduje velká část pacientů s CF některou z forem dlouhodobé nutriční podpory. Významnou roli sehrává odborné výživové poradenství nutričním terapeutem (Lahiri et al. 2016).

Pokud není běžným perorálním příjmem dosaženo požadovaných nutričních cílů, představuje enterální výživa pro pacienty s CF metodu volby. Nápoje určené k popíjení, tzv. sipping, tvoří doplněk k běžné stravě. Sipping patří k nejčastěji používaným formám nutriční podpory a je spojen s pozitivním efektem na nutriční parametry a plicní funkce (Shimmin et al. 2019).

## **Substituce pankreatických enzymů**

Základem léčby pankreatické insuficience je substituce pankreatických enzymů. Tyto preparáty obsahují lipázu, proteázu a amylázy v různých poměrech dle konkrétních preparátů. Substituční terapie je indikována při prokázané pankreatické insuficienci nebo jejích známkách jako jsou snížená elastáza nebo zvýšený obsah tuku ve stolici.

### 1.1.7 Diagnostika CF

V České republice je zaveden screeningový program založený na měření IRT (imunoreaktivní trypsinogen) v suché kapce. V případě positivity IRT je následně ze stejné suché kapky provedena DNA analýza nejčastějších mutací genu CFTR. Při průkazu jedné nebo dvou mutací CFTR genu jsou děti pozvány k provedení potního testu. Tento test je založen na hodnocení koncentrace chloridů v potu. Normální hodnoty jsou 10-30mmol/l, pro CF svědčí hodnoty nad 60mmol/l. Při záchytu jedné mutace je indikace k provedení podrobného genetického vyšetření.

## 1.2 Oxidační stres

Oxidační stres je proces sehrávající důležitou roli v patogenezi řady chronických onemocnění a stárnutí organismu obecně. Z těchto důvodů je v řadě prací intenzivně zkoumán. Oxidační stres je podmíněn tvorbou volných radikálů, zvláště pak volných kyslíkových radikálů ROS (reactive oxygen species) a jejich působením na buňky organismu. K hlavním producentům volných radikálů patří dýchací řetězec mitochondrií, fagocytující buňky, lysozomy a další. K exogenním faktorům podporující tvorbu ROS pak patří např. kouření a UV záření (Wong et al. 2018). Rozhodující je pak poměr mezi produkcí oxidačních produktů a antioxidační kapacitou organismu (Finkel a Holbrook 2000). Oxidační stres vede k poškození DNA, oxidaci polynenasycených mastných kyselin, alteraci mitochondriálních funkcí, poškození buněčné membrány a může vyústit až ve smrt buňky (Holze et al. 2018).

### 1.2.1 Biomarkery oxidačního stresu

Měření oxidačního stresu je komplikováno velmi krátkým biologickým poločasem volných radikálů, které nelze přímo měřit. K jeho stanovení se tak využívají produkty peroxidace lipidů. K nejznámějším patří malonyldialdehyd (MDA), izoprostan F2, 4-hydroxyalkeny .

#### *Malonyldialdehyd (MDA)*

MDA je konečný produkt oxidace polynenasycených mastných kyselin volnými kyslíkovými radikály. MDA může reagovat se strukturami DNA za vzniku antigenních sloučenin, které podněcují tvorbu specifických protilátek. Ty se pak podílejí na akcentaci aterosklerózy (Duryee et al. 2010). U malonyldialdehydu byl prokázán také mutagenní potenciál (Uchida 2003). Zvýšené hladiny MDA byly prokázány také u pacientů s karcinomem močového měchýře, kde by je bylo možno využít jako biomarker incidence, a také k monitoraci ev. progresu onemocnění (Lepara et al. 2020).

#### *8-Izoprostan*

Tato skupina látek je svou strukturou podobná prostaglandinům, na rozdíl od nich však vznikají neenzymatickou cestou. 8-izoprostan vzniká oxidací kyseliny arachidonové kyslíkovými radikály a má vazokonstrikční a bronchokonstrikční účinky (Nikolaidis et al. 2011). Sám se pak podílí mechanismem ischemickoreperfuzního poškození na tvorbě dalších volných radikálů (Roberts a Milne 2009). Jako marker oxidačního stresu je 8-

izoprostan vhodný zvláště díky vysoké stabilitě a vyšším koncentracím umožňujícím snadnější laboratorní stanovení.

### 1.2.2 Antioxidační mechanismy

Na endogenní antioxidační aktivitě se podílí řada enzymatických i neenzymatických systémů. K nejdůležitějším enzymatickým systémům patří intracelulární superoxiddismutáza. V peroxizómech lokalizovaná kataláza patří k nejúčinnějším enzymům vůbec – jedna molekula enzymu je schopna přeměnit za sekundu až 6mil. molekul H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Glutathion peroxidáza se vyskytuje ve dvou variantách, na selenu nezávislé formě GST a na selenu závislé GPx, a sehrává významnou roli v metabolismu antioxidačně působícího glutathionu. K dalším látkám s antioxidačním efektem patří cytochrom C a ceruloplasmin. Neenzymatické systémy pak zahrnují řadu vitaminů a stopových prvků. K neenzymatickým antioxidačně působícím látkám patří také bilirubin, což vysvětluje nižší riziko aterosklerózy u pacientů s Gilbertovým syndromem (vrozená hyperbilirubinemie).

#### ***Vitamin E***

Je vitamín rozpustný v tucích s významnou antioxidační aktivitou. Jedná se o skupinu derivátů 6-hydroxychromanu a tokolu s dominantním účinkem  $\alpha$ -tokoferolu. Jako součást obranného mechanismu buněčných membrán brání peroxidaci nenasycených mastných kyselin. Přesunem vodíku z fenolové skupiny na volný peroxidový radikál zastavuje tuto jinak řetězovou reakci za vzniku  $\alpha$ -tokoferolových-radikálů. Dalším významným účinkem je pak stabilizace membrán a ovlivnění jejich propustnosti (Quinn 2007).

#### ***Vitamin C***

Je ve vodě rozpustný vitamín. Jeho podíl na antioxidační aktivitě spočívá ve schopnosti redukovat  $\alpha$ -tokoferolový-radikál vznikající při antioxidační aktivitě vitamínu E zpět na  $\alpha$ -tokoferol. Z dalších účinků je významný podíl na syntéze kolagenu, vstřebávání železa, tvorbě bílých krvinek, vývoji zubů a kostí (Caritá et al. 2020).

#### ***Selen***

Je stopový prvek patřící do skupiny polokovů. Podílí se na antioxidační aktivitě jako

součást enzymatického systému glutathionperoxidázy (GPx) (Brigelius-Flohé a Flohé 2020).

### ***Thiolové antioxidanty***

Hlavním antioxidantem této skupiny je glutathion (GSH), který sehraává důležitou roli v mechanismech DNA reapar (Chatterjee 2013) a ochraně proteinů před ireverzibilními oxidačními změnami. Mechanismem je vazba GSH na částečně oxidované proteiny, které díky této vazbě mohou být redukovány GPx. Glutathion dále sám vychytává singletový kyslík a hydroxilové radikály a podílí se na regeneraci vit C a vit E. Protektivně tak zasahuje do procesu kancerogeneze, progresu neurodegenerativních onemocnění a cystické fibrózy (Townsend et al. 2003).

## **1.3 Imunonutrice**

Imunitní systém sehraává klíčovou roli v udržení integrity celého organismu. Souvislost mezi stavem výživy a normálním vývojem organismu a tím i imunitního systému je známa. Protein-energetická malnutrice vede k atrofii lymfoidních tkání a poklesu počtu lymfoidních buněk (Marcos 1997).

Imunonutrice je relativně nový směr zabývající se interakcemi mezi výživou a imunitním systémem. Hlavním cílem je modulace imunitního systému a zánětlivé odpovědi. Za tímto účelem podáváme nutrienty, jejichž dávky přesahují běžně užívaná množství. Mezi hlavní imunonutrienty řadíme arginin, glutamin a  $\omega$ -3 mastné kyseliny. Vzhledem k faktu, že v průběhu zánětu se zvyšuje oxidační stres, řadíme mezi imunonutrienty i látky s antikoaxidačním účinkem.

### **1.3.1 Základní imunonutrienty**

#### ***Arginin***

Je semiesenciální aminokyselina, jejíž potřebu není tělo schopno v období vývoje a růstu syntetizovat v dostatečném množství. Jeho produkce v organismu je spjata s glutaminem, který je ve střevě měněn na citrulin, z něhož je v ledvinách arginin produkován. Arginin stimuluje produkci inzulinu a STH (somatotropní hormon) a tím působí anabolicky. Prokázán je příznivý efekt na tvorbu a funkci lymfocytů. Metabolizace argininu na citrulin je provázena produkcí NO, který svým vazodilatačním účinkem zlepšuje prokrvení poškozených tkání. V nízkých koncentracích působí NO protizánětlivě. Limitací podání

vyšších dávek argininu je těžký nekontrolovaný zánět, v kterém by nadprodukce NO vedla ke škodlivé vazodilataci, zvýšené cévní permeabilitě a oxidačnímu stresu.

### ***Glutamin***

Je neesenciální aminokyselina, která je prekurzorem při tvorbě nukleotidů. Podílí se na jaterní glukoneogenezi a slouží jako substrát pro rychle se dělicí buňky. Nezastupitelnou úlohu sehrává v období akutního zánětu, kdy pomáhá proliferaci buněk v poškozených tkáních a udržuje střevní bariéru. Zároveň však plní roli regulátoru HSP (heat shock protein), který brání „přestřelené“ imunitní reakci s nadměrně vyplavenými cytocyty.

### ***ω-3 mastné kyseliny***

Jsou esenciální nenasycené mastné kyseliny, jejichž hlavním zdrojem je rybí olej. Jejich produkty jsou integrovány do fosfolipidů buněčných membrán, kde sehrávají důležitou úlohu v protizánětlivé a imunitní reakci. Jejich působení je zprostředkováno eikosanoidy, na které jsou v případě uvolnění z poškozené membrány enzymaticky přeměněny. Je prokázán jejich kardioprotektivní, antiagregační a také antitumorozní efekt. V případě deplece ω-3 dominují v membránách ω-6 mastné kyseliny a chybí tak jejich regulační účinek a hrozí „přestřelení“ zánětlivé reakce.

## **1.3.2 Dosavadní vědecké poznatky o klinickém použití imunonutrice**

Významem a využitím imunonutrice v klinické péči o pacienty se zabývá řada vědeckých týmů a pracovišť. Jejich závěry není možno vzhledem k velké heterogenitě pacientů v jednotlivých studiích jednoduše zobecnit. Výsledky se liší dle typu onemocnění a závažnosti stavu jednotlivých pacientů. Níže prezentuji dosavadní poznatky členěné dle základní diagnózy pacientů.

### ***Pacienti podstupující elektivní velký chirurgický výkon***

V této skupině pacientů se často setkáváme s malnutricí, která prokazatelně zvyšuje rizika perioperačních a hlavně pooperačních komplikací (Kuppinger et al. 2012). Možný další benefit imunonutrice ve srovnání s běžnou nutriční podporou byl tématem metaanalýzy 26 randomizovaných studií zahrnující 2496 pacientů (1252 léčených imunonutricí a 1244 kontrol). Ve skupině léčené imunonutricí byl statisticky významný pokles v četnosti pooperačních infekčních komplikací (RR 0,64, CI 95%) a délce hospitalizace (mean

diference: -1,88(-2,91,-,84 dne). Nebyl zaznamenán žádný vliv na celkovou mortalitu (Marimuthu et al. 2012).

### ***Onkologičtí pacienti***

V roce 2017 publikovali japonští autoři metaanalýzu dostupných dat od roku 1980 do roku 2017 týkajících se imunonutrice a pacientů podstupující velký chirurgický výkon pro malignitu jícnu. V případě předoperačního podávání imunonutrice byl zaznamenán statisticky významný pokles v četnosti katetrových sepsí (7 vs 23%;  $p=0,012$ ), pneumonií (6 vs 18%;  $p=0,037$ ) a zkrácení pooperační délky hospitalizace ( $27\pm 1,8$  vs  $39\pm 3,7$  dne;  $p=0,01$ ) (Fukuda et al. 2008). Významem pooperačního podávání imunonutrice se zabývaly celkem tři studie. Nebyl v nich zaznamenán statisticky významný rozdíl v četnosti pneumonií, dehiscencí rány ani v mortalitě (Hallay et al. 2002; Aiko et al. 2008; Matsuda et al. 2017). Jiná studie podávající imunonutrici perioperativně prokázala kratší trvání SIRS v porovnání s běžnou nutricí (Takeuchi et al. 2007). Ve studii s pacienty podstupující gastrectomii pro nádorové onemocnění žaludku, u kterých byl vstupně dobrý nutriční stav, nebyly zaznamenány statisticky významné změny v četnosti infekčních ani pooperačních komplikací v souvislosti s imunonutricí (Fujitani et al. 2012).

Výše uvedené závěry podpořila metaanalýza 61 studií provedená v roce 2021 zahrnující onkologické pacienty podstupující velký chirurgický výkon. Imunonutrice byla spojena se statisticky významným snížením rizika pooperačních komplikací, raných infekcí, respiračních infekcí a dehiscencí anastomóz. Nebyl však prokázán vliv na celkovou mortalitu (Yu et al. 2020).

### ***Kriticky nemocní pacienti se sepsí***

U této skupiny pacientů není podávání imunonutrice bohaté na arginin vhodné, protože arginin vede k nadprodukcí NO. Jeho vazodilatační efekt se pak podílí na prohloubení hypotenze a progresi šoku (Radrizzani et al. 2006).

### ***Syndrom akutní dechové tísně (ARDS)***

ARDS je klinicky závažné, akutní postižení plic v důsledku nepřiměřené zánětlivé reakce. Ta je zodpovědná za poškození epitelu alveolů, zvýšenou propustnost plicních kapilár a následnou kumulaci tekutiny bohaté na bílkoviny v alveolech. Dochází k prodloužení difúzní dráhy pro kyslík s hypoxemií a respiračním selháním. Mortalita dosahuje 30-60%. Metaanalýza 10 randomizovaných studií z roku 2019 zahrnující 1015 pacientů srovnávala

efekt imunonutrice se standartní enterální výživou. Autoři neprokázali statisticky významné změny v mortalitě, délce pobytu na jednotce intenzivní péče ani délce umělé plicní ventilace (Dushianthan et al. 2019).

Z doposud provedených studií a analýz lze imunonutrici považovat za užitečnou a indikovanou pro specifickou skupinu pacientů. Typický pacient, který z dané terapie bude nejvíce profitovat, je ten, který se připravuje na velký chirurgický výkon z onkologické i neonkologické indikace. Naopak nevhodná je imunoterapie u akutních infekčních onemocnění. V klinické praxi se setkáváme s celou řadou stavů a onemocnění, u kterých z jejich patofyziologické podstaty lze pozitivní efekt imunonutrice předpokládat, ale prozatím neexistují dostatečná data k ospravedlnění jejího rutinního podávání. Mezi tato onemocnění provázená recidivujícími záněty a zvýšeným oxidačním stresem řadíme i cystickou fibrózu.



## **2 Cíle práce**

Posouzení vlivu imunonutrice na vybrané metabolické a zánětlivé parametry u nemocných s cystickou fibrozou a malnutricí. Posouzení bezpečnosti aplikace imunonutrice v období po prokázané akutní exacerbaci plicní infekce.

## **3 Vědecká hypotéza**

Při podání imunonutrice u nemocných s cystickou fibrozou a malnutricí dochází k metabolickým změnám vedoucím k stimulaci imunitního systému, která vede k poklesu aktivity zánětu, což může pozitivně ovlivnit prognózu.

## 4 Metodika

### 4.1 Soubor pacientů

Studie byla provedena v letech 2014-2015 na Interní klinice 2.LF UK a FN Motol. Všichni pacienti jsou dlouhodobě sledováni s cystickou fibrózou na Pneumologické klinice 2.LF UK a FN Motol. Vstupním kritériem byl věk nad 18let a dlouhodobá enterální nutriční podpora v délce trvání alespoň jeden rok. Pacienti v dobrém nutričním stavu bez potřeby nutriční podpory nebo pacienti s parenterální výživou byli vyřazeni. Před zařazením do studie byla klinickým vyšetřením a laboratorními testy vyloučena přítomnost akutní nebo exacerbace chronické infekce.

Po vstupním klinickém vyšetření bylo provedeno vyšetření nutričního stavu, biochemických a hematologických parametrů, zánětlivé aktivity, oxidačního stresu a antioxidační kapacity, které jsou dále podrobně uvedeny. Po vstupním klinickém a laboratorním vyšetření byla změněna výživa z Nutridrinku na imunonutrici (Impact Nestle, Vevey, Switzerland) v odpovídající energetické dávce. Srovnání složení Nutridrinku a Impactu je uvedeno v tab. 1. Po 8 týdnech byly uvedené parametry vyšetřeny znovu a pacientova výživa se vrátila k standardnímu Nutridrinku na dalších 8 týdnů. Na závěr byla provedena stejná sada vyšetření.

**Tab.1 Srovnání složení Nutridrinku a preparátu Impact—energetický obsah 100 kcal**

	Nutridrink	Impact
Bílkoviny	4 g (16%)	5.6 g (22%)
Sacharidy	12.2 g (49%)	13.3g (53%)
Tuky	3.9 g (35%)	2.8 g (25%)
Vláknina	0.4 g	1.0 g
L-Arginin		1.27 g
Polynenasycené mastné kyseliny		0.65 g
ω3 mastné kyseliny		0.32 g

V průběhu sledování byly hodnoceny změny vybraných parametrů nutriční intervence, zánětu, oxidačního stresu v souvislosti se změnou nutriční intervence. Současně byly sledovány klinické změny, případně změny biochemických a hematologických ukazatelů. Rovněž byly posouzeny klinicky významné korelace.

Po ukončení průřezové studie byli nemocní dlouhodobě sledováni na Pneumologické klinice FN v Motole. V průběhu sledování trvajících celkem 6 let byla hodnocena četnost a délka hospitalizací, četnost úmrtí a provedení transplantace plic. Význam vyšetření provedených na začátku studie vzhledem k sledovaným parametrům byl statisticky posouzen.

Hodnocen byl význam spirometrických parametrů – zejména FEV1, hsCRP, SAA, IL1,IL6 jako parametrů zánětu, imunoglobulinů IgM,IgA,IgG, sérového MDA jako parametru oxidačního stresu, BMI, prealbumin, albumin jako parametrů nutriční a plazmatického fibrinogenu.

## 4.2 Laboratorní analýza

### 4.2.1 Nutriční parametry

#### **Albumin**

*Materiál k analýze:* sérum

*Princip stanovení:* kolorimetrická metoda s bromkrezolovou zelení (BCG), end – point, (Advia 1800 Chemistry System, Siemens )

*Referenční rozmezí:* 35-53 g/L

#### **Celková bílkovina**

*Materiál k analýze:* sérum

*Princip stanovení:* biuretová metoda, end – point, (Advia 1800 Chemistry System, Siemens )

*Referenční rozmezí:* 65-85 g/L

#### **Prealbumin**

*Materiál k analýze:* sérum

*Princip stanovení:* imunoturbidimetrická metoda, (Advia 1800 Chemistry System, Siemens)

*Referenční rozmezí:* 0,18-0,4 g/L

#### **Transferin**

*Materiál k analýze:* sérum

*Princip stanovení:* imunoturbidimetrická metoda, (Advia 1800 Chemistry

System, Siemens)

*Referenční rozmezí: 1,9-3,5 g/L*

### **Triacylglyceroly (TG)**

*Materiál k analýze: sérum*

*Princip stanovení: enzymová metoda (GPO - PAP), end – point, (Advia 1800 Chemistry System, Siemens )*

*Referenční rozmezí: 0,7-1,7 mmol/L*

### **Celkový cholesterol**

*Materiál k analýze: sérum*

*Princip stanovení: enzymová metoda (CHOD - PAP), end – point, (Advia 1800 Chemistry System, Siemens )*

*Referenční rozmezí: 3,4-5 mmol/L*

### **HDL cholesterol**

*Materiál k analýze: sérum*

*Princip stanovení: přímé enzymové stanovení, dvoubodová kinetika, (Advia 1800 Chemistry System, Siemens )*

*Referenční rozmezí: 0,9-1,42 mmol/L*

### **LDL cholesterol**

*Materiál k analýze: sérum*

*Princip stanovení: přímé enzymové stanovení, end – point, (Advia 1800 Chemistry System, Siemens )*

*Referenční rozmezí: 1,5-3 mmol/L*

### **AMINOKYSELINY:**

Vlastní modifikace metody - Ústav klinické biochemie a diagnostiky - FNHK

Aminokyseliny jsou z matrice izolovány pomocí ultrafiltrace (ultrafiltrační kolonky: Microcon YM-10, Merk, Německo), separují se pomocí HPLC s fluorimetrickou detekcí (Shimadzu LC-10A vp, Japonsko).

Kalibrátor Recipe (Radanal, ČR)

Kontroly Recipe (Radana, ČR)

Vnitřní standard: D-Norvalin (Sigma-Aldrich, ČR)

Derivatizační činidlo (OPA-MPA, (Sigma-Aldrich, ČR)): o-ftaldialdehyd (OPA) s 3-mercaptopropionovou kyselinou (MPA)

Separační kolona Merck LichroCART 250x4 Lichrospher RP-18e, 5 µm

#### 4.2.2 Zánětlivé biomarkery

##### **C-reaktivní protein(CRP)**

*Materiál k analýze:* sérum

*Princip stanovení:* imunoturbidimetrie, (Advia 1800 Chemistry System, Siemens )

*Referenční rozmezí:* 0-5 mg/L

##### **Sérový amyloid A (SAA)**

*Materiál k analýze:* sérum

*Princip stanovení:* imunoturbidimetrie, (Advia 1800 Chemistry System, Siemens )

*Referenční rozmezí:* <10mg/L

##### **IL-1,6**

*Materiál k analýze:* sérum

*Princip stanovení:* ELISA (Affymetrix, eBioscience, San Diego, CA)

*Referenční rozmezí:* IL-1 0-5pg/mL, IL-6 >5-15pg/mL

##### **IgM,IgG,IgA**

*Materiál k analýze:* sérum

*Princip stanovení:* kapilární elektroforéza

*Referenční rozmezí:* IgM 0,4-1,82 g/L, IgG 6,7-15 g/L, IgA 0,9-3,7 g/L

#### 4.2.3 Parametry oxidačního stresu

##### **Malonyldialdehyd (MDA)**

Vlastní modifikace metody - Ústav klinické biochemie a diagnostiky - FNHK

Malonyldialdehyd (MDA) je jedním ze sekundárních produktů peroxidace lipidů. Za zvýšené teploty se tvoří v kyselém prostředí červený komplex s kyselinou thiobarbiturovou (TBA). Pro zvýšení specifičnosti reakce se měří absorbance vzniklého barevného

komplexu MDA-TBA při třech vlnových délkách. Vypočítává se korekce absorbance dle Allenova vzorce.

$$A_{\text{KOR}} = A_{532} - [(A_{560} - A_{485}) \times 0,63 + A_{485}]$$

Ke stanovení se používá srážlivá krev, heparinizovaná plazma nebo plazma s EDTA.

