

Univerzita Karlova v Praze

2. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



Známky preklinické aterosklerózy u dětí s chronickým onemocněním ledvin

MUDr.Hana Marie Dvořáková

roz. Stuchlíková

Praha (2012)

Doktorské studijní programy v biomedicině
Univerzita Karlova v Praze a Akademie věd České republiky

Obor: Fyziologie a patofyziologie člověka

Předseda oborové rady: Prof. MUDr. Jaroslav Pokorný, DrSc.

Školící pracoviště: Laboratoř pro výzkum aterosklerózy,
Centrum experimentální medicíny, IKEM, Praha
Václavská 1958/9, Praha 4 Krč, 140 21

Autor: MUDr. Hana Marie Dvořáková (roz. Stuchlíková)

Školitel: MUDr. Jan Piřha CSc.

Oponenti:

Autoreferát byl rozeslán dne:

Obhajoba se koná dne:vhod.
kde:

S disertační prací je možno se seznámit na děkanátu 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze.

Obsah

Souhrn práce.....	1
Summary.....	3
Úvod.....	5
I Menopauzální přechod zvyšuje aterogenní riziko kouření u žen středního věku	
Hypotézy a cíle práce I.....	7
Materiál a metodika I.....	7
Výsledky I.....	8
II Preklinické známky aterosklerozy u dětí s chronickým onemocněním ledvin	
Hypotézy a cíle práce II.....	10
Materiál a metodika II.....	10
Výsledky II.....	12
Proteinurie jako nezávislý rizikový faktor aterosklerózy.....	13
III Snížení proteinurie během intenzivní antihypertenzní léčby u dětí po transplantaci ledviny	
Hypotézy a cíle práce III.....	14
Materiál a metodika III.....	14
Výsledky III.....	15
Diskuse.....	16
Závěry.....	18
Seznam publikací doktoranda.....	19
Literatura.....	21

Souhrn

Hlavním cílem naší práce bylo stanovení preklinické aterosklerózy a jejich rizikových faktorů u dětí s chronickým selháním ledvin. K objektivizaci cévních změn byly použity dvě ultrazvukové metody, měření tloušťky intima media společné karotidy (CIMT) a na endotelu závislá dilatace brachiální arterie (FMD). Ve Fakultní nemocnici v Motole nebylo u dětí žádné z těchto vyšetření v minulosti použito. Autorka se proto podílela na zavedení metodiky vyšetření CIMT, jejího off-line hodnocení a studií variability v rámci The Prague Pre and Post Menopausal Females study (3PMFs). Vyšetřili jsme CIMT u 699 žen ve věku 45-54 let. U 40 z nich navíc variabilitu pohlavních hormonů, reverzní transport cholesterolu (cholesterol efflux) a počet cirkulujících endotelových progenitorových buněk- Hormone Variability study (HVs). Ve skupině 3PMFs jsme našli nezávislou asociaci CIMT s věkem, kouřením, body mass indexem, systolickým krevním tlakem (TK) a HDL cholesterolem. Vzestup CIMT s věkem u perimenopauzálních žen byl výrazně prudší u kuřáček, než u nekuřáček ($p=0.005$). Ve skupině HVs byl efflux cholesterolu a počet endoteliálních progenitorových buněk výrazně vyšší zatímco triacylglyceroly a fluktuační volného testosteronu nižší u perimenopauzálních nekuřáček než u kuřáček.