Spektrofotometrické měření se provádí na Spektrofotometru firmy Agilent Cary 60 (Agilent, USA) ve skleněných kyvetách. Měří se absorbance při vlnových délkách 485 nm, 532 nm, 560 nm proti slepému činidlu TBA.

*Referenční rozmezí: 0,26-1,07 umol/L*

### **Superoxiddismutáza (SOD)**

Souprava RANSOD (Randíc, Velká Británie) : SD 125 (obsahuje kalibrátor)

RANSOD CONTROL : SD 126

Tato metoda využívá působení xanthinoxidázy na xanthin jako zdroje superoxidových radikálů, které následně reagují s 2,(4-jodofenyl) 3(4-nitrofenol)-5-fenyltetrazoliumchloridem (INT) za vzniku červeného formazanu. Aktivita SOD je pak měřena jako inhibice této reakce. Fotometricky se sleduje kinetika reakce při 505 nm, teplotě 37°C, po dobu 3 minut.

Ke stanovení se používá heparinizovaná nebo EDTA plná krev.

Spektrofotometr firmy Agilent Cary 60, skleněná kyveta, vlnová délka 505 nm

*Referenční rozmezí: 1102-1601 U/gHb*

### **Gluathion peroxidáza (GPx)**

Souprava RANSEL (Randíc, Velká Británie) : (RS 505)

RANSEL CONTROL : SC 692

Gluathion peroxidáza (GPx) katalyzuje oxidaci glutathionu (GSH) peroxidem (kumen hydroperoxid) za vzniku oxidovaného glutathionu a alkoholu. V přítomnosti glutathionreduktázy (GR) a NADPH je oxidovaný glutathion (GSSG) okamžitě konvertován na redukovanou formu, přičemž se zároveň oxiduje NADPH na NADP<sup>+</sup>.

Ke stanovení se používá heparinizovaná plná krev.

Průběh reakce je sledován jako pokles absorbance při 340 nm., měření na analyzátoru COBAS MIRA Plus (Roche, Švýcarsko)

*Referenční rozmezí: 27,5-73,6 U/gHb*

## **Vit E**

*Materiál k analýze:* sérum

*Princip stanovení:* vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC), (Agilent 1200, USA)

*Referenční rozmezí:* 11,6-46,4 umol/L

## **Selen**

*Materiál k analýze:* sérum

*Princip stanovení:* atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací (ETA-AAS), (Agilent SpectrAA 240Z, USA)

*Referenční rozmezí:* 74-170 umol/L

## **Zinek**

*Materiál k analýze:* sérum

*Princip stanovení:* plamenová atomová absorpční spektrometrie (F-AAS), (Agilent SpectrAA 240 FS série AA, USA)

*Referenční rozmezí:* 9-16 umol/L

### **4.3 Ostatní laboratorní parametry**

#### **Alkalická fosfatáza (ALP)**

*Materiál k analýze:* sérum

*Princip stanovení:* kineticky, kolorimetrická IFCC metoda při 37°C (AMP), (Advia 1800 Chemistry System, Siemens )

*Referenční rozmezí:* 0,66-2,2 ukat/L

#### **Aspartátaminotransferáza (AST)**

*Materiál k analýze:* sérum

*Princip stanovení:* kineticky, modifikovaná IFCC metoda při 37°C, (Advia 1800 Chemistry System, Siemens )

*Referenční rozmezí:* 0,16-0,72 ukat/L

#### **Alaninaminotransferáza (ALT)**

*Materiál k analýze:* sérum

*Princip stanovení:* kineticky, modifikovaná IFCC metoda při 37°C, (Advia 1800 Chemistry System, Siemens )

*Referenční rozmezí:* 0,17-0,78 ukat/L

### **Gama-glutamyltransferáza (GMT)**

*Materiál k analýze:* sérum

*Princip stanovení:* kineticky, IFCC metoda při 37°C, (Advia 1800 Chemistry System, Siemens )

*Referenční rozmezí:* 0,14-0,84 ukat/L

### **Cholinesteráza**

*Materiál k analýze:* sérum

*Princip stanovení:* kolorimetrická metoda s butyrylthiocholinem, end – point, (Advia 1800 Chemistry System, Siemens )

*Referenční rozmezí:* 88,7-215 ukat/L

### **Bilirubin celkový**

*Materiál k analýze:* sérum

*Princip stanovení:* vanadátová oxidace, end – point, (Advia 1800 Chemistry System, Siemens )

*Referenční rozmezí:* 2-17 umol/L

### **Bilirubin přímý**

*Materiál k analýze:* sérum

*Princip stanovení:* vanadátová oxidace, end – point, (Advia 1800 Chemistry System, Siemens )

*Referenční rozmezí:* 0-5,1 umol/L

### **Pankreatická amyláza**

*Materiál k analýze:* sérum

*Princip stanovení:* kineticky, IFCC metoda při 37°C, (Advia 1800 Chemistry System, Siemens )

*Referenční rozmezí:* 0,22-0,88 ukat/L



### **Lipáza**

*Materiál k analýze:* sérum

*Princip stanovení:* kolorimetrická metoda, end – point, (Advia 1800 Chemistry System, Siemens )

*Referenční rozmezí:* 0,12-1 ukat/L

### **Cystatin C**

*Materiál k analýze:* sérum

*Princip stanovení:* imunoturbidimetrická metoda,(Advia 1800 Chemistry System, Siemens)

*Referenční rozmezí:* 0,55-1,15 mg/L

### **Kreatinin**

*Materiál k analýze:* sérum

*Princip stanovení:* enzymová kolorimetrická metoda, end – point, (Advia 1800 Chemistry System, Siemens )

*Referenční rozmezí:* 55-96 umol/L

### **Urea**

*Materiál k analýze:* sérum

*Princip stanovení:* enzymová kinetická metoda s ureázou a GDH, (Advia 1800 Chemistry System, Siemens )

*Referenční rozmezí:* 2,8-8 mmol/L

### **Krevní obraz**

*Materiál k analýze:* Sysmex xn10, Japonsko

*Princip stanovení:* plně automatický analyzátor

## **4.4 Přístrojová vyšetření**

### **Handgrip**

- vyšetření svalové síly bylo provedeno pomocí ručního handgripu Takei TKK 5401 Takei. Scientific Instruments, Tokyo, Japan

### **Spirometrie**

– MasterScope, výrobce Viasys-Jaeger, Germany

### **Body composition monitor ( BCM )**

-BCM, Fresenius Medical Care, Germany

### **Tonometr**

Omron M3, Japonsko

## **4.5 Statistická analýza**

Statistické vyhodnocení. Číselné hodnoty jsou vyjádřeny jako průměr  $\pm$  SD. Normalita distribuce dat byla hodnocena vizuální kontrolou histogramu a normálního grafu pravděpodobnosti. Parametrická spojitá data byla porovnávána pomocí Studentových testů a neparametrická pomocí Mann-Whitneyových testů. K prozkoumání vztahu mezi parametrickými a neparametrickými numerickými proměnnými byla použita Pearsonova nebo Spearmanova bivariační korelační analýza. Význam hodnocených parametrů na četnost a délku následných hospitalizací a na dlouhodobou prognózu byl hodnocen pomocí logistické regrese. Všechny statistické analýzy byly provedeny pomocí Statistica 12.0 (StatSoft, Tulsa, OK)

## 5 Výsledky

### 5.1 Základní charakteristika souboru

Celkem bylo do studie zařazeno 30 pacientů s cystickou fibrózou, 22 mužů a 8 žen. Průměrný věk( $\pm$ SD) byl 24,7 $\pm$ 3.6 let. Všichni pacienti užívali v době zařazení do studie nutriční podporu ve formě standartního sippingu (Nutridrink). K nejčastějším komorbiditám patřily exokrinní pankreatická insuficience, kostní onemocnění a diabetes mellitus. Jejich podrobný výčet uvádí tabulka 2.

**Tab.2 Komorbidity v době zařazení do studie**

	Počet pacientů	zastoupení v souboru
Diabetes mellitus	13	43,3%
Exokrinní pankreatická insuficience	27	90,0%
Osteoporóza/osteopenie	14	46,6%
Nutriční intervence (sipping)	30	100%

**Tab.3 Terapie v době zařazení do studie**

	Počet pacientů	zastoupení v souboru
Inzulinoterapie	12	40,0%
Bisfosfonáty	3	10,0%
Inhalační kortikoidy	2	6,6%
Pankreatické enzymy	27	90,0%
Vitamin A	25	83,3%
Vitamin E	23	76,6%
Vitamin D	26	86,6%
Selen	4	13,3%
Zinek	3	10,0%
Domácí oxygenoterapie	2	6,6%

Z celého souboru bylo pouze 8 pacientů (26,6%) bez prokázané bronchopulmonální infekce. Z 23 pacientů (76,6%) s prokázanou infekcí byla u 4 (13,3%) zaznamenána infekce více než jedním bakteriálním kmenem.

**Tab.4 Infekce respiračního traktu v době zařazení do studie**

	Počet pacientů	zastoupení v souboru
Burkholderia cepacia komplex	9	30,0%
Pseudomonas aeruginosa	17	56,6%

## 5.2 Vliv aplikace imunonutrice na nutriční parametry ve sledovaném souboru

Hmotnost pacientů zůstala v celém průběhu studie bez významných změn. Některou z antropometrických známek malnutrice jsme vstupně zaznamenali u 29 (96,6%) pacientů souboru. BMI (body mass index) nižší než 18,5 byl u 15 pacientů, tloušťka kožní řasy menší než 12,5 mm u mužů a 16,5 mm u žen byla u 29 pacientů (96,6% z celého souboru). Srovnání antropometrických parametrů v průběhu studie ukazuje tabulka 5.

**Tab.5 Změny antropometrických parametrů po imunonutrici a návratu k standardní výživě**

	Vstupní hodnota	Imunonutrice	Návrat k standardní výživě
Hmotnost (kg)	57,29±6,19	57,66±6,56	57,76±5,79
BMI(mmHg)	18,73±1,64	18,90±1,64	19,03±1,65
Obvod paže (cm)	23,14±1,69	23,27±1,73	23,58±1,63
Kaliper triceps (mm)	5,10±2,90	5,62±3,20	5,50±3,20
Hangrip-pravá(kPa)	100,5±18,87	101,43±21,99	106,67±21,25
Handgrip-levá (kPa)	95,83±19,33	95,89±20,11	96,88±20,31

\* P<0.05 srovnání mezi hodnotami vstupními a po imunonutrici u pacientů s CF

\*\* P<0.05 srovnání mezi hodnotami po imunonutrici a po návratu k standardní výživě u pacientů s CF  
BMI, body mass index

Pro srovnání specifické skupiny pacientů s CF a jejich výživových parametrů bylo vybráno 55 zdravých kontrolních subjektů. Ti byli zařazení do studie způsobem, který je srovnatelný se sledovanými pacienty co se týče věku a pohlaví. Konkrétně 35 mužů a 20 žen, průměrný věk byl 25,4 ± 3,5 roku. Žádný kontrolní subjekt nedostal žádnou medikaci ani nutriční intervenci. V tabulce 6 jsou uvedeny hodnoty vybraných nutričních parametrů

a koncentrace lipidového profilu u kontrolních subjektů ve srovnání s parametry pacientů s CF.

**Tab.6 Srovnání vybraných nutričních parametrů a lipidogramu u pacientů s cystickou fibrózou užívajících standardní výživu nebo imunonutrici s kontrolní skupinou**

	Kontrolní skupina n=55	Cystická fibróza a Nutridrink n=30	Cystická fibróza a Impact n=30
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23.5±2.1	18.8±1.7	18.9±1.6
Albumin (g/L)	43.5±2.9	45.7±2.8	45.0±2.9
Prealbumin (g/L)	0.29±0.12	0.23±0.04	0.22±0.05
Transferrin (g/L)	3.2±0.6	2.8±0.5	2.7±0.4
Celk.cholesterol (mmol/L)	4.2±0.7	3.4±0.6	3.3±0.9
HDL cholesterol (mmol/L)	1.3±0.2	1.1±0.2	1.1±0.2
LDL cholesterol (mmol/L)	2.3±0.4	1.8±0.2	1.9±0.5
Triacylglyceroly (mmol/L)	1.4±0.3	1.1±0.4*	0.9±0.3**
Abs.počet lymfocytů(10 <sup>9</sup> /L)	2,00±0,45	2,10±0,51	2,02±0,54

\* P<0.05 srovnání mezi kontrolní skupinou a pacienty s CF užívající Nutridrink

\*\* P<0.05 srovnání mezi pacienty s CF užívající Nutridrink a Impact

*BMI, body mass index*

V tabulce 7 jsou uvedeny plazmatické koncentrace aminokyselin u kontrolní skupiny pacientů ve srovnání se změnami profilu aminokyselin v plazmě pacientů s CF. Pacienti s CF měli významně nižší plazmatickou koncentraci kyseliny glutamové, kyseliny asparagové, serinu, histidinu, tyrosinu, methioninu, fenylalaninu, leucinu, isoleucinu, ornithinu a lysinu. Na druhé straně koncentrace glutaminu, glycinu, citrulinu, argininu a tryptofanu byla významně vyšší u pacientů s CF. Imunonutrice vede ve skupině pacientů s CF k statisticky významnému zvýšení kyseliny glutamové, koncentrace methioninu, argininu a ornithinu v plazmě. Naopak plazmatické koncentrace glutaminu, glycinu, valinu, threoninu a tryptofanu výrazně poklesly.

**Tab.7 Srovnání vlivu Nutridrinku a Impactu na plazmatické hladiny aminokyselin u pacientů s CF se zdravými osobami**

Aminokyseliny (umol/l)	Kontrolní skupina n=55	Cystická fibróza a Nutridrink n=30	Cystická fibróza a Impact n=30
Kys. Glutamová	205.9±56.9	45.2±20.1*	161.4±55.0**
Kys.Asparagová	42.2±7.9	34.8±10.2*	36.9±6.8
Serin	172.5±53.2	112.7±27.1*	127.7±27.9
Glutamin	334.7±53.7	508.2±87.9*	365.1±53.5**
Histidin	89.9±4.3	80.2±24.3*	84.5±11.6
Glycin	349.9±89.8	423.9±102.6*	286.6±72.8**
Threonin	136.4±51.1	131.9±35.3	95.1±28.8**
Citrulin	25.8±8.6	30.3±10.9*	27.5±9.9
Arginin	56.1±7.0	82.5±20.5*	100.7±16.5**
Alanin	296.2±95.5	344.1±138.8	311.1±104.8
Tyrosin	83.6±32.6	57.8±11.4*	52.3±17.2
Valin	229.3±47.8	230.1±44.9	190.1±39.8**
Methionin	54.6±18.8	23.0±5.4*	42.4±12.5**
Tryptophan	11.5±5.1	16.8±7.5*	2.8±1.0**
Phenylalanin	64.6±8.0	44.2±10.3*	43.2±10.0
Isoleucin	77.0±18.4	63.7±13.5*	75.2±31.3
Leucin	148.8±46.3	98.8±23.0*	104.8±30.0
Ornithin	75.9±14.4	61.7±14.1*	81.3±40.1**
Lysin	194.8±22.9	150.5±36.8*	163.6±66.3

\*P<0.05 srovnání kontrolní skupiny s pacienty s CF užívajícími Nutridrink

\*\* P<0.05 srovnání mezi pacienty s CF užívajícími Nutridrink a Impact

Vzhledem k zaznamenaným změnám v aminoacidogramu a hodnotách triglyceridů bylo posouzeno, zda nedochází i ke změnám v tělesné kompozici. Měření tělesného složení pomocí bioimpedanční spektroskopie nezaznamenalo statisticky významné změny v množství tělesné vody, tuku ani beztukové tělesné hmoty (viz tabulka 8).

**Tab.8 Změny tělesného složení - body composition monitor (BCM) po imunonutrici a návratu k standardní výživě**

	Vstupní hodnota	Imunonutrice	Návrat k standardní výživě
TBW (L)	32,03±4,09	32,06±4,02	32,23±3,60
ECW (L)	13,57±1,53	13,47±1,50	13,61±1,23
ICW (L)	18,30±2,76	18,58±2,87	18,62±2,55
E/I	0,74±0,05	0,73±0,07	0,73±0,06
LTI (kg/m <sup>2</sup> )	13,08±1,99	13,41±2,35	13,34±1,99
FTI kg/m <sup>2</sup> )	5,64±1,96	5,99±2,09	5,87±2,05
LTM (kg)	40,03±7,13	39,96±7,14	40,70±6,64
FAT (kg)	12,61±4,20	13,33±4,48	13,10±4,48
ATM (kg)	17,15±5,72	18,14±6,09	17,81±6,11
BCM (kg)	21,60±4,81	21,61±4,80	22,11±4,51

\* P<0.05 srovnání mezi hodnotami vstupními a po imunonutrici u pacientů s CF

\*\* P<0.05 srovnání mezi hodnotami po imunonutrici a po návratu k standardní výživě u pacientů s CF

*TBW, celková tělesná voda; ECW, mimobuněčná voda; ICW, voda uvnitř buněk; LTI, poměr mezi beztukou masou a výškou v metrech na druhou; FTI, poměr mezi tukovou masou a výškou v metrech na druhou; LTM, beztuká tělesná hmota ; FAT, obsah tuků v těle; ATM, bezvodá tuková tkáň; BCM, buněčná hmota bez tuků a vody*

### 5.3 Cystická fibroza a zánětlivé biomarkery

V rámci naší práce jsme posuzovali vliv imunonutrice na řadu parametrů souvisejících se zánětlivou odpovědí organismu. Všechny tyto parametry jsou uvedeny v tabulce 10. Byl prokázán statisticky významný pokles SAA (25,59±11,04 vs 17,59±5,94) po 8 týdnech podávání imunonutrice. Po návratu zpět k Nutridrinku se SAA opět zvýšil (17,59±5,94 vs 21,20±8,44).

**Tab.10 Změny zánětlivých parametrů při imunonutrici a návratu k standardní výživě**

	Vstupní hodnota	Imunonutrice	Návrat k standardní výživě
SAA (mg/L)	25,59 ± 11,04	17,59 ± 5,94*	21,20 ± 8,44**
CRP (mg/L)	13,85 ± 14,14	18,31 ± 16,93	26,99 ± 28,38
IL_6 (mM)	8,33 ± 8,25	7,47 ± 6,31	6,25 ± 5,95
IL_1 (mM)	10,14 ± 4,54	11,24 ± 5,95	9,04 ± 4,22
IgM (g/L)	1,71 ± 0,57	1,68 ± 0,51	1,85 ± 0,63
IgA (g/L)	3,63 ± 1,57	3,50 ± 1,49	3,70 ± 1,51
IgG (g/L)	16,11 ± 3,18	15,98 ± 3,38	16,62 ± 3,13

\* P<0.05 srovnání mezi hodnotami vstupními a po imunonutrici u pacientů s CF

\*\* P<0.05 srovnání mezi hodnotami po imunonutrici a po návratu k standardní výživě u pacientů s CF

*SAA, serový amyloid A; CRP, C reaktivní protein; IL\_6, interleukin 6; IL\_1, interleukin 1; IgM, imunoglobulin M; IgA, imunoglobulin A; IgG, imunoglobulin G*

#### 5.4 Cystická fibróza a oxidační stres

V rámci naší práce jsme posuzovali vliv imunonutrice na vybrané parametry oxidačního stresu. Tyto parametry jsou uvedeny v tabulce 11. Po 8 týdnech podávání imunonutrice byla prokázána statisticky významná změna ve smyslu elevace MDA (0,66±0,18 vs 0,96±0,23) . Naopak po návratu pacientů zpět k Nutridrinku došlo k jeho poklesu (0,96±0,23 vs 0,77±0,23). Korelace MDA se zánětlivými parametry jsou shrnuty v tabulce 12. Korelace mezi MDA a SAA je znázorněna na obrázku 1 a mezi MDA a IL-6 na obrázku 2.

Zároveň při podávání imunonutrice došlo k významnému poklesu GpX a jejího kofaktoru selenu, zatímco hodnota SOD ani kofaktoru zinku se významně nezměnila. Změna GpX a selenu je zřejmě reakce na zvýšený oxidační stres.



**Tab.11 Změny parametrů oxidačního stresu při imunonutrici a návratu k standardní výživě**

	Vstupní hodnota	Imunonutrice	Návrat k standardní výživě
MDA (umol/L)	0,66 ± 0,18	0,96 ± 0,23*	0,77 ± 0,23**
SOD (U/gHb)	1496,9±319,6	1694,8±321,4	1866,5±363,8
GpX (U/gHb)	26,76±5,75	22,53±4,33*	19,86±4,05
Selen (umol/L)	86,00±14,62	77,22±13,77*	80,86±17,94
Zinek (umol/L)	12,76±0,89	12,36±1,30	12,65±1,13
Vit E (umol/L)	19,80±6,81	20,55±6,96	20,58±6,43

\* P<0.05 srovnání mezi hodnotami vstupními a po imunonutrici u pacientů s CF

\*\* P<0.05 srovnání mezi hodnotami po imunonutrici a po návratu k standardní výživě u pacientů s CF

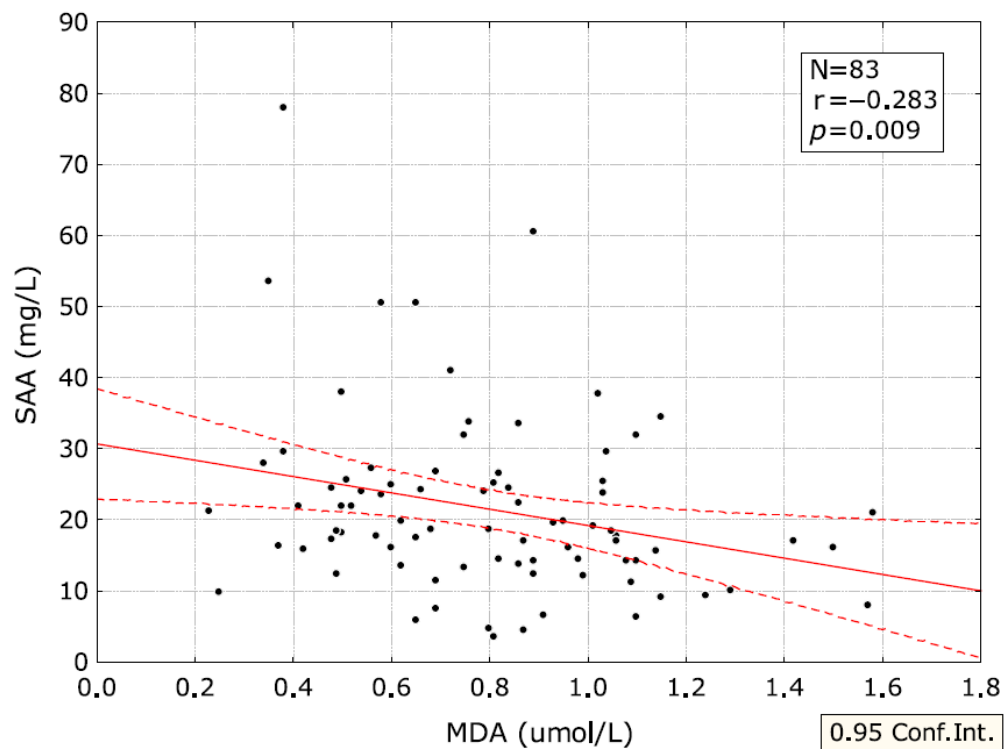
MDA, malonyldialdehyd; SOD, superoxid dismutáza; GpX, glutation peroxidáza

Vzhledem k významným změnám parametrů zánětu a biomarkerů oxidačního stresu jsme hodnotili vzájemné korelace.

**Tab.12 Korelace MDA se zánětlivými parametry**

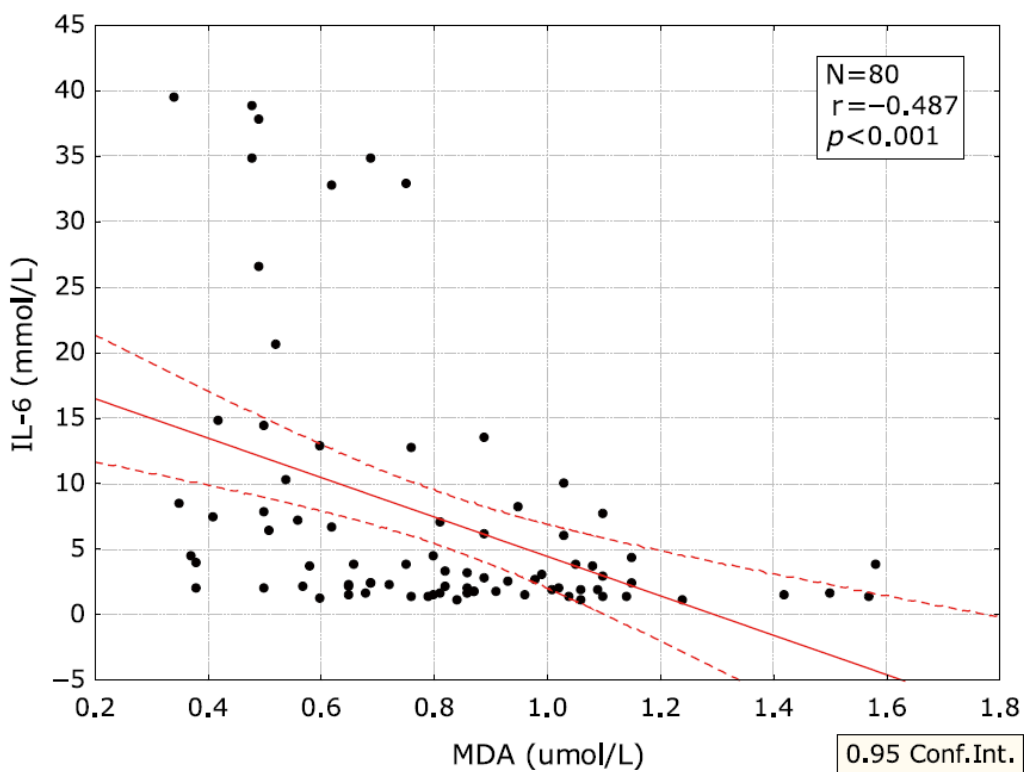
	IgG	IgM	IgA	IL_1	IL_6
MDA – cc	–0.574	–0.187	–0.319	–0.041	–0.487
p	<0.001	0.096	0.003	0.717	<0.001
	SAA	CRP			
MDA – cc	–0.283	–0.436			
p	0.009	<0.001			

MDA, malonyldialdehyd; SAA, serový amyloid A; CRP, C reaktivní protein; IL\_6, interleukin 6; IL\_1, interleukin 1; IgM, imunoglobulin M; IgA, imunoglobulin A; IgG, imunoglobulin G; cc, korelační koeficient



**Obr.1 Korelace mezi MDA a SAA.**

*MDA, malonyldialdehyd; SAA, sérový amyloid A.*



**Obr.2 Korelace mezi MDA a IL\_6**

*IL\_6, interleukin 6; MDA, malonyldialdehyd*

## 5.5 Sledování bezpečnosti podání imunonutrice

K posouzení bezpečnosti podávání imunonutrice jsme v rámci studie posuzovali změny v hodnotách základních fyziologických funkcí, jaterních a pankreatických markerů, renálních funkcí a krevního obrazu.

Statisticky významné změny po 8 týdnech aplikace imunonutrice (Impact) jsme zaznamenali u systolického tlaku krve ( $115 \pm 11$  mmHg vs  $110 \pm 7$  mmHg) a také u srdeční frekvence ( $88 \pm 15$  /min vs  $77 \pm 17$  /min). Po návratu k běžné výživě (Nutridrink) došlo k vymizení uvedeného efektu a návratu hodnot na vstupní úroveň. Uvedené změny shrnuje tabulka 13.

**Tab.13 Změny fyziologických funkcí po imunonutrici a návratu k standardní výživě**

	Vstupní hodnota	Imunonutrice	Návrat k standardní výživě
Systolický TK (mmHg)	$115 \pm 11$	$110 \pm 7^*$	$117 \pm 11^{**}$
Diastolický TK (mmHg)	$69 \pm 9$	$64 \pm 8$	$69 \pm 9$
Akce srdeční (tep/min)	$88 \pm 15$	$77 \pm 17^*$	$80 \pm 14^{**}$

\*  $P < 0.05$  srovnání mezi hodnotami vstupními a po imunonutrici u pacientů s CF

\*\*  $P < 0.05$  srovnání mezi hodnotami po imunonutrici a po návratu k standardní výživě u pacientů s CF

TK, tlak krve

Játra a slinivka břišní patří k často postiženým orgánům u pacientů s CF, proto jsme posuzovali změny v jaterních a pankreatických funkcích v závislosti na typu podávané výživy. V žádném z parametrů jsme nezaznamenali statisticky významné změny, které by se nacházely mimo fyziologické rozmezí pro daný parametr.

**Tab.14 Změny jaterních a pankreatických parametrů při imunonutrici a návratu k standardní výživě**

	Vstupní hodnota	Imunonutrice	Návrat k standardní výživě
ALP (ukat/L)	$2.03 \pm 0.35$	$1.85 \pm 0.35$	$1.97 \pm 0.34$
AST (ukat/L)	$0.39 \pm 0.11$	$0.46 \pm 0.11$	$0.42 \pm 0.10$
ALT (ukat/L)	$0.55 \pm 0.16$	$0.53 \pm 0.12$	$0.46 \pm 0.13$

GMT(ukat/L)	0,43±0,17	0,35±0,13	0,38±0,13
Cholinesteráza(ukat/L)	140,53±23,3	133,99±22,36	136,64±22,35
Bilirubin celk.(umol/L)	9,27±3,89	8,31±2,99	8,30±3,69
Bilirubin přímý(umol/L)	3,95±1,73	3,98±1,12	3,63±1,49
Pankr. amyláza(ukat/L)	0,19±0,19	0,16±0,15	0,16±0,15
Lipáza (ukat/L)	0,24±0,21	0,20±0,11	0,23±0,16

\* P<0.05 srovnání mezi hodnotami vstupními a po imunonutrici u pacientů s CF

\*\* P<0.05 srovnání mezi hodnotami po imunonutrici a po návratu k standardní výživě u pacientů s CF

*ALP, alkalická fosfatáza ; AST, aspartátaminotransferáza ; ALT, alaninaminotransferáza ; GMT, gama-glutamyltransferáza*

Při vyhodnocení renálních parametrů bylo zaznamenáno zvýšení vypočítané cystatinové clearance.

**Tab.15 Změny renálních parametrů při imunonutrici a návratu k standardní výživě**

	Vstupní hodnota	Imunonutrice	Návrat k standardní výživě
Cystatin C (mg/L)	0,96±0,12	0,86±0,12*	0,98±0,11**
eGFR-cystatin (ml/s)	1.57±0.32	1.90±0.45*	1.50±0.29**
Kreatinin (umol/L)	64,03±11,04	64,88±11,51	64,88±12,08
Urea (mmol/L)	3.95±1.03	4.31±1.09	4.31±1.03

\* P<0.05 srovnání mezi hodnotami vstupními a po imunonutrici u pacientů s CF

\*\* P<0.05 srovnání mezi hodnotami po imunonutrici a po návratu k standardní výživě u pacientů s CF

**Tab.16 Krevní obraz při imunonutrici a návratu k standardní výživě**

	Vstupní hodnota	Imunonutrice	Návrat k standardní výživě
WBC (10 <sup>9</sup> /L)	10,18±2,69	10,26±2,87	10,77±3,09
RBC (10 <sup>12</sup> /L)	5,30±0,33	5,16±0,33	5,19±0,32
HGB (g/L)	149,8±11,8	14,72±1,23	14,61±1,29
HCT	0,43±0,04	0,43±0,03	0,43±0,03
MCV (fL)	83,84±3,81	83,77±4,21	83,30±4,16
MCH (pg)	28,30±1,91	28,35±1,93	28,18±1,93

RDW (%)	13,98±1,11	14,01±1,25	13,98±1,12
PLT (10 <sup>9</sup> /L)	316,8±81,3	309,86±69,52	315,37±78,91
MPV (fL)	10,28±0,85	9,95±0,79	10,18±0,95
PCT (%)	0,32±0,08	0,31±0,06	0,32±0,07
PDW (fL)	12,19±1,63	11,60±1,61	12,22±1,91

\* P<0.05 srovnání mezi hodnotami vstupními a po imunonutrici u pacientů s CF

\*\* P<0.05 srovnání mezi hodnotami po imunonutrici a po návratu k standardní výživě u pacientů s CF

*WBC, leukocyty; RBC, erytrocyty; HGB, hemoglobin; HCT, hematokrit; MCV, střední objem erytrocytu; MCH, průměrné množství hemoglobinu v buňce; RDW, distribuční šíře erytrocytů; PLT, trombocyty; MPV, střední oběm destičky; PCT, destičkový hematokrit; PDW, distribuce trombocytů*

**Tab.17 Změny spirometrických parametrů při imunonutrici a návratu k standardní výživě**

	Vstupní hodnota	Imunonutrice	Návrat k standardní výživě
VC (% norm.hodnot)	69,33±16,49	69,89±18,10	65,00±14,91
FEV1(% norm.hodnot)	56,18±18,22	55,25±18,28	53,14±17,25
FEV1/VC(%)	64,92±8,97	63,89±8,15	65,23±9,16
MEF50(% norm.hodnot)	35,66±19,38	35,95±18,45	34,41±18,61

\* P<0.05 srovnání mezi hodnotami vstupními a po imunonutrici u pacientů s CF

\*\* P<0.05 srovnání mezi hodnotami po imunonutrici a po návratu k standardní výživě u pacientů s CF

*VC, vitální kapacita; FEV1, usilovně vydechnutý objem za první sekundu; MEF50, maximální výdechový průtok na v polovině usilovné vitální kapacity*

## 5.6 Dlouhodobé sledování

Změny v zánětlivých parametrech u pacientů s CF nás vedly ke snaze zjistit, jaký vliv tyto změny měly na dlouhodobou prognózu.

Plazmatický fibrinogen byl negativně (obrázek 3) a sérový MDA pozitivně (obrázek 4) korelován s FEV1 měřeným v pozánětlivém období. Nebyla však nalezena žádná korelace mezi FEV1 a hs-CRP, IL-1, IL-6 a SAA. Sledování trvalo 6 let. Endpoint (transplantace nebo exitus) byl zaznamenán u 11 pacientů (2 ženy a 9 mužů) . Transplantováni byli dva

pacienti, oba muži. Z devíti zemřelých pacientů bylo 7 mužů a 2 ženy. Mortalita ve skupině mužů byla 31,8% u žen 18,2%.

Korelace CRP, IL-1, IL-6, SAA, MDA, plazmatického fibrinogenu, BMI a FEV1 s délkou a počtem následujících hospitalizací jsou uvedeny v tabulce 18 a tabulce 19. Vztahy endpointů (úmrtí nebo transplantace plic) k vyšetřovaným parametrům jsou uvedeny v tabulce 20.

Nicméně v multivariační analýze byla přítomnost endpointů významně spojena pouze s FEV1 ( $p=0,001$ ) viz tabulka 21.

**Tab.18 Srovnání klinických a laboratorních parametrů s trváním hospitalizace**

	Věk	BMI	hs-CRP	IL1	IL6	SAA	MDA	Fibrinogen	FEV1
CI	0.073	0.335	0.205	0.102	0.262	0.049	0.279	0.550	0.501
P	0.79	0.07	0.30	0.62	0.20	0.79	0.13	0.001	0.001

*CI, korelační koeficient; BMI, body mass index; hs-CRP, vysoce sensitivní C-reaktivní protein; IL1, interleukin1; IL6, interleukin 6; SAA, sérový amyloid A; MDA, malonyldialdehyd; FEV1, usilovně vydechnutý objem za první sekundu*

**Tab.19 Srovnání klinických a laboratorních parametrů s počtem hospitalizací**

	Věk	BMI	CRP	IL1	IL6	SAA	MDA	Fibrinogen	FEV1
CI	0.125	0.338	0.206	0.027	0.305	0.056	0.279	0.570	0.559
P	0.52	0.07	0.293	0.85	0.13	0.66	0.13	0.001	0.001

*CI, korelační koeficient; BMI, body mass index; hs-CRP, vysoce sensitivní C-reaktivní protein; IL1, interleukin1; IL6, interleukin 6; SAA, sérový amyloid A; MDA, malonyldialdehyd; FEV1, usilovně vydechnutý objem za první sekundu*

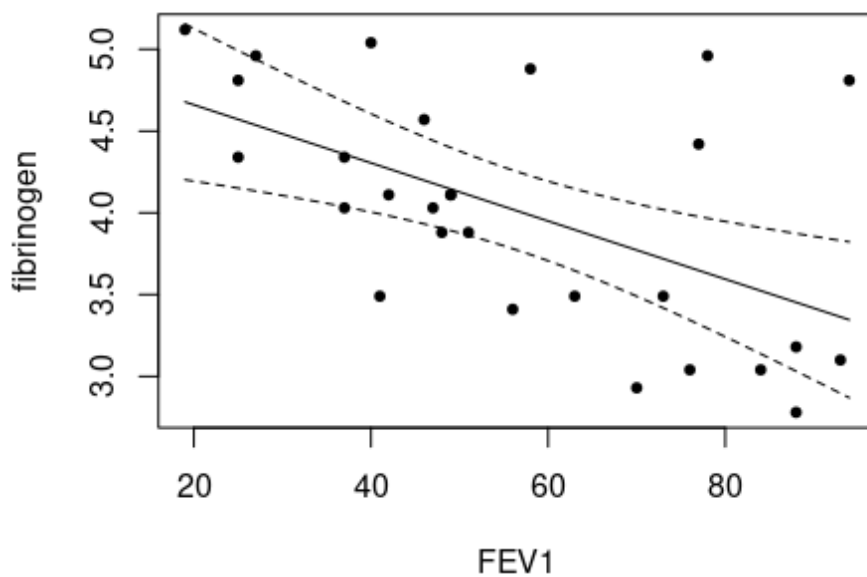
**Tab.20 Analýza vyšetřovaných parametrů s dlouhodobou prognózou**

	Skupina 1 (n=19)	Skupina 2 (p=11)	P
Věk (roky)	24.6±4.8	24.8±4.8	0.89
Pohlaví (počet žen/ %)	2 (25%)	9(41%)	0.67
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	19.3±1.9	17.7±1.6	0.03
hs-CRP (mg/L)	7.6±8.7	25.0±36.0	0.19
IL1 (mM)	11.0±7.5	8.5±3.9	0.39
IL6 (mM)	6.2±8.9	12.4±15.4	0.74
SAA (mg/L)	24.7±15.0	27.0±18.5	0.74
Fibrinogen (g/L)	3.7±0.7	4.5±0.4	0.001
MDA (umol/L)	0.72±0.3	0.55±0.1	0.01
FEV1 (%)	65.6±18.3	38.5±15.9	0.001

Skupina 1 pacienti přeživší 6 let bez plicní transplantace

Skupina 2 pacienti, kteří zemřeli nebo podstoupili transplantaci plic

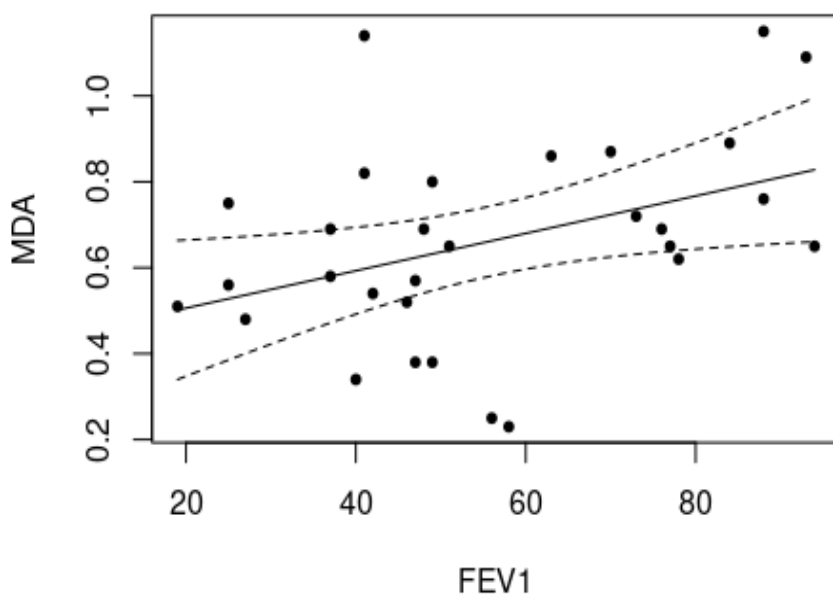
*BMI, body mass index; hs-CRP, vysoce sensitivní C-reaktivní protein; IL1, interleukin1; IL6, interleukin 6; SAA, sérový amyloid A; MDA, malonyldialdehyd; FEV1, usilovně vydechnutý objem za první sekundu*



Pearsonův korelační koeficient,  $\rho = -0.5466$ ;  $p = 0.0026$

*Fibrinogen v g/L; FEV1 usilovně vydechnutý objem za první sekundu*

**Obr.3** *Vztah plazmatického fibrinogenu a FEV1 v pozánětlivém období u dospělých pacientů s CF*



Pearsonův korelační koeficient 0.4039;  $p = 0.0269$

*MDA v umol/L; FEV1 usilovně vydechnutý objem za první sekundu*

**Obr.4** *Vztah plazmatického malonyldialdehydu (MDA) a FEV1 v pozánětlivém období u dospělých pacientů s CF*



**Tab. 21 Multivariantní analýza, endpoint(exitus nebo transplantace)**

	Df	Deviance	Resid. Df	Resid. Dev	Pr(>Chi)
NULL	NA	NA	27	36.49837	NA
POHLAVÍ	1	0.5805384	26	35.91783	0.4461014
VĚK	1	0.1157918	25	35.80204	0.7336443
FEV1	1	16.3627565	24	19.43928	0.0000523
CEPACIA	1	2.0629263	23	17.37635	0.1509201
BMI	1	0.6828816	22	16.69347	0.4085962
IgG	1	0.2585502	21	16.43492	0.6111180
Fibrinogen	1	2.5594512	20	13.87547	0.1096366
MDA	1	1.7313405	19	12.14413	0.1882398

*FEV1 usilovně vydechnutý objem za první sekundu; CEPACIA, infekce komplexem Burkholderia cepacia; BMI, body mass index; IgG, immunoglobulin G; MDA v umol/L;*

## 6 Diskuze

### 6.1 Význam komponent imunonutrice u nemocných s cystickou fibrózou

Dlouhou dobu patřila cystická fibróza mezi onemocnění s velmi nepříznivou prognózou a omezenými možnostmi léčby. Ty spočívaly výhradně v symptomatické terapii jednotlivých postižených orgánových systémů. Tento pohled na CF mění nová skupina léků, tzv. modulátory CFTR proteinu (Shteinberg a Taylor-Cousar 2020).

Tato kauzální terapie umožňuje individualizaci léčby a vede k zlepšení kvality a délky života pacientů s CF (Balfour-Lynn a King 2020). Kauzální terapie modulátory CFTR však nadále vyžaduje komplexní přístup se snahou o ovlivnění známých komplikací.

Z pohledu morbidity a mortality představuje nutriční stav u pacientů s CF jeden z rozhodujících faktorů (Wilson a Pencharz 1998; Borowitz 1996). Etiologie malnutrice je multifaktoriální s podílem malabsorpce, zvýšeného energetického výdeje (Zemel et al. 2000) a snížené chuti k jídlu při chronické infekci (Reilly et al. 1997).

V různé míře vyjádřená podvýživa je řešena nutriční podporou, převážně formou sippingu. Hlavním cílem nutriční podpory je udržení energetické a proteinové rovnováhy a zabránění progresu malnutrice s nasedajícími komplikacemi. Význam imunonutrice však u pacientů s cystickou fibrózou dosud nebyl komplexně hodnocen i přes známý pozitivní vliv některých jeho komponent.