V následné pediatričtější studii jsme stejnou, již standardizovanou, metodikou CIMT vyšetřili 37 dětí (věk $14,5 \pm 3,3$ let; 20 chlapců a 17 dívek) v konečné fázi selhání ledvin (ESRD) a 22 zdravých kontrol. Děti s ESRD měly významně vyšší CIMT, TK a hladiny lipoproteinu(a), urey, kreatininu, ferritinu, homocysteinu, kyseliny močové a nižší apolipoprotein A. Ve skupině ESRD dětí jsme našli signifikantní negativní korelaci mezi CIMT a sérovým albuminem a bilirubinem ($p<0.05$). V kontrolní skupině jediným parametrem, který signifikantně pozitivně koreloval s CIMT byla hodnota ferritinu. Dodatečně jsme ve skupině ESRD dětí ($n=37$) stanovili souvislost CIMT s proteinurií jakožto významným nezávislým rizikovým faktorem kardiovaskulárního onemocnění. Našli jsme statisticky vysoce významnou korelaci v podskupině chlapců ($r=0.724$, $p<0.001$), zatímco u dívek jsme signifikantní korelaci neprokázali ($r=0.377$, $p=0.152$). Tento rizikový parametr (proteinurii) jsme se pokusili ovlivnit zvýšením intenzity antihypertenzní léčby v naší druhé menší intervenční studii. U 12 dětí po transplantaci ledviny a proteinurií $\geq 200\text{mg/m}^2/\text{den}$ jsme stanovili její hodnotu před a 1 rok po změně v antihypertenzní léčbě. Medián proteinurie rok před zahájením studie se významně nezměnil oproti hodnotě při jejím zahájení (226 vs 278 $\text{mg/m}^2/\text{d}$), avšak signifikantně klesl na 199 $\text{mg/m}^2/\text{den}$ za rok od zahájení studie ($p<0.05$).

Závěr: Metodu CIMT jsme po jejím zavedení a standardizaci v rámci studie 3PMFs úspěšně použili k vyšetření preklinické aterosklerózy v dětském věku. Zjistili jsme, že u dětských pacientů s ESRD jsou při rozvoji časných aterosklerotických změn podstatně zřejmě jiné než tradičně zmiňované rizikové faktory, například antioxidační kapacita organismu (reprezentovaná hodnotami sérového bilirubinu) a nutriční stav (albumin). Ve skupině ESRD dětí jsme dále prokázali významnou korelaci preklinické aterosklerózy s intenzitou proteinurie. Statisticky významně se tato asociace projevila pouze ve skupině chlapců, u dívek jsme souvislost neprokázali. To může souviset se zvýšenými (protektivními) hodnotami ženských pohlavních hormonů ve skupině dívek. Toto vysvětlení je spekulativní, nicméně v naší první studii jsme skutečně prokázali, že hlavní rizikové období u žen pro progresi preklinické aterosklerózy je až období menopauzálního přechodu. Ve druhé pediatrické studii jsme zvýšením intenzity antihypertenzní léčby dosáhli snížení jednoho z námi detekovaných rizikových faktorů - proteinurie u dětí po transplantaci ledviny.

Summary

The main objective of our work was to determine the preclinical atherosclerosis and its risk factors in children with chronic renal failure. For the detection of vascular changes were used two methods based on highly sensitive ultrasound: measurement of intima media thickness of the common carotid artery (CIMT) and endothelium-dependent dilation of the brachial artery (FMD). Any of these methods has not been used yet in pediatric population in the University Hospital Motol. The author, therefore, contributed to the introduction of CIMT methodology, its off-line evaluations and studies of variability in the Prague Pre and Post Menopausal Females study (3PMFs). We examined CIMT in 699 women aged 45-54 years. In addition, in 40 of them variability of sex hormones, reverse cholesterol transport (cholesterol efflux) and the number of circulating endothelial progenitor cells was determined (Hormone Variability study (HVS)). In the 3PMFs group we found an independent association of CIMT with age, smoking, body mass index (BMI), systolic blood pressure (BP) and HDL cholesterol. The increase in the CIMT with age was markedly steeper in smokers than in non smokers among perimenopausal women ($p = 0.005$). In the HVs group, endothelial progenitor cells and reverse cholesterol transport were substantially higher while triglycerides and fluctuation of free testosterone were lower in non-smokers than in smokers in menopausal transition.

In the pediatric study, we examined 37 children (age 14.5 ± 3.3 years, 20 boys and 17 girls) with end-stage renal disease (ESRD) and 22 healthy controls using the same, already standardized, CIMT methodology. Children with ESRD had significantly higher CIMT, BP and levels of lipoprotein (a), urea, creatinine, ferritin, homocysteine, uric acid and lower apolipoprotein A. In the ESRD group we found a significant negative correlation between CIMT and serum albumin and bilirubin ($p < 0.05$). In the control group the only parameter significantly positively correlated with CIMT value was ferritin. Additionally, in the ESRD group of children ($n = 37$), we established the association of CIMT with proteinuria as a significant independent risk factor for cardiovascular disease. We found a statistically highly significant correlation in the subgroup of boys ($r = 0.724$, $p < 0.001$), while the girls have not demonstrated a significant correlation ($r = 0.377$, $p = 0.152$).