Neesenciální aminokyseliny jsou syntetizovány de novo, a proto nejsou závislé na dietě. Naproti tomu esenciální aminokyseliny musí být získávány výživou. Některé neesenciální aminokyseliny se mohou stát esenciálními za podmínek stresu a katabolických stavů, kdy je překročena kapacita endogenní syntézy aminokyselin. Arginin a glutamin jsou dvě takové podmíněně esenciální aminokyseliny. Glutamin, prekurzor argininu, je jednou z nejhojnějších aminokyselin v těle a stejně jako arginin se stává nedostatečným při stresu, včetně kritických onemocnění, traumatu, infekce, rakoviny a gastrointestinálních poruch (Morris et al. 2017). V dýchacích cestách pacientů s cystickou fibrózou je snížena koncentrace oxidu dusnatého. Důvody tohoto nedostatku nejsou zcela jasné, ale může se na nich podílet i snížená dostupnost L-argininu, substrátu pro jeho tvorbu. Vzhledem ke skutečnosti, že oxid dusnatý hraje roli v řadě důležitých fyziologických procesů v plicích, včetně obrany hostitele proti patogenům, jako je *Pseudomonas aeruginosa*, proti zánětu a protože reguluje vaskulární a motorický tonus bronchů, může nedostatek oxidu dusnatého přispívat k plicnímu onemocnění při cystické fibróze (Grasemann a Ratjen 2012). Oxid

dusnatý (NO) je produkován skupinou izoenzymů, syntáz oxidu dusnatého (NOS), které všechny využívají L-arginin jako substrát. Bylo zjištěno, že změněná homeostáza L-argininu a NO v důsledku akumulace endogenních inhibitorů NOS a kompetice o substrát s enzymy arginázy hraje roli u řady stavů postihujících plíce a plicních onemocnění. Do této skupiny patří astma, chronická obstrukční plicní nemoc (CHOPN), cystická fibróza (CF), plicní hypertenze a bronchopulmonální dysplazie. Změněný metabolismus L-argininu /oxidu dusnatého byl pozorován v plicích pacientů s cystickou fibrózou, zejména při současné malnutrici, kdy je snižená kapacita syntézy, což podporuje význam cílené nutriční intervence (Brinkmann et al. 2020). Strategie manipulace dráhy arginin-oxid dusnatý v kombinaci s modulátory CFTR mohou vést ke zlepšení klinických výsledků u pacientů s CF (Wu et al. 2019). Pacienti s cystickou fibrózou pozitivně reagují na příjem esenciálních aminokyselin nezávisle na jejich nutričním stavu. Přidání argininu do směsi esenciálních aminokyselin pak může jejich účinek u nemocných s cystickou fibrózou potencionovat (Engelen et al. 2013). L-arginin má také příznivý účinek na regulaci metabolismu živin zvýšeným ukládáním ve svalové tkáni a vlivem na inzulínovou rezistenci. V klinických studiích se v současnosti zkoumají různé terapeutické strategie ke zvýšení hladin L-argininu nebo jeho biologické dostupnosti. Patří mezi ně suplementace L-argininu nebo L-citrulinu a inhibice arginázy (Scott et al. 2021). Katabolismus argininu arginázovými enzymy je totiž nejčastější příčinou syndromu získaného deficitu argininu, který často přispívá k endoteliální dysfunkci a dysfunkci T-buněk.

Pozorovaná bezpečná hladina pro orální podávání L-argininu je cca 20 g denně. V krátkodobých studiích byly testovány i vyšší hladiny bez závažných nežádoucích účinků. Suplementace argininem byla bezpečně používána také u zranitelných skupin, jako jsou těhotné ženy, předčasně narozené děti a jedinci s cystickou fibrózou (McNeal et al. 2016). Opakovaná inhalace L-argininu u pacientů s cystickou fibrózou byla bezpečná a dobře tolerovaná. Inhalovaný L-arginin zvýšil produkci NO bez nežádoucích účinků (Grasemann et al. 2013).

Arginin se ukázal také jako slibná a bezpečná terapeutická možnost ke zlepšení regulace endogenního oxidu dusnatého u kardiovaskulárních onemocnění spojených s endoteliální dysfunkcí. V klinických studiích bylo pozorováno, že L-arginin zlepšuje také kardiovaskulární funkce u hypertenze, plicní hypertenze, preeklampsie, anginy pectoris a syndromu MELAS (mitochondriální encefalomyopatie, laktátová acidóza a epizody podobné mrtvici).

L-citrulin, přirozený prekurzor L-argininu, je biologicky dostupnější než L-arginin, protože se vyhýbá metabolismu prvního průchodu játry a má delší dobu oběhu. Přestože arginin/citrulin ještě není dostatečně prozkoumán, má obrovský terapeutický potenciál. Farmakologie argininu/citrulinu je ovlivněna několika specifickými faktory, jako jsou variace výchozích hodnot argininu/citrulinu, věk a přidružené komorbidity (Rashid et al. 2020).

Zánět je proces, jehož cílem je obnovit tělesnou homeostázu zacílením na poškození a navozením opravných mechanismů. Tento proces se také může stát nadměrným a vést k chronickému zánětu a orgánovému poškození. Polynenasycené mastné kyseliny (PUFA) hrají klíčovou roli v zánětlivých procesech a jejich řešení. Mnoho lipidových mediátorů odvozených od n-3 nebo n-6 PUFA jako jsou eikosanoidy nebo endokanabinoidy jsou schopny ovlivnit transkripční faktory pro modulaci genové exprese (Marion-Letellier et al. 2015).

Jedním z prvních dokumentovaných biochemických defektů u cystické fibrózy byla nerovnováha v hladinách polynenasycených mastných kyselin (PUFA). Hlavními znaky této nerovnováhy jsou zvýšené hladiny kyseliny arachidonové a snížené hladiny dokosahexaenových kyselin. Tento prozánětlivý profil PUFA je důležitou složkou sterilního zánětu u cystické fibrózy, o kterém je známo, že je pro pacienty spíše škodlivý než ochranný. Přes desetiletí intenzivního výzkumu zůstává základ tohoto jevu nejasný (Garić et al. 2020). Pravidelný příjem omega-3 mastných kyselin může být nemocným s cystickou fibrózou prospěšný při relativně malém počtu nežádoucích účinků. Současné poznatky však nejsou dostatečné pro vyvození striktních doporučení pro rutinní užívání těchto doplňků u pacientů s cystickou fibrózou. K průkazu významného terapeutického účinku a posouzení vlivu závažnosti onemocnění, dávkování a délky léčby je zapotřebí velká, dlouhodobá, multicentrická, randomizovaná kontrolovaná studie (Watson a Stackhouse 2020).

Předpokládá se, že přetrvávající zánětlivá reakce v dýchacích cestách hraje ústřední roli v progresi poškození plic. Protizánětlivá léčba tak může zpomalit progresi plicního onemocnění. Vitamin D má imunoregulační vlastnosti u pacientů s cystickou fibrózou, avšak k potvrzení jeho významu je zapotřebí větší randomizovaná studie (Pincikova et al. 2017).

Chronické plicní stavy nyní představují 1 z 15 úmrtí v USA a úmrtnost se zvyšuje. Chronická obstrukční plicní nemoc (CHOPN) se do roku 2030 stane 3. nejčastější příčinou

úmrtnosti. Úmrtnost na další respirační onemocnění jako je astma, idiopatická plicní fibróza a cystická fibróza jsou také významné. Ačkoli cystická fibróza postihuje mnoho tkání, primární příčinou mortality pacientů je onemocnění plic (Sasaki a Guo 2018).

Existuje naléhavá potřeba nových léků k řešení tohoto problému, protože mnoho současných postupů zaměřených na ovlivnění zánětu nestačí. Vrozený imunitní systém plic je důležitou obranou proti napadajícím patogenům, ale u mnoha chronických plicních onemocnění tento systém reaguje nepřiměřeně.

U CHOPN je počet makrofágů zvýšený, ale nedokážou správně odstranit patogeny, přestože jsou vysoce aktivované. To vede ke zvýšenému poškození a přestavbě dýchacích cest. U idiopatické fibrózy dochází ke změně fenotypu makrofágů, která podporuje abnormální opravu. Neutrofilů také vykazují dysfunkci u CHOPN nemocných, kde aberantní migrační profily mohou vést ke zvýšenému poškození plicní tkáně a emfyzému.

Naproti tomu u cystické fibrózy proteolytické plicní prostředí poškozuje receptory neutrofilů, což vede k neúčinné fagocytóze a migraci. Zacílení na vrozený imunitní systém s cílem obnovit „normální funkci“ by mohlo mít obrovské výhody.

Zlepšení fagocytózy patogenů by mohlo snížit exacerbace a tím související pokles funkce plic a zdá se, že nová terapeutika, jako je sulforafan, to *in vitro* dělají. Jiné přírodní produkty jako je resveratrol a deriváty, mají také protizánětlivé vlastnosti.

Statiny se tradičně používají k řízení hladiny cholesterolu při hypercholesterolemii, avšak tyto molekuly mají také příznivé účinky na buňky přirozené imunity. Statiny se ukázaly jako protizánětlivé a obnovují aberantní chemotaxi neutrofilů ve stárnoucích buňkách.

Další možná činidla, která mohou být účinná, jsou senolytika. Tyto sloučeniny zahrnují přírodní produkty jako je kvercetin, které mají protizánětlivé vlastnosti, ale mohou také potlačit replikaci viru. Protože bylo prokázáno, že viry potlačují fagocytózu makrofágů, je možné, že tyto sloučeniny by mohly mít prospěch během virových exacerbací k ochraně této vrozené reakce (Belchamber a Donnelly 2020).

## **6.2 Vliv aplikace imunonutrice na nutriční parametry ve sledovaném souboru**

V našem souboru byli dospělí nemocní s cystickou fibrózou a malnutricí, která byla nejméně jeden rok intervenována podáváním standardní enterální výživy formou sippingu. Přes tuto intervenci byl nutriční stav sledovaných nemocných významně horší než

v kontrolní skupině stejně starých zdravých jedinců, a to jak na podkladě provedených antropometrických měření, tak i biochemických parametrů. Změny mezi zdravými jedinci a pacienty s cystickou fibrózou jsme zjistili také při vyšetření spektra plazmatických aminokyselin.

Vysoké dávky některých substrátů imunonutrice, především argininu, ale i polynenasycených lipidů se uplatňují při podpoře imunitního systému. Z tohoto důvodu byly porovnány změny lipidového a aminokyselinového spektra a nutričních parametrů vyvolané imunonutricí oproti standardní enterální podpoře.

Nebyly zaznamenány žádné signifikantní rozdíly v BMI, sérovém albuminu, prealbuminu nebo transferinu mezi aplikací imunonutrice a běžné enterální výživy, což nebylo překvapivé, protože energetický obsah podané imunonutrice byl stejný jako do té doby podávaného standardního sippingu. Významný pokles byl zaznamenán u sérové koncentrace triacylglycerolů. V imunonutrici je významné množství omega 3 mastných kyselin, což může vysvětlit právě pokles sérových triacylglycerolů během aplikace preparátu Impact. Tato skutečnost představuje jeden z pozitivních efektů imunonutrice, protože zvýšená koncentrace triacylglycerolů v séru je spojena se zvýšeným rizikem rozvoje aterosklerotických změn. Zejména pak u jedinců s diabetes mellitus (Pirillo a Catapano 2015), který je u nemocných s cystickou fibrózou častý.

Významné změny byly zjištěny v plazmatickém profilu aminokyselin. Při srovnání se zdravými kontrolními subjekty byly pouze koncentrace threoninu, alaninu a argininu srovnatelné s hodnotami u pacientů s cystickou fibrózou užívajících běžnou enterální výživu. Zjištěné změny je ale obtížné interpretovat pouze z hlediska významu přítomného onemocnění, protože aminoacidogram u nemocných s cystickou fibrózou byl modifikován aplikací standardní enterální výživy.

Naopak změny, které byly navozeny imunonutricí ve srovnání se standardní enterální podporou mohou být klinicky relevantní. Zvýšení plazmatické koncentrace ornitinu při imunonutrici je nejspíše následkem zvýšeného množství podaného argininu. V případě zvýšeného obratu aminokyselin je ornitin důležitý při produkci močoviny (Grasemann et al. 2006).

Koncentrace kyseliny glutamové a glutaminu se při aplikaci imunonutrice významně změnilo. Došlo k významnému poklesu plazmatické koncentrace glutaminu a naopak ke

zvýšení hladiny kyseliny glutamové, což je možné vysvětlit modulací aktivity enzymů glutaminázy a glutamindehydrogenázy. Glutamin je také zdrojem dusíku při biosyntéze purinů a dalších biologických sloučenin, což může být způsobeno stimulací imunitního systému (Walker a van der Donk 2016).

Plazmatická koncentrace glycinu a valinu se během imunonutrice významně snížila. Glycin je prekurzorem pro tvorbu základních biologických sloučenin jako jsou puriny, porfyriny, kreatin nebo glutation. Po začlenění do většiny těchto sloučenin jej nelze znovu použít. Proto může být poptávka po této aminokyselině vyšší než rychlost, kterou ji lze syntetizovat ve stresových situacích (Jahoor et al. 2006; Palova et al. 2007; Jackson 1991). Aminokyselina s rozvětveným řetězcem valin je prekurzorem pro syntézu bílkovin a působí jako regulátor jejich obratu (Boirie et al. 1997). Obě aminokyseliny mohou být více využity, když je imunitní systém stimulován imunonutricí.

V pooperačním období dochází u neinfikovaných pacientů k poklesu sirných aminokyselin, což naznačuje jejich retenci v hojících se tkáních (Grimble a Grimble 1998). Podobná situace provázená poklesem koncentrace threoninu a tryptofanu může nastat u podvyživených pacientů s cystickou fibrózou během aplikace imunonutrice. Je také známo, že threonin pomáhá při produkci protilátek, které jsou hlavními složkami našeho imunitního systému (Grimble 2006). Jeho snížené hodnoty po imunonutrici by mohly svědčit pro jeho utilizaci zvýšenou imunitní aktivitou.

Tryptofan je esenciální aminokyselina, která by měla být dodávána bílkovinami ze stravy. Degradace tryptofanu na kynurenin imunitními buňkami hraje klíčovou roli při kontrole imunitní odpovědi během infekce a zánětu. Zvýšená utilizace tryptofanu s jeho následnou deplecí plazmatické koncentrace byla hlášena během parazitárních, bakteriálních a virových infekcí, ale také v jiných případech dlouhotrvající imunitní aktivace (Le Floc'h et al. 2011). Pacienti s cystickou fibrózou jsou často infikováni *Pseudomonas aeruginosa* v plicní tkáni. Toto patologické agens využívá ke svému růstu tryptofan pomocí jeho přeměny na kynurenin (Genestet et al. 2014; Palmer et al. 2013; Esther et al. 2015). Lokální deplece tryptofanu by mohla být mechanismem, který kontroluje proliferaci bakterií, což vede k zastavení mikrobiální biosyntézy (Grimble 2006).

Koncentrace methioninu se naopak během imunonutrice výrazně zvýšila. Toto zvýšení methioninu lze vysvětlit metylací homocysteinu. Bohužel tuto skutečnost nemůžeme

potvrdit, protože koncentrace homocysteinu v plazmě nebyla v našem souboru zkoumána. Pro imunitní systém methionin zvyšuje glutathion, taurin, CD4+ a CD8+ buňky. Je důležitý i pro iniciaci proteosyntézy (Alshaikh et al. 2016).

Významné změny v profilu aminokyselin v plazmě u pacientů s cystickou fibrózou a malnutricí mohou odrážet aktivaci imunitního systému. Na druhou stranu významný pokles plazmatických koncentrací glycinu, valinu, threoninu a tryptofanu během aplikace imunonutriční léčby může vyvolat otázku, zda by při aplikaci imunonutrice nemělo být podáváno dodatečné množství těchto substrátů. Nicméně je nepochybné, že během podání imunonutrice dochází k významným změnám v metabolismu aminokyselin, což může souviset s vlivem imunonutrice na imunitní systém.

### **6.3 Cystická fibroza a zánětlivé biomarkery**

Progresivní plicní onemocnění je hlavní příčinou morbidity a mortality u pacientů s cystickou fibrózou (CF). Metody správné predikce budoucí progresy plicního onemocnění jsou zásadní pro nasměrování agresivní léčby bránící ztrátě plicních funkcí a progresi respiračního selhání. Včasné intervence pak mohou oddálit progresi strukturálního poškození plic (Breuer et al. 2018).

Usilovně vydechnutý objem za první sekundu (FEV1) a rychlost poklesu FEV1 zůstávají v současné době nejvýznamnějšími prediktory mortality u pacientů s CF, zatímco CT skóre a biomarkery jsou hlavními prediktory časného plicního onemocnění. K dalšímu posunu v léčbě CF je zapotřebí pokroků v přesnosti současných biomarkerů a identifikace biomarkerů nových (Muhlebach et al. 2016). Komplexní skóre zahrnující klinická, plicní, zobrazovací a laboratorní data se v budoucnu stanou nezbytnými pro předpovídání progresy onemocnění. Existuje tedy nesplněná potřeba identifikovat a validovat nové, ideálně krevní biomarkery se silnou korelací se závažností plicního onemocnění.

Ačkoli se klinické výsledky léčby cystické fibrózy (CF) díky nedávné implementaci nových modulátorů CFTR proteinu výrazně zlepšily, jsou stále nezbytné spolehlivé biomarkery pro včasnou detekci progresy plicního onemocnění, sledování účinnosti léčby a predikci život ohrožujících komplikací.

Měření koncentrací chloridů v potu a spirometrický parametr FEV1 jsou v současnosti využívány k monitorování funkce CFTR a účinku jednotlivých terapií CF. Nicméně oba



parametry mají svá vlastní úskalí a omezení, a proto jsou rutinně analyzované další biomarkery ve vzorcích krve, sputa nebo BAL (Bene et al. 2020).

Sérový amyloid A je protein akutní fáze syntetizovaný převážně játry. Po sekreci do oběhu se spojí s částicemi lipoproteinů s vysokou hustotou (HDL). Během akutního zánětu se mohou hladiny SAA v séru zvýšit až tisíckrát. SAA vykazuje významnou imunologickou aktivitu například tím, že indukuje syntézu několika cytokinů a je chemotaktický pro neutrofilů a žírné buňky. Uplatňuje mnoho svých imunologických aktivit vazbou a aktivací receptorů buněčného povrchu. Nedávno se také ukázalo, že SAA indukuje zánětlivou kaskádu, která má klíčovou roli v imunitní aktivaci, čímž se dále zdůrazňuje jedinečná role SAA v imunomodulaci. Tradičně se má za to, že SAA má klíčovou roli v patogenezi amyloidózy typu A, ale nyní chápeme, že se může také podílet na patogenezi chronických zánětlivých onemocnění jako je revmatoidní artritida a ateroskleróza. SAA je proto jedním z potenciálních cílů při léčbě onemocnění spojených s chronickým zánětem (Eklund et al. 2012).

U nemocných s cystickou fibrózou byla zjištěna významná korelace mezi hsCRP a sérovým amyloidem A (Jain et al. 2021). Sérový amyloid A (SAA) hraje důležitou roli u akutního i chronického zánětu a používá se jako jeho indikátor. Přestože SAA i C-reaktivní protein (CRP) jsou proteiny akutní fáze, detekce SAA je u pacientů s virovými infekcemi, těžkou akutní pankreatitidou a rejekcí transplantované ledviny průkaznější než detekce CRP. Samotný SAA má větší diagnostickou hodnotu u pacientů, kteří jsou imunokomprimováni a u pacientů s cystickou fibrózou. Nicméně pro posouzení stavu zánětu u bakteriální infekce může kombinace použití SAA a dalších proteinů akutní fáze, jako je hs-CRP a prokalcitonin poskytnout více informací než použití kteréhokoli z těchto proteinů samotných, což je důležité pro vedení antibiotické terapie (Zhang et al. 2019).

Studie na myších modelech prokázaly, že SAA přispívá k ateroskleróze a některým metastatickým formám rakoviny. Zvýšená exprese SAA provází aterosklerózu a je významným plazmatickým biomarkerem pro budoucí kardiovaskulární příhody. SAA také podporuje angiotensinem indukované aneurysma břišní aorty u aterogenních myších modelů (Getz et al. 2016).

Není však prokázáno, zda je SAA pouze biomarkerem nebo se podílí na rozvoji kardiovaskulárního onemocnění.

Některé práce naznačují, že stav lipidace SAA ovlivňuje jeho biologickou aktivitu. Byly identifikovány faktory, které modulují rovnováhu mezi SAA bez lipidů a SAA spojeného s HDL. HDL tak může sloužit k omezení bioaktivity SAA in vivo. Pochopení faktorů vedoucích k uvolnění systémového SAA z HDL může poskytnout důležité poznatky o mechanismech chronického onemocnění (Webb 2021).

V našem souboru, kdy nemocní byli vyšetřeni v období po prodělané plicní exacerbaci, bylo hsCRP sice u části nemocných ještě zvýšené, ale u většiny již byla jeho koncentrace v mezích normy. Naproti tomu hodnoty SAA v séru byly u všech nemocných významně zvýšené. Za zásadní zjištění je třeba považovat skutečnost, že při podávání imunonutrice došlo signifikantnímu poklesu SAA v séru. Po jejím vysazení a návratu k standardní nutriční podpoře se naopak SAA v séru významně zvýšilo, a to přesto, že v tomto období byli nemocní ve stabilizovaném stavu. Pozitivní vliv imunonutrice byl patrný i z dynamiky dalších sledovaných parametrů, především IL-6 a imunoglobulinů. U těchto parametrů ale nebyla prokázána statistická významnost, na čemž se nepochybně podílí i velikost souboru. Pozitivní vliv imunonutrice na dynamiku sérového SAA podporuje její aplikaci u nemocných s cystickou fibrózou.

#### **6.4 Cystická fibróza a oxidační stres**

Cystická fibróza je autozomálně recesivní stav způsobený defektem genu regulátoru transmembránové vodivosti, který má klíčovou roli v buněčné homeostáze. Dysfunkční CFTR protein zhoršuje odtok buněčných aniontů, jako je chlorid a hydrogenuhličitan, a také jiných rozpuštěných látek, jako je redukovaný glutathion. Pro oxidační stres je kromě glutathionu důležitá i porucha transportu tiokyanátů (SCN<sup>-</sup>), které laktoperoxidázovou a myeloperoxidázovou reakcí inaktivují H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, při jejich nedostatku myeloperoxidáza využívá chloridy a vzniká toxická kyselina chlorná (HClO), naproti tomu hypotiokyanatan (SCNO<sup>-</sup>) je netoxický. Tento defekt způsobuje spolu s dalšími metabolickými poruchami epitelu zvýšenou viskozitu sekretu, která v konečném důsledku podporuje obstrukci a fibrózu orgánů.

Recidivující plicní infekce a respirační dysfunkce jsou hlavními klinickými důsledky těchto patofyziologických pochodů, po nichž následuje pankreatická a jaterní insuficience, diabetes, protein-energetická malnutrice atd. Tyto komorbidity jsou provázeny chronickou zánětlivou složkou spojenou s průkazem systémového oxidačního stresu. Chronická

zánětlivá onemocnění jsou doprovázena aterosklerotickými procesy a kardiovaskulárním onemocněním (CVD), dalším stavem silně souvisejícím se zánětem a oxidačním stresem. V důsledku prodloužení života pacientů s CF je třeba brát v úvahu právě i riziko kardiovaskulárního postižení. Přítomnost kardiovaskulárních rizikových faktorů u cystické fibrózy potvrzuje nedávné zjištění, že pacienti s CF vykazují známky endoteliální dysfunkce, uznávaného prekursoru aterosklerózy a kardiovaskulárních onemocnění. Tato zjištění vedou k potřebě získat bližší epidemiologická data charakterizující přítomnost a rozsah aterogenních procesů u pacientů s CF. Takové studie by měly dále informovat i o tom, jak jiná chronická zánětlivá onemocnění potencují procesy vedoucí ke kardiovaskulárnímu postižení (Reverri et al. 2014; Tucker et al. 2019)

Uvedené pochody vedou k rozsáhlým poškozením různých biomolekulárních cílů reaktivními formami kyslíku. Tyto biologické léze jsou zvláště výrazné v plicích, kde rozsah oxidačního poškození odpovídá aktivitě zánětu. V důsledku trvalé aktivace neutrofilních granulocytů a defektu homeostatických procesů plicního epitelu je přítomnost reaktivních forem kyslíku v plicích abnormálně vysoká.

Předpokládá se, že suboptimální antioxidační ochrana představuje hlavní příčinu oxidačního stresu a špatné kontroly zánětu u těchto pacientů.

Mezi pozorované defekty patří snížený metabolismus glutationu, snížený příjem a vstřebávání antioxidantů rozpustných v tucích (vitamin E, karotenoidy, koenzym Q-10, některé polynenasycené mastné kyseliny atd.) a mikronutrientů (jako je Se, Cu a Zn), které se podílí na enzymatické detoxikaci reaktivních forem kyslíku. (Galli et al. 2012) . Perorální suplementace glutathionem prokázala určitý přínos pro funkci plic a nutriční stav. Na základě dostupných důkazů se zdá, že inhalovaný a perorální glutathion zlepšuje plicní funkce a snižuje oxidační stres. Vzhledem k velmi intenzivní a časté léčbě antibiotiky a další souběžné medikaci, které lidé s cystickou fibrózou užívají, lze příznivý účinek antioxidantů u pacientů s chronickou infekcí obtížně posoudit (Ciofu et al. 2019). Nedávná metaanalýza podporuje vztah mezi sníženou antioxidační kapacitou a zvýšeným oxidačním stresem u lidí s klinicky stabilní cystickou fibrózou (Causer et al. 2020).

Markery oxidačního stresu by měly být využívány k monitorování oxidačních procesů u pacientů s astmatem, chronickou obstrukční plicní nemocí (CHOPN) nebo cystickou fibrózou. Mezi produkty peroxidace lipidů byly nejčastěji studovány 8-isoprostan a malonyldialdehyd. Několik studií prokázalo vyšší hladiny těchto produktů u pacientů s

astmatem, CHOPN nebo CF ve srovnání se zdravými subjekty. Koncentrace markerů by mohly být dále zvýšeny během exacerbací a sníženy spolu se zotavením těchto onemocnění.

Malonyldialdehyd je marker oxidativního stresu. Hladiny malonyldialdehydu ve sputu i v plazmě byly zvýšené u pacientů s CF ve srovnání se zdravými kontrolami i v klidové fázi onemocnění (Antus et al. 2015; Antus 2016; Bartoli et al. 2011).

Dalším přístupem k hodnocení oxidačního stresu u pacientů s plicním onemocněním by mohlo být měření oxidovaných druhů guaninu a antioxidačních enzymů ve sputu. I když v této oblasti existují slibné poznatky, jsou zapotřebí další klinické studie, které by jasně ukázaly přínos těchto markerů při sledování pacientů se zánětlivými onemocněními dýchacích cest (Antus 2016).

Koncentrace 8-isoprostanu v EBC korelovaly s krátkodobým poklesem funkce plic u pacientů s CF a infekcí dýchacích cest komplexem *Burkholderia cepacia*. Tato korelace odráží roli oxidačního stresu v patogenezi plicního postižení a přispívá k predikci prognózy u těchto pacientů.(Fila et al. 2014).

Z literatury vyplývá, že vztahy oxidačního stresu jsou velmi komplikované, závisí na mnoha komplexních mechanismech a mohou se odlišně projevovat v různých kompartmentech. Jinak se mohou manifestovat v plazmě, v intracelulárním prostoru a samozřejmě v respiračním systému. Pacienti s cystickou fibrózou mají nepochybně zvýšený oxidační stres ve srovnání s kontrolními zdravými subjekty. Oxidační stres se podílí na postupném zhoršování plicních funkcí po opakovaných infekčních inzultech. Míra oxidačního a redoxního stresu je ale také závislá na momentálním celkovém stavu nemocného s cystickou fibrózou. Jistě bude vyšší v období akutní exacerbace plicní infekce než ve stabilizovaném stavu. V literatuře je řada studií, které dokazují, že jak v průběhu akutní exacerbace, tak v klidovém stavu je oxidační stres zvýšený, avšak není mnoho dat o tom, jak se mění oxidační stres bezprostředně po zklidnění akutní exacerbace plicní infekce. Tedy v pozánětlivé fázi, kdy je aktivována protizánětlivá aktivita.

V naší práci jsme hodnotili plasmatický malonyldialdehyd právě v této fázi a jeho ovlivnění podáním imunonutrice. Navíc ve skupině významně malnutričních pacientů, u kterých je imunitní systém deprivován nejenom samotným charakterem onemocnění, ale

také špatným nutričním stavem. Hodnoty malonyldialdehydu změřené v plazmě nemusí odpovídat hodnotám v respiračním systému, jinými slovy míra oxidačního stresu může být rozdílná v plazmě a v respiračním systému.

Podání imunonutrice vede dle řady předcházejících prací k snížení oxidačního stresu a k stimulaci imunitního systému u pacientů před velkým operačním výkonem, zejména u onkologických nemocných, což vede k významnému snížení zánětlivé aktivity během a po operačním výkonu. Sérový malonyldialdehyd je tedy považován za jeden z vhodných parametrů pro sledování stupně oxidačního stresu. U nemocných se sepsí není podání imunonutrice vhodné, protože vede k dalšímu zvýšení prozánětlivé aktivity s negativním dopadem na prognózu. Z tohoto důvodu jsme nezahajovali podání imunonutrice v období akutní exacerbace plicní infekce, ale až po jejím odeznění, tedy v období, kdy dochází k aktivaci protizánětlivých mechanismů. Naše představa byla, že v této fázi, kdy dochází k potlačení prozánětlivých působků, může imunonutrice vést k posílení imunitního systému, což bude spojeno s významným snížením prozánětlivé aktivity i oxidačního stresu. Po podání imunonutrice skutečně ve srovnání s běžným sippingem došlo k významnému poklesu sérového SAA a k poklesu i některých dalších parametrů spojených se zánětlivou aktivací (IL6, IgM). Vedle této pozitivní změny ale aplikace imunonutrice vedla k významnému zvýšení sérového malonyldialdehydu – tedy parametru oxidačního stresu. Tento rozporuplný výsledek není snadné vysvětlit. Avšak i další rozbor vztahu mezi sérovým malonyldialdehydem a sledovanými zánětlivými parametry přinesl nečekané výsledky. Hladina sérového malonyldialdehydu v období po akutní exacerbaci plicní infekce významně negativně korelovala se zánětlivými parametry. Dalším výsledkem, který je v rozporu s předchozími publikacemi, je skutečnost, že hladina sérového malonyldialdehydu pozitivně korelovala s FEV1.

Současný pokles GpX a selenu svědčí pro kompenzační antioxidační aktivitu na intracelulární úrovni, kdy je hydrogenperoxidový iont měněn na vodu. V této souvislosti je zajímavé zjištění, že se v aminoacidogramu při imunonutrici významně snížila koncentrace glycinu a methioninu, které jsou nezbytné při tvorbě glutationu. Pro hodnocení významu imunonutrice může být důležitá i skutečnost, že nedošlo k významným změnám v SOD. Ta je využívána při neutralizaci superoxidového iontu, jenž způsobuje ireverzibilní změny v nukleových kyselinách.

V jedné z dřívějších prací autoři zjistili, že u nemocných s cystickou fibrózou a malnutricí se reakce na podání pankreatických enzymů liší podle doby zahájení aplikace pankreatických enzymů. U pacientů, kdy byly pankreatické enzymy podány hned po

prodělání akutní exacerbace plicní infekce, došlo k významnému zvýšení sérového malonyldialdehydu. Zatímco v případě, kdy byla léčba zahájena v klidové fázi, k žádnému zvýšení malonyldialdehydu nedošlo. U pacientů v pozánětlivé fázi současně se zvýšením malonyldialdehydu došlo ke zlepšení funkce T lymfocytů (Shmarina et al. 2001). Autoři vysvětlují zjištěné výsledky tím, že aplikace pankreatických enzymů u chronicky malnutričních jedinců vede po prodělané exacerbaci infekce ke zvýšenému metabolickému obratu, který je spojen s aktivací oxidačního stresu.

U našich nemocných lze podobně postavit hypotézu, že aplikace imunonutrice vede k aktivaci imunitního systému, což je v pozánětlivém období spojeno se zvýšeným oxidačním stresem. Při přijetí této hypotézy by zvýšení oxidačního stresu nemuselo být v této situaci považováno za nežádoucí, zejména když dochází současně k pozitivnímu ovlivnění parametrů zánětu. Při dlouhodobém sledování navíc byla zjištěna pozitivní korelace mezi prognózou nemocných a hodnotou sérového malonyldialdehydu. Dlouhodobá prognóza je však při multivariátní analýze u našich nemocných závislá pouze na FEV1. Pozitivní korelace mezi dlouhodobou prognózou a sérovým malonyldialdehydem je tak odvozena ze vztahu mezi FEV1 a sérovým malonyldialdehydem.

Vysvětlení pro překvapivé výsledky sérového malonyldialdehydu u našich nemocných není snadné interpretovat. Je možné si představit, že po prodělané exacerbaci akutní plicní infekce došlo u mladých malnutričních jedinců k aktivaci protizánětlivých působků, jejíž intenzita byla úměrná závažnosti proběhlé exacerbace. V pozánětlivém období tato protizánětlivá aktivita vedla k potlačení oxidačního stresu. Nutné je také zdůraznit, že hodnoty sérového malonyldialdehydu byly téměř u všech nemocných ve fyziologických mezích, jen u tří byly lehce zvýšené a u 2 dokonce snižené. Během aplikace imunonutrice došlo k významnému zvýšení změřené hodnoty, avšak jen u 3 nemocných přesáhla zjištěná hodnota horní mez fyziologické hodnoty. Naopak po vysazení imunonutrice a návratu k běžnému sippingu došlo k poklesu sérového malonyldialdehydu, avšak i poté jeho hodnoty zůstaly vyšší než v pozánětlivém období. Samozřejmě jde o spekulativní vysvětlení, které by bylo třeba posoudit na větším souboru nemocných s tím, že parametry oxidačního stresu budou pacientům odebrány v různých fázích jejich onemocnění, včetně akutní exacerbace plicní infekce.

## 6.5 Sledování bezpečnosti podání imunonutrice

Podání imunonutrice vedlo k významnému snížení systolického krevního tlaku a tepové frekvence, což je nejspíše následek účinku argininu (Vasdev a Gill 2008; Khalaf et al. 2019). Rovněž další významná změna, ke které podání imunonutrice vedlo, bylo zvýšení vypočítané cystatinové clearance. I tuto změnu lze vysvětlit na podkladě vasodilatačního účinku argininu. Během aplikace také bylo opakovaně provedeno spirometrické vyšetření, kdy ve sledovaných parametrech nedošlo k významným změnám. Sledovány byly také parametry hodnotící jaterní funkce tzv. „jaterní“ testy, postižení pankreatu a krevní obraz. V žádném ze sledovaných parametrů nebyly zjištěny významné změny při a po podávání imunonutrice, což podporuje bezpečnost jejího podání u nemocných s cystickou fibrózou a malnutricí.

## 6.6 Dlouhodobé sledování.

Pro zlepšení hodnocení závažnosti plicního onemocnění a pro sledování účinnosti léčby u pacientů s cystickou fibrózou je nezbytné integrovat pravidelně stanovované laboratorní biomarkery do rutinní klinické praxe (Sagel et al. 2020; Bene et al. 2020; Castaldo et al. 2020; Muhlebach et al. 2016; Roberts et al. 2018; Shoki et al. 2013; Jain et al. 2021). Několik předchozích studií pacientů s CF ukázalo na základě hodnocení spirometrií (FEV1), že CRP, IL1, IL6, SAA a další sérové zánětlivé parametry jsou spojeny se závažností plicního onemocnění. (Marhaug et al. 1983; Zhang et al. 2019; Simpson et al. 2019; Girón-Moreno et al. 2014; Gur et al. 2021; Dong et al. 2019; Kathriachchige et al. 2018; Loh et al. 2018; Vietri et al. 2020; Matouk et al. 2016; Jung et al. 2021; Waters a Ratjen 2008). Jejich změny rovněž predikovaly riziko následných exacerbací plicní infekce (Paats et al. 2013; Scott a Toner 2017; Breuer et al. 2018; Sagel et al. 2007; Wojewodka et al. 2014; Quon et al. 2014; Slobodianik et al. 2010; Sequeiros a Jarad 2012; Ngan et al. 2012). Koncentrace těchto parametrů v krvi se však liší v závislosti na stadiu onemocnění.

V této části naší práce jsme hodnotili v období 6 let souvislost vybraných zánětlivých parametrů a sérového MDA v pozánětlivém období s plicní funkcí (FEV1) a četností a délkou následných hospitalizací a také s četností úmrtí či transplantací plic. Na rozdíl od akutní exacerbace infekce nekorelovaly v pozánětlivém období koncentrace hs-CRP, IL6, IL1, SAA s FEV1 ani s dlouhodobou prognózou.

Na druhé straně byl plazmatický fibrinogen kromě negativní korelace s FEV1 významně spojen také s frekvencí a délkou následných hospitalizací a také s dlouhodobou prognózou. Plazmatická koncentrace fibrinogenu je již považována za slibný biomarker pro chronickou obstrukční plicní nemoc (CHOPN) (Valvi et al. 2012; Mannino et al. 2012; van Bragt et al. 2018; Miller et al. 2016; Cazzola et al. 2019; Rosenberg a Kalhan 2012; Zhou et al. 2020; Fernandez Fernandez et al. 2018) . Podle závažnosti CHOPN existuje stupňovité zvýšení plazmatické koncentrace fibrinogenu se zvýšenou závažností CHOPN ve srovnání s kontrolami (van Bragt et al. 2018). Zvýšená plazmatická koncentrace fibrinogenu je také spojena se závažnější prognózou u pacientů s CHOPN (Mannino et al. 2012; van Bragt et al. 2018; Miller et al. 2016; Cazzola et al. 2019; Rosenberg a Kalhan 2012) . Zvýšený plazmatický fibrinogen je také spojen s řadou komplikací u pacientů s cystickou fibrózou (Kim a Nadel 2009; Starr et al. 2018; Adler et al. 2007; Anil et al. 2018; Davidson et al. 2009). Způsob, jakým fibrinogen ovlivňuje dýchací systém u pacientů s cystickou fibrózou, může být hypersekrece bronchiální sliznice, vyvolaná aktivací signální kaskády receptoru EGF po vazbě fibrinogenu na ICAM-1(Reihill et al. 2017).

Plazmatický fibrinogen však překvapivě doposud nebyl u pacientů s cystickou fibrózou hodnocen jako prognostický faktor. Ačkoli je FEV1 zásadní pro posouzení závažnosti poškození respiračních funkcí a dlouhodobé prognózy, plazmatické koncentrace fibrinogenu mohou být dalším velmi užitečným parametrem. V našem souboru byla koncentrace fibrinogenu pod 4 g/l spojena s dlouhodobě dobrou prognózou. Žádný pacient s koncentrací fibrinogenu pod 4 g/l nezemřel ani nebyl indikován k transplantaci plic v následujících 6 letech a počet a délka hospitalizací byly méně časté než u pacientů s hodnotami nad 4 g/l. Role fibrinogenu u pacientů s cystickou fibrózou je tedy složitější než jen jako parametr akutního zánětu.



## 7 Vztah práce k testovaným hypotézám

### Hlavní hypotéza

Při podání imunonutrice u nemocných s cystickou fibrozou a malnutricí dochází k metabolickým změnám vedoucím k stimulaci imunitního systému, která vede k poklesu aktivity zánětu, což může pozitivně ovlivnit prognózu.

### Odpověď ke stanovené hypotéze

V naší práci byl zjištěn významný vztah mezi aplikací imunonutrice a poklesem sérového amyloidu A, který je u nemocných s cystickou fibrózou zvýšen. Po vysazení imunonutrice a návratu k standardnímu sippingu bylo detekováno jeho opětovné významné zvýšení. Další sledované parametry zánětu nebyly ovlivněny významně, ale během aplikace imunonutrice byl zaznamenán pokles IL-6 a imunoglobulinu.

Naopak se při aplikaci imunonutrice neprokázalo významné snížení oxidačního stresu. Hodnota sérového malonyldialdehydu se po podání imunonutrice naopak významně zvýšila. Po návratu k standardnímu sippingu došlo opět k jejímu významnému poklesu. Podání imunonutrice u nemocných s malnutricí po prodělané akutní exacerbaci vedlo ke zvýšení tohoto ukazatele oxidačního stresu. Klinický význam této změny není snadné interpretovat z několika důvodů. Hodnoty sérového MDA byly až na výjimky v mezích normy i po podání imunonutrice - nedošlo k jejich zvýšení nad horní hranici normy u 90% nemocných. Překvapivě hladina sérového MDA významně nepřímo korelovala se sledovanými zánětlivými parametry a pozitivně s FEV1. Konečně, i při dlouhodobém sledování, její hodnota v unilaterální analýze významně nepřímo korelovala s výskytem úmrtí nebo provedením plicní transplantace. Z uvedených důvodů je možné, že zvýšení sérového malonyldialdehydu po podání imunonutrice v pozánětlivém období nemusí mít klinicky negativní dopad.

Při dlouhodobém sledování byl zjištěn význam sledování plazmatického fibrinogenu. Jeho hodnota pod 4g/L byla asociována s významně sníženou pravděpodobností následných hospitalizací a s méně závažnou dlouhodobou prognózou. Význam plazmatického fibrinogenu je znám a popsán u chronické obstrukční bronchopulmonální choroby, u cystické fibrózy byly ve vztahu k němu popsány určité komplikace, ale jeho vztah k dlouhodobé prognóze nebyl systematicky sledován.

## 8 Závěr

Na podkladě našeho sledování je možné konstatovat, že podání imunonutrice u dospělých pacientů s cystickou fibrózou a malnutricí vede k pozitivnímu ovlivnění zánětlivých parametrů. Nejvýznamnější změny byly zjištěny u sérového amyloidu A, který je zvýšen jak u akutního, tak i chronického zánětu. Při aplikaci imunonutrice došlo k poklesu dalších zánětlivých parametrů jako je IL6 nebo hladina imunoglobulinů. Podání imunonutrice bylo také spojeno s příznivým ovlivněním lipidového spektra, což právě u dospělých jedinců může mít pozitivní klinický význam. Z hlediska proteinového metabolismu podání imunonutrice sice nevedlo k významným změnám v nejčastěji sledovaných parametrech jako je albumin, prealbumin či transferin, ale zjistili jsme významné změny ve spektru plazmatických aminokyselin. Zjištěné změny mohou souviset s podporou imunitního systému. Vedle uvedených dopadů na zánětlivé a metabolické parametry vedlo podání nutrice i k pozitivním hemodynamickým změnám jako je pokles systémové tenze a zvýšení glomerulární filtrace hodnocené na podkladě eGFR<sub>cyst</sub>. Překvapivým nálezem byla skutečnost, že podání imunonutrice vedlo ke zvýšení plazmatického malonyldialdehydu. Domníváme se, že tato skutečnost ale není důvodem pro celkové negativní hodnocení vlivu imunonutrice u našich nemocných. Odběr vzorků pro vyšetření byl prováděn v pozánětlivém období u malnutričních jedinců, kdy je možné předpokládat dominanci protizánětlivé aktivity s významnou depresí celkové imunitní reakce, pro to nepřímě svědčí významná negativní korelace mezi námi sledovanými prozánětlivými parametry a plazmatickým malonyldialdehydem.

Při dlouhodobém sledování žádný ze sledovaných zánětlivých parametrů nepredikoval četnost a délku následných hospitalizací ani dlouhodobou prognózu. Plazmatický malonyldialdehyd významně koreloval (opět překvapivě pozitivně) s dlouhodobou prognózou, avšak tato korelace přestala být významná v multivariantní analýze, kdy jediným nezávislým parametrem byl FEV<sub>1</sub>. Při dlouhodobém sledování jsme zjistili, že pro predikci četnosti a délky následných hospitalizací i dlouhodobou prognózu má význam hodnota plazmatického fibrinogenu. Plazmatický fibrinogen do 4 g/L byla asociován s nízkým rizikem následných hospitalizací. Žádný s pacientů s plazmatickým fibrinogenem do 4g/L nezemřel ani nepotřeboval transplantací plic v následujících 6 letech.

## **Limitace**

V prvé řadě je třeba zdůraznit, že nešlo o randomizovanou studii. Zvolený přístup, kdy byla imunonutrice podána po prodělané exacerbaci a poté v klidové fázi po 8 týdnech její podání ukončeno a navrácen standardní sipping, byl dán jednak velikostí souboru, jednak také úvahou o nejvhodnější době pro zahájení aplikace imunonutrice. Další limitací je relativně krátká doba podávání imunonutrice, což omezuje možnosti interpretace jejího dlouhodobého efektu. V případě sledování parametrů oxidačního stresu nejsou známy hodnoty sérového MDA v průběhu akutní exacerbace plicní infekce a nejsou známy parametry oxidačního stresu probíhajícího v plicích. Naše sledování je proto třeba hodnotit jako pilotní studii aplikace imunonutrice u nemocných s cystickou fibrózou. Nicméně se domníváme, že studie přináší výsledky, které by měly být stimulem pro rozsáhlejší randomizovanou studii.

## 9 Souhrn

Cílem práce bylo zhodnocení aplikace imunonutrice u mladých dospělých nemocných s cystickou fibrózou komplikovanou současnou malnutricí, kterým byla podávána enterální výživa ve formě standardního sippingu nejméně jeden rok. U 30 dospělých nemocných byla imunonutrice podána ve formě přípravku Impact ve stejném množství jako do té doby užívaný standardní sipping na dobu 8 týdnů po prodělání akutní exacerbace plicní infekce. Po 8 týdnech byla intervence ukončena a pacienti se vrátili ke standardní nutriční podpoře. Aplikace imunonutrice vedla k významnému snížení systolického krevního tlaku a tepové frekvence, došlo k zvýšení glomerulární filtrace hodnocené na podkladě eGFR<sub>cyst</sub>. V lipidovém profilu došlo k poklesu sérových triglyceridů a byla zjištěna řada významných změn v plazmatickém aminoacidogramu. Významně poklesla hodnota sérového amyloidu-A (SAA), nevýznamně dalších sledovaných zánětlivých parametrů: interleukinu 6 (IL-6) a imunoglobulinů. Po ukončení imunonutrice došlo k opětovnému zvýšení SAA. Podání imunonutrice bylo ale asociováno s významným vzestupem sérového malonyldialdehydu, poklesem glutathion peroxidázy a hladiny selenu v séru. Podání imunonutrice vedlo tedy ke zvýšení oxidačního stresu, avšak téměř všechny hodnoty sérového malonyldialdehydu byly i po podání imunonutrice ve fyziologických mezích. Sérový malonyldialdehyd v pozánětlivém období významně negativně koreloval s SAA, hsCRP i imunoglobuliny a naopak pozitivně s FEV<sub>1</sub>. Po ukončení aplikace imunonutrice a návratu ke standardnímu sippingu došlo k významnému poklesu sérového malonyldialdehydu. Při dlouhodobém šestiletém sledování vyšší hodnoty sérového malonyldialdehydu predikovaly příznivější prognózu, avšak dlouhodobá prognóza v multivariantní analýze byla závislá pouze na vstupním FEV<sub>1</sub>, respektive na stupni respiračního postižení. Četnost a trvání následných hospitalizací a prognóza během dlouhodobého sledování byla významně asociována s hladinou plazmatického fibrinogenu. Hodnota pod 4g/L byla spojena s příznivou dlouhodobou prognózou. Hlavním zjištěním naší práce je skutečnost, že aplikace imunonutrice u nemocných s cystickou fibrózou vede ke snížení aktivity zánětlivých parametrů (SAA). Je ale asociována se zvýšením sérového malonyldialdehydu jako markeru oxidačního stresu. Na podkladě našich výsledků je pravděpodobné, že toto zvýšení oxidačního stresu nemá negativní klinické důsledky. Pro posouzení významu imunonutrice u pacientů s cystickou fibrózou je ale nezbytné provedení randomizované studie.

## 10 Summary

The aim of the study was to evaluate the application of immunonutrition in young adult patients with cystic fibrosis complicated by current malnutrition, who were given enteral nutrition in the form of standard sipping for at least one year. In 30 adult patients, the immunonutrition was given as Impact in the same amount as the standard sipping used until 8 weeks after the acute exacerbation of the lung infection. After 8 weeks, the intervention was terminated and patients returned to standard nutritional support.

The application of immunonutrition led to a significant reduction in systolic blood pressure and heart rate, there was an increase in glomerular filtration evaluated on the basis of eGFR<sub>cyst</sub>. There was a decrease in serum triglycerides in the lipid profile and a number of significant changes were found in the plasma aminoacidogram. The value of serum amyloid-A (SAA), insignificantly other monitored inflammatory parameters: interleukin 6 (IL6) and immunoglobulins, decreased significantly. After the end of immunonutrition, the SAA increased again. However, immunonutrition administration was associated with a significant increase in serum malonyldialdehyde, a decrease in glutathione peroxidase and serum selenium levels. Thus, administration of immunonutrition led to an increase in oxidative stress, but almost all values of serum malonyldialdehyde were within physiological limits even after administration of immunonutrition. In the post-inflammatory period, serum malonyldialdehyde correlated significantly negatively with SAA, hsCRP and immunoglobulins and, conversely, positively with FEV1. There was a significant decrease in serum malonyldialdehyde after immunization and return to standard sipping. At long-term 6-year follow-up, higher serum malonyldialdehyde levels predicted a more favorable prognosis, but the long-term prognosis in the multivariate analysis was dependent only on baseline FEV1 and respiratory impairment, respectively. The frequency and duration of subsequent hospitalizations and prognosis during long-term follow-up were significantly associated with plasma fibrinogen levels. A value below 4g / L was associated with a favorable long-term forecast. The main finding of our work is the fact that the application of immunonutrition in patients with cystic fibrosis leads to a reduction in the activity of inflammatory parameters (SAA). However, it is associated with an increase in serum malonyldialdehyde as a marker of oxidative stress. Based on our results, it is likely that this increase in oxidative stress does not have negative clinical consequences. However, a randomized study is necessary to assess the importance of immunonutrition in cystic fibrosis patients.

## 11 Seznam literatury

1. ADLER, A. I., E. GUNN, C. S. HAWORTH a D. BILTON, 2007. Characteristics of adults with and without cystic fibrosis-related diabetes. *Diabetic Medicine: A Journal of the British Diabetic Association* [online]. **24**(10), 1143–1148. ISSN 0742-3071. Dostupné z: doi:10.1111/j.1464-5491.2007.02252.x
2. AHMAD, Asima, Aysha AHMED a Pasquale PATRIZIO, 2013. Cystic fibrosis and fertility. *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology* [online]. **25**(3), 167–172. ISSN 1473-656X. Dostupné z: doi:10.1097/GCO.0b013e32835f1745
3. AIKO, Satoshi, Yutaka YOSHIKAWA, Takamitsu ISHIZUKA, Takuya HORIO, Takashi SAKANO, Isao KUMANO, Norishige KANAI a Tadaaki MAEHARA, 2008. Enteral immuno-enhanced diets with arginine are safe and beneficial for patients early after esophageal cancer surgery. *Diseases of the Esophagus: Official Journal of the International Society for Diseases of the Esophagus* [online]. **21**(7), 619–627. ISSN 1442-2050. Dostupné z: doi:10.1111/j.1442-2050.2008.00827.x
4. AKATA, Deniz, Okan AKHAN, Ugur OZCELİK, Mustafa N. OZMEN, Levent OGUZKURT, Mithat HALILOGLU a Ayhan GÖCMEN, 2002. Hepatobiliary manifestations of cystic fibrosis in children: correlation of CT and US findings. *European Journal of Radiology* [online]. **41**(1), 26–33. ISSN 0720-048X. Dostupné z: doi:10.1016/s0720-048x(01)00367-9
5. ALSHAIKH, Belal, Joan I. SCHALL, Asim MAQBOOL, Maria MASCARENHAS, Michael J. BENNETT a Virginia A. STALLINGS, 2016. Choline supplementation alters some amino acid concentrations with no change in homocysteine in children with cystic fibrosis and pancreatic insufficiency. *Nutrition Research (New York, N.Y.)* [online]. **36**(5), 418–429. ISSN 1879-0739. Dostupné z: doi:10.1016/j.nutres.2015.12.014
6. ANIL, Hülya, Gonca KILIÇ YILDIRIM, Koray HARMANCI, Ayşe BOZKURT TURHAN, Olga Meltem AKAY, Özcan BÖR, Sultan AYDOĞDU a Abdulkadir KOCAK, 2018. Thromboelastogram as a Tool to Predict Hypercoagulability in Children With Cystic Fibrosis. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis: Official Journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* [online]. **24**(2), 348–352. ISSN 1938-2723. Dostupné z: doi:10.1177/1076029616683045
7. ANTUS, Balazs, 2016. Oxidative Stress Markers in Sputum. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [online]. **2016**, 2930434. ISSN 1942-0994. Dostupné z: doi:10.1155/2016/2930434
8. ANTUS, Balazs, Orsolya DROZDOVSZKY, Imre BARTA a Krisztina KELEMEN, 2015. Comparison of Airway and Systemic Malondialdehyde Levels for Assessment of Oxidative Stress in Cystic Fibrosis. *Lung* [online]. **193**(4), 597–604. ISSN 1432-1750. Dostupné z: doi:10.1007/s00408-015-9739-1
9. ARIS, R. M., J. B. RENNER, A. D. WINDERS, H. E. BUELL, D. B. RIGGS, G. E. LESTER a D. A. ONTJES, 1998. Increased rate of fractures and severe kyphosis: sequelae of living into adulthood with cystic fibrosis. *Annals of Internal Medicine* [online]. **128**(3), 186–193. ISSN 0003-4819. Dostupné z: doi:10.7326/0003-4819-128-3-199802010-00004

10. BALFOUR-LYNN, I. M. a J. A. KING, 2020. CFTR modulator therapies - Effect on life expectancy in people with cystic fibrosis. *Paediatric Respiratory Reviews* [online]. S1526-0542(20)30081–6. ISSN 1526-0550. Dostupné z: doi:10.1016/j.prrv.2020.05.002
11. BARTOLI, M. L., F. NOVELLI, F. COSTA, L. MALAGRINÒ, L. MELOSINI, E. BACCI, S. CIANCHETTI, F. L. DENTE, A. DI FRANCO, B. VAGAGGINI a P. L. PAGGIARO, 2011. Malondialdehyde in exhaled breath condensate as a marker of oxidative stress in different pulmonary diseases. *Mediators of Inflammation* [online]. **2011**, 891752. ISSN 1466-1861. Dostupné z: doi:10.1155/2011/891752
12. BEAR, C. E., C. H. LI, N. KARTNER, R. J. BRIDGES, T. J. JENSEN, M. RAMJEESINGH a J. R. RIORDAN, 1992. Purification and functional reconstitution of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR). *Cell*. **68**(4), 809–818. ISSN 0092-8674.
13. BELCHAMBER, Kylie B. R. a Louise E. DONNELLY, 2020. Targeting defective pulmonary innate immunity - A new therapeutic option? *Pharmacology & Therapeutics* [online]. **209**, 107500. ISSN 1879-016X. Dostupné z: doi:10.1016/j.pharmthera.2020.107500
14. BENE, Zsolt, Zsolt FEJES, Milan MACEK, Margarida D. AMARAL, István BALOGH a Béla NAGY, 2020. Laboratory biomarkers for lung disease severity and progression in cystic fibrosis. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry* [online]. **508**, 277–286. ISSN 1873-3492. Dostupné z: doi:10.1016/j.cca.2020.05.015
15. BOIRIE, Y., P. GACHON a B. BEAUFRÈRE, 1997. Splanchnic and whole-body leucine kinetics in young and elderly men. *The American Journal of Clinical Nutrition* [online]. **65**(2), 489–495. ISSN 0002-9165. Dostupné z: doi:10.1093/ajcn/65.2.489
16. BOROWITZ, D., 1996. The interrelationship of nutrition and pulmonary function in patients with cystic fibrosis. *Current Opinion in Pulmonary Medicine*. **2**(6), 457–461. ISSN 1070-5287.
17. BOUCHER, R. C., 2004. New concepts of the pathogenesis of cystic fibrosis lung disease. *The European Respiratory Journal*. **23**(1), 146–158. ISSN 0903-1936.
18. BREUER, Oded, Daan CAUDRI, Stephen STICK a Lidija TURKOVIC, 2018. Predicting disease progression in cystic fibrosis. *Expert Review of Respiratory Medicine* [online]. **12**(11), 905–917. ISSN 1747-6356. Dostupné z: doi:10.1080/17476348.2018.1519400
19. BRIGELIUS-FLOHÉ, Regina a Leopold FLOHÉ, 2020. Regulatory Phenomena in the Glutathione Peroxidase Superfamily. *Antioxidants & Redox Signaling* [online]. **33**(7), 498–516. ISSN 1557-7716. Dostupné z: doi:10.1089/ars.2019.7905
20. BRINKMANN, Folke, Beatrice HANUSCH, Manfred BALLMANN, Sebene MAYORANDAN, Alexander BOLLENBACH, Kristine CHOBANYAN-JÜRGENS, Kathrin JANSEN, Anjona SCHMIDT-CHOUDHURY, Nico DERICHs, Dimitrios TSIKAS a Thomas LÜCKE, 2020. Activated L-Arginine/Nitric Oxide Pathway in Pediatric Cystic Fibrosis and Its Association with Pancreatic Insufficiency, Liver

Involvement and Nourishment: An Overview and New Results. *Journal of Clinical Medicine* [online]. **9**(6), E2012. ISSN 2077-0383. Dostupné z: doi:10.3390/jcm9062012

21. CARITÁ, Amanda Costa, Bruno FONSECA-SANTOS, Jemima Daniela SHULTZ, Bozena MICHNIAK-KOHN, Marlus CHORILLI a Gislaine Ricci LEONARDI, 2020. Vitamin C: One compound, several uses. Advances for delivery, efficiency and stability. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* [online]. **24**, 102117. ISSN 1549-9642. Dostupné z: doi:10.1016/j.nano.2019.102117

22. CASTALDO, Alice, Paola IACOTUCCI, Vincenzo CARNOVALE, Roberta CIMINO, Renato LIGUORI, Marika COMEGNA, Valeria RAIA, Gaetano CORSO, Giuseppe CASTALDO a Monica GELZO, 2020. Salivary Cytokines and Airways Disease Severity in Patients with Cystic Fibrosis. *Diagnostics (Basel, Switzerland)* [online]. **10**(4), E222. ISSN 2075-4418. Dostupné z: doi:10.3390/diagnostics10040222

23. CAUSER, Adam J., Janis K. SHUTE, Michael H. CUMMINGS, Anthony I. SHEPHERD, Mathieu GRUET, Joseph T. COSTELLO, Stephen BAILEY, Martin LINDLEY, Clare PEARSON, Gary CONNETT, Mark I. ALLENBY, Mary P. CARROLL, Thomas DANIELS a Zoe L. SAYNOR, 2020. Circulating biomarkers of antioxidant status and oxidative stress in people with cystic fibrosis: A systematic review and meta-analysis. *Redox Biology* [online]. **32**, 101436. ISSN 2213-2317. Dostupné z: doi:10.1016/j.redox.2020.101436

24. CAZZOLA, Mario, Ermanno PUXEDDU, Josuel ORA a Paola ROGLIANI, 2019. Evolving Concepts in Chronic Obstructive Pulmonary Disease Blood-Based Biomarkers. *Molecular Diagnosis & Therapy* [online]. **23**(5), 603–614. ISSN 1179-2000. Dostupné z: doi:10.1007/s40291-019-00413-1

25. CIOFU, Oana, Sherie SMITH a Jens LYKKESFELDT, 2019. Antioxidant supplementation for lung disease in cystic fibrosis. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* [online]. **10**, CD007020. ISSN 1469-493X. Dostupné z: doi:10.1002/14651858.CD007020.pub4

26. COLLINS, F. S., J. R. RIORDAN a L. C. TSUI, 1990. The cystic fibrosis gene: isolation and significance. *Hospital Practice (Office Ed.)*. **25**(10), 47–57. ISSN 8750-2836.

27. COMMITTEE ON GENETICS, AMERICAN COLLEGE OF OBSTETRICIANS AND GYNECOLOGISTS, 2005. ACOG Committee Opinion. Number 325, December 2005. Update on carrier screening for cystic fibrosis. *Obstetrics and Gynecology*. **106**(6), 1465–1468. ISSN 0029-7844.

28. DAVIDSON, Simon J., Shanti PARAMOTHAYAN a Margaret E. HODSON, 2009. Adult cystic fibrosis patients with and without infective exacerbations and their factor XII levels. *Blood Coagulation & Fibrinolysis: An International Journal in Haemostasis and Thrombosis* [online]. **20**(6), 400–402. ISSN 1473-5733. Dostupné z: doi:10.1097/MBC.0b013e3283249ac6

29. DEBRAY, Dominique, Deirdre KELLY, Roderick HOUWEN, Birgitta STRANDVIK a Carla COLOMBO, 2011. Best practice guidance for the diagnosis and management of cystic fibrosis-associated liver disease. *Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society* [online]. **10 Suppl 2**, S29-36. ISSN 1873-5010. Dostupné z: doi:10.1016/S1569-1993(11)60006-4



30. DONG, Kang, Kyung-Mee MOON, Virginia CHEN, Raymond NG, Leonard J. FOSTER, Scott J. TEBBUTT a Bradley S. QUON, 2019. Identification of novel blood biomarkers of treatment response in cystic fibrosis pulmonary exacerbations by label-free quantitative proteomics. *Scientific Reports* [online]. **9**(1), 17126. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-019-53759-1
31. DURYEE, Michael J., Lynell W. KLASSEN, Courtney S. SCHAFFERT, Dean J. TUMA, Carlos D. HUNTER, Robert P. GARVIN, Daniel R. ANDERSON a Geoffrey M. THIELE, 2010. Malondialdehyde-acetaldehyde adduct is the dominant epitope after MDA modification of proteins in atherosclerosis. *Free Radical Biology & Medicine* [online]. **49**(10), 1480–1486. ISSN 1873-4596. Dostupné z: doi:10.1016/j.freeradbiomed.2010.08.001
32. DUSHIANTHAN, Ahilanandan, Rebecca CUSACK, Victoria A. BURGESS, Michael Pw GROCCOTT a Philip C. CALDER, 2019. Immunonutrition for acute respiratory distress syndrome (ARDS) in adults. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* [online]. **1**, CD012041. ISSN 1469-493X. Dostupné z: doi:10.1002/14651858.CD012041.pub2
33. EKLUND, Kari K., K. NIEMI a P. T. KOVANEN, 2012. Immune functions of serum amyloid A. *Critical Reviews in Immunology* [online]. **32**(4), 335–348. ISSN 1040-8401. Dostupné z: doi:10.1615/critrevimmunol.v32.i4.40
34. ENGELLEN, Mariëlle P. K. J., Gulnur COM, Robert R. WOLFE a Nicolaas E. P. DEUTZ, 2013. Dietary essential amino acids are highly anabolic in pediatric patients with cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society* [online]. **12**(5), 445–453. ISSN 1873-5010. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcf.2012.12.011
35. ESTHER, Charles R., Raymond D. COAKLEY, Ashley G. HENDERSON, Yi-Hui ZHOU, Fred A. WRIGHT a Richard C. BOUCHER, 2015. Metabolomic Evaluation of Neutrophilic Airway Inflammation in Cystic Fibrosis. *Chest* [online]. **148**(2), 507–515. ISSN 1931-3543. Dostupné z: doi:10.1378/chest.14-1800
36. FAKHOURY, K., P. R. DURIE, H. LEVISON a G. J. CANNY, 1992. Meconium ileus in the absence of cystic fibrosis. *Archives of Disease in Childhood*. **67**(10 Spec No), 1204–1206. ISSN 1468-2044.
37. FERNANDEZ FERNANDEZ, Elena, Chiara DE SANTI, Virginia DE ROSE a Catherine M. GREENE, 2018. CFTR dysfunction in cystic fibrosis and chronic obstructive pulmonary disease. *Expert Review of Respiratory Medicine* [online]. **12**(6), 483–492. ISSN 1747-6356. Dostupné z: doi:10.1080/17476348.2018.1475235
38. FILA, Libor, 2014. Cystická fibróza u dospělých. *Interní medicína pro praxi*. **16**(2), 54–60. ISSN 12345678, 12345678.
39. FILA, Libor, Alžběta GRANDCOURTOVÁ, Jaroslav CHLÁDEK a Jaromír MUSIL, 2014. Oxidative stress in cystic fibrosis patients with Burkholderia cenocepacia airway colonization: relation of 8-isoprostane concentration in exhaled breath condensate to lung function decline. *Folia Microbiologica* [online]. **59**(3), 217–222. ISSN 1874-9356. Dostupné z: doi:10.1007/s12223-013-0285-z

40. FINKEL, T. a N. J. HOLBROOK, 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* [online]. **408**(6809), 239–247. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/35041687
41. FRIDGE, Jacqueline L., Carol CONRAD, Lauren GERSON, Ricardo O. CASTILLO a Kenneth COX, 2007. Risk factors for small bowel bacterial overgrowth in cystic fibrosis. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* [online]. **44**(2), 212–218. ISSN 1536-4801. Dostupné z: doi:10.1097/MPG.0b013e31802c0ceb
42. FUJITANI, K., T. TSUJINAKA, J. FUJITA, I. MIYASHIRO, H. IMAMURA, Y. KIMURA, K. KOBAYASHI, Y. KUROKAWA, T. SHIMOKAWA, H. FURUKAWA, a OSAKA GASTROINTESTINAL CANCER CHEMOTHERAPY STUDY GROUP, 2012. Prospective randomized trial of preoperative enteral immunonutrition followed by elective total gastrectomy for gastric cancer. *The British Journal of Surgery* [online]. **99**(5), 621–629. ISSN 1365-2168. Dostupné z: doi:10.1002/bjs.8706
43. FUKUDA, T., Y. SETO, K. YAMADA, N. HIKI, T. FUKUNAGA, S. OYAMA a T. YAMAGUCHI, 2008. Can immune-enhancing nutrients reduce postoperative complications in patients undergoing esophageal surgery? *Diseases of the Esophagus: Official Journal of the International Society for Diseases of the Esophagus* [online]. **21**(8), 708–711. ISSN 1442-2050. Dostupné z: doi:10.1111/j.1442-2050.2008.00861.x
44. GALLI, Francesco, Andrea BATTISTONI, Roberto GAMBARI, Alfonso POMPELLA, Alessandra BRAGONZI, Francesca PILOLLI, Luigi IULIANO, Marta PIRODDI, Maria Cristina DECHECCHI, Giulio CABRINI, a WORKING GROUP ON INFLAMMATION IN CYSTIC FIBROSIS, 2012. Oxidative stress and antioxidant therapy in cystic fibrosis. *Biochimica Et Biophysica Acta* [online]. **1822**(5), 690–713. ISSN 0006-3002. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbadis.2011.12.012
45. GARIĆ, Dušan, Daciana Catalina DUMUT, Juhi SHAH, Juan Bautista DE SANCTIS a Danuta RADZIOCH, 2020. The role of essential fatty acids in cystic fibrosis and normalizing effect of fenretinide. *Cellular and molecular life sciences: CMLS* [online]. **77**(21), 4255–4267. ISSN 1420-9071. Dostupné z: doi:10.1007/s00018-020-03530-x
46. GENESTET, Charlotte, Audrey LE GOUELLEC, Hichem CHAKER, Benoit POLACK, Benoit GUERY, Bertrand TOUSSAINT a Marie José STASIA, 2014. Scavenging of reactive oxygen species by tryptophan metabolites helps *Pseudomonas aeruginosa* escape neutrophil killing. *Free Radical Biology & Medicine* [online]. **73**, 400–410. ISSN 1873-4596. Dostupné z: doi:10.1016/j.freeradbiomed.2014.06.003
47. GETZ, Godfrey S., Paulette A. KRISHACK a Catherine A. REARDON, 2016. Serum amyloid A and atherosclerosis. *Current Opinion in Lipidology* [online]. **27**(5), 531–535. ISSN 1473-6535. Dostupné z: doi:10.1097/MOL.0000000000000331
48. GIRÓN-MORENO, Rosa Maria, José L. JUSTICIA, Sara YAMAMOTO, Claudia VALENZUELA, Carolina CISNEROS, Rosa Mar GÓMEZ-PUNTER, Gilda FERNANDES-VASCONCELOS a Julio ANCOCHEA, 2014. Role of C-reactive protein as a biomarker for prediction of the severity of pulmonary exacerbations in patients with cystic fibrosis. *BMC pulmonary medicine* [online]. **14**, 150. ISSN 1471-2466. Dostupné z: doi:10.1186/1471-2466-14-150

49. GRAHAM-MAAR, Rose C., Joan I. SCHALL, Nicolas STETTLER, Babette S. ZEMEL a Virginia A. STALLINGS, 2006. Elevated vitamin A intake and serum retinol in preadolescent children with cystic fibrosis. *The American Journal of Clinical Nutrition* [online]. **84**(1), 174–182. ISSN 0002-9165. Dostupné z: doi:10.1093/ajcn/84.1.174
50. GASEMANN, H., E. TULLIS a F. RATJEN, 2013. A randomized controlled trial of inhaled L-arginine in patients with cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society* [online]. **12**(5), 468–474. ISSN 1873-5010. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcf.2012.12.008
51. GASEMANN, Hartmut a Felix RATJEN, 2012. Nitric oxide and L-arginine deficiency in cystic fibrosis. *Current Pharmaceutical Design* [online]. **18**(5), 726–736. ISSN 1873-4286. Dostupné z: doi:10.2174/138161212799315911
52. GASEMANN, Hartmut, Raphael SCHWIERTZ, Corinna GASEMANN, Udo VESTER, Kurt RACKÉ a Felix RATJEN, 2006. Decreased systemic bioavailability of L-arginine in patients with cystic fibrosis. *Respiratory Research* [online]. **7**, 87. ISSN 1465-993X. Dostupné z: doi:10.1186/1465-9921-7-87
53. GRIMBLE, R. F. a G. K. GRIMBLE, 1998. Immunonutrition: role of sulfur amino acids, related amino acids, and polyamines. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)* [online]. **14**(7–8), 605–610. ISSN 0899-9007. Dostupné z: doi:10.1016/s0899-9007(98)80041-5
54. GRIMBLE, Robert F., 2006. The effects of sulfur amino acid intake on immune function in humans. *The Journal of Nutrition* [online]. **136**(6 Suppl), 1660S-1665S. ISSN 0022-3166. Dostupné z: doi:10.1093/jn/136.6.1660S
55. GUR, Michal, Yael BEN-DAVID, Moneera HANNA, Anat ILIVITZKI, Adi WEICHHENDLER, Ronen BAR-YOSEPH, Yazeed TOUKAN, Kamal MASARWEH a Lea BENTUR, 2021. The Association between IgG and Disease Severity Parameters in CF Patients. *Journal of Clinical Medicine* [online]. **10**(15), 3316. ISSN 2077-0383. Dostupné z: doi:10.3390/jcm10153316
56. HALLAY, J., G. KOVÁCS, S. KISS SZ, M. FARKAS, G. LAKOS, S. SIPKA, E. BODOLAY a P. SÁPY, 2002. Changes in the nutritional state and immune-serological parameters of esophagectomized patients fed jejunally with glutamine-poor and glutamine-rich nutrients. *Hepato-Gastroenterology*. **49**(48), 1555–1559. ISSN 0172-6390.
57. HAMOSH, A., S. C. FITZSIMMONS, M. MACEK, M. R. KNOWLES, B. J. ROSENSTEIN a G. R. CUTTING, 1998. Comparison of the clinical manifestations of cystic fibrosis in black and white patients. *The Journal of Pediatrics*. **132**(2), 255–259. ISSN 0022-3476.
58. HENDERSON, R. C. a B. B. SPECTER, 1994. Kyphosis and fractures in children and young adults with cystic fibrosis. *The Journal of Pediatrics* [online]. **125**(2), 208–212. ISSN 0022-3476. Dostupné z: doi:10.1016/s0022-3476(94)70194-6
59. HOLZE, Cathleen, Chloé MICHAUDEL, Claire MACKOWIAK, Darya A. HAAS, Christian BENDA, Philipp HUBEL, Friederike L. PENNEMANN, Daniel SCHNEPF, Jennifer WETTMARSHAUSEN, Marianne BRAUN, Daisy W. LEUNG, Gaya K. AMARASINGHE, Fabiana PEROCCHI, Peter STAEHELI, Bernhard RYFFEL a Andreas

- PICHLMAIR, 2018. Oxceptosis, a ROS-induced caspase-independent apoptosis-like cell-death pathway. *Nature Immunology* [online]. **19**(2), 130–140. ISSN 1529-2916. Dostupné z: doi:10.1038/s41590-017-0013-y
60. HUANG, Shirley H., Joan I. SCHALL, Babette S. ZEMEL a Virginia A. STALLINGS, 2006. Vitamin E status in children with cystic fibrosis and pancreatic insufficiency. *The Journal of Pediatrics* [online]. **148**(4), 556–559. ISSN 0022-3476. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpeds.2005.11.016
61. CHATTERJEE, Anupam, 2013. Reduced glutathione: a radioprotector or a modulator of DNA-repair activity? *Nutrients* [online]. **5**(2), 525–542. ISSN 2072-6643. Dostupné z: doi:10.3390/nu5020525
62. JACKSON, A. A., 1991. The glycine story. *European Journal of Clinical Nutrition*. **45**(2), 59–65. ISSN 0954-3007.
63. JAHLOOR, Farook, Asha BADALOO, Marvin REID a Terrence FORRESTER, 2006. Glycine production in severe childhood undernutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition* [online]. **84**(1), 143–149. ISSN 0002-9165. Dostupné z: doi:10.1093/ajcn/84.1.143
64. JAIN, Raksha, Arthur BAINES, Umer KHAN, Brandie D. WAGNER a Scott D. SAGEL, 2021. Evaluation of airway and circulating inflammatory biomarkers for cystic fibrosis drug development. *Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society* [online]. **20**(1), 50–56. ISSN 1873-5010. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcf.2020.06.017
65. JUNG, David, Kang DONG, Jiah JANG, Grace Y. LAM, Pearce G. WILCOX a Bradley S. QUON, 2021. Circulating CRP and calprotectin to diagnose CF pulmonary exacerbations. *Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society* [online]. **20**(1), 46–49. ISSN 1873-5010. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcf.2020.04.016
66. KATHRIACHCHIGE, Gayan, Christopher DALEY, Michael PALLIN, Kevan POLKINGHORNE a Paul T. KING, 2018. C-reactive protein levels in acute respiratory exacerbations of cystic fibrosis. *Internal Medicine Journal* [online]. **48**(11), 1392–1395. ISSN 1445-5994. Dostupné z: doi:10.1111/imj.14106
67. KEREM, E., J. REISMAN, M. COREY, G. J. CANNY a H. LEVISON, 1992. Prediction of mortality in patients with cystic fibrosis. *The New England Journal of Medicine* [online]. **326**(18), 1187–1191. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJM199204303261804
68. KHALAF, David, Marcus KRÜGER, Markus WEHLAND, Manfred INFANGER a Daniela GRIMM, 2019. The Effects of Oral l-Arginine and l-Citrulline Supplementation on Blood Pressure. *Nutrients* [online]. **11**(7), E1679. ISSN 2072-6643. Dostupné z: doi:10.3390/nu11071679
69. KIM, Suil a Jay A. NADEL, 2009. Fibrinogen binding to ICAM-1 promotes EGFR-dependent mucin production in human airway epithelial cells. *American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology* [online]. **297**(1), L174-183. ISSN 1522-1504. Dostupné z: doi:10.1152/ajplung.00032.2009

70. KONSTAN, Michael W., Wayne J. MORGAN, Steven M. BUTLER, David J. PASTA, Marcia L. CRAIB, Stefanie J. SILVA, Dennis C. STOKES, Mary Ellen B. WOHL, Jeffrey S. WAGENER, Warren E. REGELMANN, Charles A. JOHNSON, a SCIENTIFIC ADVISORY GROUP AND THE INVESTIGATORS AND COORDINATORS OF THE EPIDEMIOLOGIC STUDY OF CYSTIC FIBROSIS, 2007. Risk factors for rate of decline in forced expiratory volume in one second in children and adolescents with cystic fibrosis. *The Journal of Pediatrics* [online]. **151**(2), 134–139, 139.e1. ISSN 1097-6833. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpeds.2007.03.006
71. KŘENKOVÁ, Petra, Tereza PISKÁČKOVÁ, Andrea HOLUBOVÁ, Miroslava BALAŠČAKOVÁ, Veronika KRULIŠOVÁ, Jana ČAMAJOVÁ, Marek TURNOVEC, Malgorzata LIBIK, Patricia NORAMBUENA, Alexandra ŠTAMBERGOVÁ, Lenka DVORÁKOVÁ, Veronika SKALICKÁ, Jana BARTOŠOVÁ, Tereza KUČEROVÁ, Libor FILA, Dana ZEMKOVÁ, Věra VÁVROVÁ, Monika KOUDOVÁ, Milan MACEK, Alice KREBSOVÁ a Milan MACEK, 2013. Distribution of CFTR mutations in the Czech population: positive impact of integrated clinical and laboratory expertise, detection of novel/de novo alleles and relevance for related/derived populations. *Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society* [online]. **12**(5), 532–537. ISSN 1873-5010. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcf.2012.12.002
72. KUPPINGER, D., W. H. HARTL, M. BERTOK, J. M. HOFFMANN, J. CEDERBAUM, H. KÜCHENHOFF, K.-W. JAUCH a P. RITTLER, 2012. Nutritional screening for risk prediction in patients scheduled for abdominal operations. *The British Journal of Surgery* [online]. **99**(5), 728–737. ISSN 1365-2168. Dostupné z: doi:10.1002/bjs.8710
73. LAHIRI, Thomas, Sarah E. HEMPSTEAD, Cynthia BRADY, Carolyn L. CANNON, Kelli CLARK, Michelle E. CONDREN, Margaret F. GUILL, R. Paul GUILLERMAN, Christina G. LEONE, Karen MAGUINESS, Lisa MONCHIL, Scott W. POWERS, Margaret ROSENFELD, Sarah Jane SCHWARZENBERG, Connie L. TOMPKINS, Edith T. ZEMANICK a Stephanie D. DAVIS, 2016. Clinical Practice Guidelines From the Cystic Fibrosis Foundation for Preschoolers With Cystic Fibrosis. *Pediatrics* [online]. **137**(4), e20151784. ISSN 1098-4275. Dostupné z: doi:10.1542/peds.2015-1784
74. LE FLOC'H, Nathalie, Winfried OTTEN a Elodie MERLOT, 2011. Tryptophan metabolism, from nutrition to potential therapeutic applications. *Amino Acids* [online]. **41**(5), 1195–1205. ISSN 1438-2199. Dostupné z: doi:10.1007/s00726-010-0752-7
75. LEPARA, Zahid, Orhan LEPARA, Almir FAJKIĆ, Damir REBIĆ, Jasmin ALIĆ a Hajrudin SPAHOVIĆ, 2020. Serum malondialdehyde (MDA) level as a potential biomarker of cancer progression for patients with bladder cancer. *Romanian Journal of Internal Medicine = Revue Roumaine De Medecine Interne* [online]. **58**(3), 146–152. ISSN 2501-062X. Dostupné z: doi:10.2478/rjim-2020-0008
76. LOH, Geoffrey, Ilya RYABOY, Andrew SKABELUND a Alicia FRENCH, 2018. Procalcitonin, erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in acute pulmonary exacerbations of cystic fibrosis. *The Clinical Respiratory Journal* [online]. **12**(4), 1545–1549. ISSN 1752-699X. Dostupné z: doi:10.1111/crj.12703
77. LUKACS, Gergely L. a Peter R. DURIE, 2003. Pharmacologic approaches to correcting the basic defect in cystic fibrosis. *The New England Journal of Medicine* [online]. **349**(15), 1401–1404. ISSN 1533-4406. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMp038113

78. MANNINO, David M., Deepa VALVI, Hana MULLEROVA a Ruth TAL-SINGER, 2012. Fibrinogen, COPD and mortality in a nationally representative U.S. cohort. *COPD* [online]. **9**(4), 359–366. ISSN 1541-2563. Dostupné z: doi:10.3109/15412555.2012.668249
79. MARCOS, A., 1997. The immune system in eating disorders: an overview. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)* [online]. **13**(10), 853–862. ISSN 0899-9007. Dostupné z: doi:10.1016/s0899-9007(97)00272-4
80. MARHAUG, G., H. PERMIN a G. HUSBY, 1983. Amyloid-related serum protein (SAA) as an indicator of lung infection in cystic fibrosis. *Acta Paediatrica Scandinavica* [online]. **72**(6), 861–866. ISSN 0001-656X. Dostupné z: doi:10.1111/j.1651-2227.1983.tb09831.x
81. MARIMUTHU, Kanagaraj, Krishna K. VARADHAN, Olle LJUNGQVIST a Dileep N. LOBO, 2012. A meta-analysis of the effect of combinations of immune modulating nutrients on outcome in patients undergoing major open gastrointestinal surgery. *Annals of Surgery* [online]. **255**(6), 1060–1068. ISSN 1528-1140. Dostupné z: doi:10.1097/SLA.0b013e318252edf8
82. MARION-LETELLIER, Rachel, Guillaume SAVOYE a Subrata GHOSH, 2015. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *IUBMB life* [online]. **67**(9), 659–667. ISSN 1521-6551. Dostupné z: doi:10.1002/iub.1428
83. MATOUK, Elias, Dao NGUYEN, Andrea BENEDETTI, Joanie BERNIER, James GRUBER, Jennifer LANDRY, Simon ROUSSEAU, Heather G. AHLGREN, Larry C. LANDS, Gabriella WOJEWODKA a Danuta RADZIOCH, 2016. C-Reactive Protein in Stable Cystic Fibrosis: An Additional Indicator of Clinical Disease Activity and Risk of Future Pulmonary Exacerbations. *Journal of Pulmonary & Respiratory Medicine* [online]. **6**(5), 1000375. ISSN 2161-105X. Dostupné z: doi:10.4172/2161-105X.1000375
84. MATSUDA, Yasunori, Daiki HABU, Sigeru LEE, Satoru KISHIDA a Harushi OSUGI, 2017. Enteral Diet Enriched with  $\omega$ -3 Fatty Acid Improves Oxygenation After Thoracic Esophagectomy for Cancer: A Randomized Controlled Trial. *World Journal of Surgery* [online]. **41**(6), 1584–1594. ISSN 1432-2323. Dostupné z: doi:10.1007/s00268-017-3893-y
85. MCNEAL, Catherine J., Cynthia J. MEININGER, Deepika REDDY, Colin D. WILBORN a Guoyao WU, 2016. Safety and Effectiveness of Arginine in Adults. *The Journal of Nutrition* [online]. **146**(12), 2587S-2593S. ISSN 1541-6100. Dostupné z: doi:10.3945/jn.116.234740
86. MILLER, Bruce E., Ruth TAL-SINGER, Stephen I. RENNARD, Armin FURTWAENGLER, Nancy LEIDY, Michael LOWINGS, Ubaldo J. MARTIN, Thomas R. MARTIN, Debora D. MERRILL, Jeffrey SNYDER, John WALSH a David M. MANNINO, 2016. Plasma Fibrinogen Qualification as a Drug Development Tool in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Perspective of the Chronic Obstructive Pulmonary Disease Biomarker Qualification Consortium. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* [online]. **193**(6), 607–613. ISSN 1535-4970. Dostupné z: doi:10.1164/rccm.201509-1722PP

87. MORRIS, Claudia R., Jill HAMILTON-REEVES, Robert G. MARTINDALE, Menaka SARAV a Juan B. OCHOA GAUTIER, 2017. Acquired Amino Acid Deficiencies: A Focus on Arginine and Glutamine. *Nutrition in Clinical Practice: Official Publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition* [online]. **32**(1\_suppl), 30S-47S. ISSN 1941-2452. Dostupné z: doi:10.1177/0884533617691250
88. MOSKOWITZ, SM, 2010. *CFTR-related disorders* [online]. 25. únor 2010. Dostupné z: www.genetests.org
89. MOTT, Lauren S., Judy PARK, Conor P. MURRAY, Catherine L. GANGELL, Nicholas H. DE KLERK, Philip J. ROBINSON, Colin F. ROBERTSON, Sarath C. RANGANATHAN, Peter D. SLY, Stephen M. STICK, a AREST CF, 2012. Progression of early structural lung disease in young children with cystic fibrosis assessed using CT. *Thorax* [online]. **67**(6), 509–516. ISSN 1468-3296. Dostupné z: doi:10.1136/thoraxjnl-2011-200912
90. MUHLEBACH, Marianne S., J. P. CLANCY, Sonya L. HELTSHE, Assem ZIADY, Tom KELLEY, Frank ACCURSO, Joseph PILEWSKI, Nicole MAYER-HAMBLETT, Elizabeth JOSELOFF a Scott D. SAGEL, 2016. Biomarkers for cystic fibrosis drug development. *Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society* [online]. **15**(6), 714–723. ISSN 1873-5010. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcf.2016.10.009
91. NGAN, David A., Pearce G. WILCOX, May ALDAABIL, Yuexin LI, Jonathon A. LEIPSIC, Don D. SIN a S. F. Paul MAN, 2012. The relationship of systemic inflammation to prior hospitalization in adult patients with cystic fibrosis. *BMC pulmonary medicine* [online]. **12**, 3. ISSN 1471-2466. Dostupné z: doi:10.1186/1471-2466-12-3
92. NIKOLAIDIS, Michalis G., Antonios KYPAROS a Ioannis S. VRABAS, 2011. F<sub>2</sub>-isoprostane formation, measurement and interpretation: the role of exercise. *Progress in Lipid Research* [online]. **50**(1), 89–103. ISSN 1873-2194. Dostupné z: doi:10.1016/j.plipres.2010.10.002
93. PAATS, Marthe S., Ingrid M. BERGEN, Marleen BAKKER, Rogier A. S. HOEK, Karin J. NIETZMAN-LAMMERING, Henk C. HOOGSTEDEN, Rudi W. HENDRIKS a Menno M. VAN DER EERDEN, 2013. Cytokines in nasal lavages and plasma and their correlation with clinical parameters in cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society* [online]. **12**(6), 623–629. ISSN 1873-5010. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcf.2013.05.002
94. PALMER, Gregory C., Peter A. JORTH a Marvin WHITELEY, 2013. The role of two *Pseudomonas aeruginosa* anthranilate synthases in tryptophan and quorum signal production. *Microbiology (Reading, England)* [online]. **159**(Pt 5), 959–969. ISSN 1465-2080. Dostupné z: doi:10.1099/mic.0.063065-0
95. PALOVA, S., J. CHARVAT, J. MASOPUST, E. KLAPKOVA a M. KVAPIL, 2007. Changes in the plasma amino acid profile in anorexia nervosa. *The Journal of International Medical Research* [online]. **35**(3), 389–394. ISSN 0300-0605. Dostupné z: doi:10.1177/147323000703500314
96. PINCIKOVA, T., D. PAQUIN-PROULX, J. K. SANDBERG, M. FLODSTRÖM-TULLBERG a L. HJELTE, 2017. Vitamin D treatment modulates immune activation in

cystic fibrosis. *Clinical and Experimental Immunology* [online]. **189**(3), 359–371. ISSN 1365-2249. Dostupné z: doi:10.1111/cei.12984

97. PIRILLO, Angela a Alberico Luigi CATAPANO, 2015. Update on the management of severe hypertriglyceridemia--focus on free fatty acid forms of omega-3. *Drug Design, Development and Therapy* [online]. **9**, 2129–2137. ISSN 1177-8881. Dostupné z: doi:10.2147/DDDT.S67551

98. QUINN, Peter J., 2007. Molecular associations of vitamin E. *Vitamins and Hormones* [online]. **76**, 67–98. ISSN 0083-6729. Dostupné z: doi:10.1016/S0083-6729(07)76004-1

99. QUON, Bradley S., David A. NGAN, Pearce G. WILCOX, S. F. Paul MAN a Don D. SIN, 2014. Plasma sCD14 as a biomarker to predict pulmonary exacerbations in cystic fibrosis. *PloS One* [online]. **9**(2), e89341. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0089341

100. RADRIZZANI, D., G. BERTOLINI, R. FACCHINI, B. SIMINI, P. BRUZZONE, G. ZANFORLIN, G. TOGNONI a G. IAPICHINO, 2006. Early enteral immunonutrition vs. parenteral nutrition in critically ill patients without severe sepsis: a randomized clinical trial. *Intensive Care Medicine* [online]. **32**(8), 1191–1198. ISSN 0342-4642. Dostupné z: doi:10.1007/s00134-006-0238-y

101. RASHID, Jahidur, Shaun S. KUMAR, Kathleen M. JOB, Xiaoxi LIU, Candice D. FIKE a Catherine M. T. SHERWIN, 2020. Therapeutic Potential of Citrulline as an Arginine Supplement: A Clinical Pharmacology Review. *Paediatric Drugs* [online]. **22**(3), 279–293. ISSN 1179-2019. Dostupné z: doi:10.1007/s40272-020-00384-5

102. REIHILL, James A., Michelle MORELAND, Gavin E. JARVIS, Andrew MCDOWELL, Gisli G. EINARSSON, J. Stuart ELBORN a S. Lorraine MARTIN, 2017. Bacterial proteases and haemostasis dysregulation in the CF lung. *Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society* [online]. **16**(1), 49–57. ISSN 1873-5010. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcf.2016.10.006

103. REILLY, J. J., C. A. EDWARDS a L. T. WEAVER, 1997. Malnutrition in children with cystic fibrosis: the energy-balance equation. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* [online]. **25**(2), 127–136. ISSN 0277-2116. Dostupné z: doi:10.1097/00005176-199708000-00001

104. REVERRI, Elizabeth J., Brian M. MORRISSEY, Carroll E. CROSS a Francene M. STEINBERG, 2014. Inflammation, oxidative stress, and cardiovascular disease risk factors in adults with cystic fibrosis. *Free Radical Biology & Medicine* [online]. **76**, 261–277. ISSN 1873-4596. Dostupné z: doi:10.1016/j.freeradbiomed.2014.08.005

105. ROBERTS, James M., Darlene L. Y. DAI, Zsuzsanna HOLLANDER, Raymond T. NG, Scott J. TEBBUTT, Pearce G. WILCOX, Don D. SIN a Bradley S. QUON, 2018. Multiple reaction monitoring mass spectrometry to identify novel plasma protein biomarkers of treatment response in cystic fibrosis pulmonary exacerbations. *Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society* [online]. **17**(3), 333–340. ISSN 1873-5010. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcf.2017.10.013



106. ROBERTS, L. Jackson a Ginger L. MILNE, 2009. Isoprostanes. *Journal of Lipid Research* [online]. **50 Suppl**, S219-223. ISSN 0022-2275. Dostupné z: doi:10.1194/jlr.R800037-JLR200
107. ROSENBERG, Sharon R. a Ravi KALHAN, 2012. Biomarkers in chronic obstructive pulmonary disease. *Translational Research: The Journal of Laboratory and Clinical Medicine* [online]. **159**(4), 228–237. ISSN 1878-1810. Dostupné z: doi:10.1016/j.trsl.2012.01.019
108. ROWNTREE, Rebecca K. a Ann HARRIS, 2003. The phenotypic consequences of CFTR mutations. *Annals of Human Genetics*. **67**(Pt 5), 471–485. ISSN 0003-4800.
109. SAGEL, Scott D., James F. CHMIEL a Michael W. KONSTAN, 2007. Sputum biomarkers of inflammation in cystic fibrosis lung disease. *Proceedings of the American Thoracic Society* [online]. **4**(4), 406–417. ISSN 1546-3222. Dostupné z: doi:10.1513/pats.200703-044BR
110. SAGEL, Scott D., Brandie D. WAGNER, Assem ZIADY, Tom KELLEY, John P. CLANCY, Monica NARVAEZ-RIVAS, Joseph PILEWSKI, Elizabeth JOSELOFF, Wei SHA, Leila ZELNICK, Kenneth D. R. SETCHELL, Sonya L. HELTSHE a Marianne S. MUHLEBACH, 2020. Utilizing centralized biorepository samples for biomarkers of cystic fibrosis lung disease severity. *Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society* [online]. **19**(4), 632–640. ISSN 1873-5010. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcf.2019.12.007
111. SASAKI, Shruti a Shuling GUO, 2018. Nucleic Acid Therapies for Cystic Fibrosis. *Nucleic Acid Therapeutics* [online]. **28**(1), 1–9. ISSN 2159-3345. Dostupné z: doi:10.1089/nat.2017.0696
112. SCOTT, Jeremy A., Harm MAARSINGH, Fernando HOLGUIN a Hartmut GRASEMANN, 2021. Arginine Therapy for Lung Diseases. *Frontiers in Pharmacology* [online]. **12**, 627503. ISSN 1663-9812. Dostupné z: doi:10.3389/fphar.2021.627503
113. SCOTT, L. Keith a Robert TONER, 2017. Clinically Promising Biomarkers in Cystic Fibrosis Pulmonary Exacerbations. *Lung* [online]. **195**(4), 397–401. ISSN 1432-1750. Dostupné z: doi:10.1007/s00408-017-0024-3
114. SEQUEIROS, Iara Maria a Nabil JARAD, 2012. Factors associated with a shorter time until the next pulmonary exacerbation in adult patients with cystic fibrosis. *Chronic Respiratory Disease* [online]. **9**(1), 9–16. ISSN 1479-9731. Dostupné z: doi:10.1177/1479972311433575
115. SHIMMIN, Deirdre, Jacqueline LOWDON a Tracey REMMINGTON, 2019. Enteral tube feeding for cystic fibrosis. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* [online]. **7**, CD001198. ISSN 1469-493X. Dostupné z: doi:10.1002/14651858.CD001198.pub5
116. SHMARINA, G. V., A. L. PUKHALSKY, S. N. KOKAROVTSOVA, D. A. PUKHALSKAYA, E. A. KALASHNIKOVA, N. I. KAPRANOV a N. J. KASHIRSKAJA, 2001. Improvement of nutrient absorption may enhance systemic oxidative stress in cystic fibrosis patients. *Mediators of Inflammation* [online]. **10**(2), 61–67. ISSN 0962-9351. Dostupné z: doi:10.1080/09629350120054527

117. SHOKI, Alborz Hakimi, Nicole MAYER-HAMBLETT, Pearce G. WILCOX, Don D. SIN a Bradley S. QUON, 2013. Systematic review of blood biomarkers in cystic fibrosis pulmonary exacerbations. *Chest* [online]. **144**(5), 1659–1670. ISSN 1931-3543. Dostupné z: doi:10.1378/chest.13-0693
118. SHTEINBERG, Michal a Jennifer L. TAYLOR-COUSAR, 2020. Impact of CFTR modulator use on outcomes in people with severe cystic fibrosis lung disease. *European Respiratory Review: An Official Journal of the European Respiratory Society* [online]. **29**(155), 190112. ISSN 1600-0617. Dostupné z: doi:10.1183/16000617.0112-2019
119. SIMPSON, Thomas, Caroline ELSTON, Patricia MACEDO a Felicity PERRIN, 2019. Amyloidosis in cystic fibrosis. *Paediatric Respiratory Reviews* [online]. **31**, 32–34. ISSN 1526-0550. Dostupné z: doi:10.1016/j.prrv.2019.04.007
120. SLOBODIANIK, N. H., M. S. FELIU, P. PERRIS, S. BARBEITO, I. STRASNOY, A. FRANCHELLO a M. FERRARO, 2010. Inflammatory biomarker profile in children with cystic fibrosis: preliminary study. *The Proceedings of the Nutrition Society* [online]. **69**(3), 354–356. ISSN 1475-2719. Dostupné z: doi:10.1017/S0029665110001771
121. SLY, Peter D., Catherine L. GANGELL, Linping CHEN, Robert S. WARE, Sarath RANGANATHAN, Lauren S. MOTT, Conor P. MURRAY, Stephen M. STICK, a AREST CF INVESTIGATORS, 2013. Risk factors for bronchiectasis in children with cystic fibrosis. *The New England Journal of Medicine* [online]. **368**(21), 1963–1970. ISSN 1533-4406. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa1301725
122. STARR, Matthew R., Suzanne M. NORBY, John P. SCOTT a Sophie J. BAKRI, 2018. Acute retinal vein occlusion and cystic fibrosis. *International Journal of Retina and Vitreous* [online]. **4**, 26. ISSN 2056-9920. Dostupné z: doi:10.1186/s40942-018-0129-8
123. STICK, Stephen M., Siobhain BRENNAN, Conor MURRAY, Tonia DOUGLAS, Britta S. VON UNGERN-STERNBERG, Luke W. GARRATT, Catherine L. GANGELL, Nicholas DE KLERK, Barry LINNANE, Sarath RANGANATHAN, Phillip ROBINSON, Colin ROBERTSON, Peter D. SLY, a AUSTRALIAN RESPIRATORY EARLY SURVEILLANCE TEAM FOR CYSTIC FIBROSIS (AREST CF), 2009. Bronchiectasis in infants and preschool children diagnosed with cystic fibrosis after newborn screening. *The Journal of Pediatrics* [online]. **155**(5), 623-628.e1. ISSN 1097-6833. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpeds.2009.05.005
124. STONEBRAKER, Jaelyn R., Chee Y. OOI, Rhonda G. PACE, Harriet CORVOL, Michael R. KNOWLES, Peter R. DURIE a Simon C. LING, 2016. Features of Severe Liver Disease With Portal Hypertension in Patients With Cystic Fibrosis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology: The Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association* [online]. **14**(8), 1207-1215.e3. ISSN 1542-7714. Dostupné z: doi:10.1016/j.cgh.2016.03.041
125. TAKEUCHI, Hiroya, Shunji IKEUCHI, Yoshiki KAWAGUCHI, Yuko KITAGAWA, Yoh ISOBE, Kiyoshi KUBOCHI, Masaki KITAJIMA a Sumio MATSUMOTO, 2007. Clinical significance of perioperative immunonutrition for patients with esophageal cancer. *World Journal of Surgery* [online]. **31**(11), 2160–2167. ISSN 0364-2313. Dostupné z: doi:10.1007/s00268-007-9219-8

126. TANGPRICHA, V., A. KELLY, A. STEPHENSON, K. MAGUINESS, J. ENDERS, K. A. ROBINSON, B. C. MARSHALL, D. BOROWITZ, a CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION VITAMIN D EVIDENCE-BASED REVIEW COMMITTEE, 2012. An update on the screening, diagnosis, management, and treatment of vitamin D deficiency in individuals with cystic fibrosis: evidence-based recommendations from the Cystic Fibrosis Foundation. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* [online]. **97**(4), 1082–1093. ISSN 1945-7197. Dostupné z: doi:10.1210/jc.2011-3050
127. TERHEGGEN-LAGRO, S. W. J., G. T. RIJKERS a C. K. VAN DER ENT, 2005. The role of airway epithelium and blood neutrophils in the inflammatory response in cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society* [online]. **4 Suppl 2**, 15–23. ISSN 1569-1993. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcf.2005.05.007
128. TOWNSEND, Danyelle M., Kenneth D. TEW a Haim TAPIERO, 2003. The importance of glutathione in human disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie* [online]. **57**(3–4), 145–155. ISSN 0753-3322. Dostupné z: doi:10.1016/s0753-3322(03)00043-x
129. TUCKER, Matthew A., Brandon M. FOX, Nichole SEIGLER, Paula RODRIGUEZ-MIGUELEZ, Jacob LOONEY, Jeffrey THOMAS, Kathleen T. MCKIE, Caralee FORSEEN, Gareth W. DAVISON a Ryan A. HARRIS, 2019. Endothelial Dysfunction in Cystic Fibrosis: Role of Oxidative Stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [online]. **2019**, 1629638. ISSN 1942-0994. Dostupné z: doi:10.1155/2019/1629638
130. UCHIDA, Koji, 2003. 4-Hydroxy-2-nonenal: a product and mediator of oxidative stress. *Progress in Lipid Research* [online]. **42**(4), 318–343. ISSN 0163-7827. Dostupné z: doi:10.1016/s0163-7827(03)00014-6
131. VALVI, Deepa, David M. MANNINO, Hana MÜLLEROVA a Ruth TAL-SINGER, 2012. Fibrinogen, chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and outcomes in two United States cohorts. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease* [online]. **7**, 173–182. ISSN 1178-2005. Dostupné z: doi:10.2147/COPD.S29892
132. VAN BRAGT, Job J. M. H., Susanne J. H. VIJVERBERG, Els J. M. WEERSINK, Levi B. RICHARDS, Anne H. NEERINCX, Peter J. STERK, Elisabeth H. D. BEL a Anke H. MAITLAND-VAN DER ZEE, 2018. Blood biomarkers in chronic airways diseases and their role in diagnosis and management. *Expert Review of Respiratory Medicine* [online]. **12**(5), 361–374. ISSN 1747-6356. Dostupné z: doi:10.1080/17476348.2018.1457440
133. VASDEV, Sudesh a Vicki GILL, 2008. The antihypertensive effect of arginine. *The International Journal of Angiology: Official Publication of the International College of Angiology, Inc* [online]. **17**(1), 7–22. ISSN 1061-1711. Dostupné z: doi:10.1055/s-0031-1278274
134. VÁVROVÁ, Věra, 2006. *Cystická fibróza*. B.m.: Grada Publishing. ISBN 80-247-0531-1.
135. VIETRI, Lucia, Annalisa FUI, Laura BERGANTINI, Miriana D’ALESSANDRO, Paolo CAMELI, Piersante SESTINI, Paola ROTTOLI a Elena BARGAGLI, 2020. Serum amyloid A: A potential biomarker of lung disorders. *Respiratory Investigation* [online]. **58**(1), 21–27. ISSN 2212-5353. Dostupné z: doi:10.1016/j.resinv.2019.09.005

136. WALKER, Mark C. a Wilfred A. VAN DER DONK, 2016. The many roles of glutamate in metabolism. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* [online]. **43**(2–3), 419–430. ISSN 1476-5535. Dostupné z: doi:10.1007/s10295-015-1665-y
137. WATERS, Valerie a Felix RATJEN, 2008. Combination antimicrobial susceptibility testing for acute exacerbations in chronic infection of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* [online]. (3), CD006961. ISSN 1469-493X. Dostupné z: doi:10.1002/14651858.CD006961.pub2
138. WATSON, Helen a Caroline STACKHOUSE, 2020. Omega-3 fatty acid supplementation for cystic fibrosis. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* [online]. **4**, CD002201. ISSN 1469-493X. Dostupné z: doi:10.1002/14651858.CD002201.pub6
139. WEBB, Nancy R., 2021. High-Density Lipoproteins and Serum Amyloid A (SAA). *Current Atherosclerosis Reports* [online]. **23**(2), 7. ISSN 1534-6242. Dostupné z: doi:10.1007/s11883-020-00901-4
140. WILSON, D. C. a P. B. PENCHARZ, 1998. Nutrition and cystic fibrosis. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)* [online]. **14**(10), 792–795. ISSN 0899-9007. Dostupné z: doi:10.1016/s0899-9007(98)00086-0
141. WINE, J. J., 1999. The genesis of cystic fibrosis lung disease. *The Journal of Clinical Investigation* [online]. **103**(3), 309–312. ISSN 0021-9738. Dostupné z: doi:10.1172/JCI6222
142. WOJEWODKA, Gabriella, Juan B. DE SANCTIS, Joanie BERNIER, Julie BÉRUBÉ, Heather G. AHLGREN, Jim GRUBER, Jennifer LANDRY, Larry C. LANDS, Dao NGUYEN, Simon ROUSSEAU, Andrea BENEDETTI, Elias MATOUK a Danuta RADZIOCH, 2014. Candidate markers associated with the probability of future pulmonary exacerbations in cystic fibrosis patients. *PloS One* [online]. **9**(2), e88567. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0088567
143. WONG, Francis H., Asmahan ABUARISH, Elizabeth MATTHES, Mark J. TURNER, Lana E. GREENE, Alexandre CLOUTIER, Renaud ROBERT, David Y. THOMAS, Gonzalo COSA, André M. CANTIN a John W. HANRAHAN, 2018. Cigarette smoke activates CFTR through ROS-stimulated cAMP signaling in human bronchial epithelial cells. *American Journal of Physiology. Cell Physiology* [online]. **314**(1), C118–C134. ISSN 1522-1563. Dostupné z: doi:10.1152/ajpcell.00099.2017
144. WU, Yu-Sheng, Janet JIANG, Saumel AHMADI, Alexandria LEW, Onofrio LASELVA, Sunny XIA, Claire BARTLETT, Wan IP, Leigh WELLHAUSER, Hong OUYANG, Tanja GONSKA, Theo J. MORAES a Christine E. BEAR, 2019. ORKAMBI-Mediated Rescue of Mucociliary Clearance in Cystic Fibrosis Primary Respiratory Cultures Is Enhanced by Arginine Uptake, Arginase Inhibition, and Promotion of Nitric Oxide Signaling to the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Channel. *Molecular Pharmacology* [online]. **96**(4), 515–525. ISSN 1521-0111. Dostupné z: doi:10.1124/mol.119.117143
145. ZEMANICK, Edith T., J. Kirk HARRIS, Steven CONWAY, Michael W. KONSTAN, Bruce MARSHALL, Alexandra L. QUITTNER, George RETSCHBOGART, Lisa SAIMAN a Frank J. ACCURSO, 2010. Measuring and improving

respiratory outcomes in cystic fibrosis lung disease: opportunities and challenges to therapy. *Journal of Cystic Fibrosis: Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society* [online]. **9**(1), 1–16. ISSN 1873-5010. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcf.2009.09.003

146. ZEMEL, B. S., A. F. JAWAD, S. FITZSIMMONS a V. A. STALLINGS, 2000. Longitudinal relationship among growth, nutritional status, and pulmonary function in children with cystic fibrosis: analysis of the Cystic Fibrosis Foundation National CF Patient Registry. *The Journal of Pediatrics* [online]. **137**(3), 374–380. ISSN 0022-3476. Dostupné z: doi:10.1067/mpd.2000.107891

147. ZHANG, Yan, Jie ZHANG, Huiming SHENG, Haichuan LI a Rongfang WANG, 2019. Acute phase reactant serum amyloid A in inflammation and other diseases. *Advances in Clinical Chemistry* [online]. **90**, 25–80. ISSN 2162-9471. Dostupné z: doi:10.1016/bs.acc.2019.01.002

148. ZHOU, Bo, Shufang LIU, Danni HE, Kundi WANG, Yunfeng WANG, Ting YANG, Qi ZHANG, Zhixin ZHANG a Wenquan NIU, 2020. Fibrinogen is a promising biomarker for chronic obstructive pulmonary disease: evidence from a meta-analysis. *Bioscience Reports* [online]. **40**(7), BSR20193542. ISSN 1573-4935. Dostupné z: doi:10.1042/BSR20193542

149. ZIELENSKI, J. a L. C. TSUI, 1995. Cystic fibrosis: genotypic and phenotypic variations. *Annual Review of Genetics* [online]. **29**, 777–807. ISSN 0066-4197. Dostupné z: doi:10.1146/annurev.ge.29.120195.004021

## 12 Dodatek disertační práce – seznam publikací autora práce

### 12.1 Publikace, které jsou podkladem disertační práce

#### 12.1.1 S IF

HLOCH O, CHARVAT J, FILA L a HAVLIN J, 2017. Immunonutrition in patients with cystic fibrosis leads to drop of serum amyloid A and increase of oxidative stress. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition* [online]. **60**(3), 176–179. ISSN 0912-0009. Dostupné z: doi:10.3164/jcbn.16-83

HLOCH O, FILA L, HAVLIN J, CHARVAT J, PALOVA S, 2022. Significance of plasma fibrinogen and malonyldialdehyde in the post-inflammatory period in patients with cystic fibrosis. *Bratislava Medical Journal*. No. 2236/2021 Dostupné z doi:10.4149/BLL\_2022\_25

#### 12.1.2 BEZ IF

HLOCH O, FILA L, HAVLIN J, CHARVAT J, PALOVA S, 2018. The Changes of Plasma Amino Acids and Lipid Profiles in Patients with Cystic Fibrosis and Malnutrition induced by Immunonutrition. *J Nutr Disorders Ther* 2018, 8:4

#### 12.1.3 Posterová sdělení

LISOVA, K., O. HLOCH a J. CHARVAT, 2014. PP118-SUN: Outstanding abstract: The Effect of Immunonutrition on Serum Amyloid a in Patients with Cystic Fibrosis. *Clinical Nutrition* [online]. **33**, S63–S64. ISSN 02615614. Dostupné z: doi:10.1016/S0261-5614(14)50160-4

HLOCH, O., J. CHARVAT a J. HAVLIN, 2016. MON-P091: The Impact of Immunonutrition on Serum Aminoacidogram in the Patients with Cystic Fibrosis and Malnutrition. *Clinical Nutrition* [online]. **35**, S186–S187. ISSN 02615614. Dostupné z: doi:10.1016/S0261-5614(16)30725-7

## 12.2 Publikace bez vztahu k tématu disertační práce

### 12.2.1 S IF

HLOCH, Ondřej, Jiri CHARVAT, Jiri MASOPUST a Jan HAVLIN, 2012. Lactic acidosis in medical ICU - the role of diabetes mellitus and metformin. *Neuro Endocrinology Letters*. **33**(8), 792–795. ISSN 0172-780X.

ŽIDKOVÁ, Monika, Rachel HORSLEY, Ondřej HLOCH a Tomáš HLOŽEK, 2019. Near-fatal Intoxication with the „New" Synthetic Opioid U-47700: The First Reported Case in the Czech Republic. *Journal of Forensic Sciences* [online]. **64**(2), 647–650. ISSN 1556-4029. Dostupné z: doi:10.1111/1556-4029.13903

PAVELKOVA, Katerina, Katerina LIŠOVA, Petra BLAHOVA, Dana MOKRA, Ondřej HLOCH a Jiri CHARVAT, 2020. Comparison of 12-cm versus 6-cm long peripheral catheters in patients with difficult intravenous access (DIVA). *The Journal of Vascular Access* [online]. 1129729820983151. ISSN 1724-6032. Dostupné z: doi:10.1177/1129729820983151

### 12.2.2 Bez IF

HLOCH, O, MOKRA D, MASOPUST J, HASA J a CHARVAT J, 2014a. Antibiotic treatment following a dog bite in an immunocompromized patient in order to prevent *Capnocytophaga canimorsus* infection: a case report. *BMC research notes* [online]. **7**, 432. ISSN 1756-0500. Dostupné z: doi:10.1186/1756-0500-7-432

HLOCH, O, GLADIŠOVÁ D a HORÁČKOVÁ M, 2014b. Purple urine bag syndrome - rare but substantial symptom of urinary infection. *Vnitřní Lekarství*. **60**(5–6), 512–513. ISSN 0042-773X.

MASOPUST J, CHARVÁT J, MOKRÁ D, HLOCH O a HÁŠA J, 2015. Hypersensitive reaction after application of heparin with activation heparin induced trombocytopenia in initiation of intermittent haemodialysis. *Vnitřní Lekarství*. **61**(3), 260–263. ISSN 0042-773X.

### 12.2.3 **Posterová sdělení**

2011 ESPEN 33rd Congress of Clinical Nutrition and Metabolism Gothenburg,  
aktivní účast, oceněn: ESPEN Best Abstracts 2011 & ESPEN Travel Awards

**PP023MON The impact of diabetes mellitus on clinical significance of lactic acidosis**

O. Hloch, J. Charvat, J. Hasa, J. Havlin, J. Masopust

### 12.2.4 **Přednášková sdělení**

2011 XLVII.diabetologické dny Luhačovice

**Četnost a prognóza nemocných s laktátovou acidózou. Význam přítomnosti diabetu mellitu**

2012 XLVIII.Diabetologické dny Luhačovice

**Naše zkušenosti s kontrolou glykémie u kriticky nemocných pomocí počítačového programu Space Glucose Control na jednotce intenzivní metabolické péče**

2019 Seminář Společnosti pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP

**E.Coli jak ji neznáme**

### 12.2.5 **Knihy**

#### **Diabetologie 2013**

Kapitola: Laktátová acidóza- je nutné se léčby metforminem obávat?

Triton 2005

#### **Užitečné tabulky pro praxi: nejen v interních oborech**

Kniha, Grada a.s. 2018, autor Hloch Ondřej

Oceněna 2. místo v kategorii Nejlepší monografie, České Internistické společnosti

#### **Urgentní příjem: Komentované kazuistiky**

Martin Polák, Jiří Zika, Ondřej Hloch

Mladá fronta 2017