This risk parameter (proteinuria), we tried to influence by increasing the intensity of antihypertensive treatment in our second smaller intervention study. Twelve children after renal transplantation with proteinuria $\geq 200\text{mg/m}^2\text{d}$ were included in the study. Proteinuria was investigated at baseline and at 1 year after changes in antihypertensive therapy. The

median protein excretion at 1 year before the study did not change significantly at study baseline (226 vs 278 mg/ m²d), but decreased significantly to 199 mg/m²d after 1 year (p<0.05).

Summary: After its standardization in terms of the 3PMFs study, we successfully used the CIMT method to investigate preclinical atherosclerosis in childhood. We found that factors other than traditional cardiovascular properties, such as the anti-oxidative capacity of the organism (represented by values of serum bilirubin) and nutritional status (albumin), may be of importance during the early stages of atherosclerosis in children with end-stage renal disease. In the ESRD group, we also demonstrated a significant correlation of preclinical atherosclerosis with the intensity of proteinuria. Statistically significant, this association occurred only in the group of boys, for girls this correlation was not proved. This difference may be related to increased (protective) values of female sex hormones in the group of girls. This explanation is speculative, however, in our first study we actually showed that the major risk period in women for progression of preclinical atherosclerosis is the menopausal transition. In the second pediatric study we achieved a reduction of in our previous study detected risk factor -proteinuria with intensive antihypertensive treatment in children after renal transplantation.

Úvod

Kardiovaskulární onemocnění jsou nejčastější příčinou morbidit i mortality pacientů se selháním ledvin v dětském věku (Kavey RV., et al., 2006; Wilson AC., Mitsnefes MM., 2008). Rizikové faktory aterosklerózy, která je jednou z hlavních morfologických a funkčních příčin kardiovaskulárních onemocnění mohou být u této skupiny odlišné než u běžné populace či u pacientů s jinými onemocněními s vysokou pravděpodobností rozvoje předčasné aterosklerózy (Querfeld U., 2002; Saland JM., et al., 2010). Prvním stadiem aterosklerotického poškození cévní stěny je porucha jejich funkcí- endotelová dysfunkce. K jejímu stanovení byla u dospělých v řadě studií použita neinvazivní ultrazvuková metoda FMD (Joannides R., et al. 1995; Coretti MC., et al. 2002). K vyšetření dětských pacientů byla použita výjimečně, s rozporupnými výsledky (Lilien MR., et al., 2003; Wilson AC., et al., 2008). Většího uplatnění dosáhla v zahraničních pediatrických pracích druhá ultrazvuková metoda CIMT, detekující první morfologické změny cévní stěny– ztlustění dvouvrstvy intima-medie. (Jourdan C., et al., 2005; Vercoza AM., et al., 2009; Tamura H., et al., 2011). V posledních letech bylo publikováno několik studií zahraničních autorů posuzujících CIMT u dětí v různé fázi chronické renální insuficience.

Naprostá většina publikovaných prací prokázala signifikantně vyšší CIMT ve skupině nefrologických pacientů oproti skupině zdravých vrstevníků (Mitsnefes MM., et al., 2004; Litwin M., et al., 2005; Civilibal M., et al., 2007; Poyrazoglu HM., et al., 2007; Bilginer Y., et al., 2007; Delucchi A, et al., 2008; Basiratnia M., et al., 2010).

Prezentované studie se však rozcházejí v charakteru rizikových faktorů, které detekují jako signifikantně související s preklinickou aterosklerózou (CIMT).

Z klasických rizikových faktorů aterosklerózy byly nalezeny souvislosti především se zvýšeným krevním tlakem. Mitsnefes vyšetřil 31 dětí po transplantaci ledviny, u nichž hodnota CIMT korelovala pozitivně s průměrným systolickým TK ($p=0.024$) a s nutností retransplantace ledviny ($p=0.02$) (Mitsnefes MM., et al., 2004). Ve studii Civilibala u 38 dialyzovaných dětí koreloval s CIMT průměrný diastolický krevní tlak ($p=0.035$) (Civilibal M., et al., 2009) a v práci jiných tureckých autorů u 34 dialyzovaných dětí byla nalezena pozitivní korelace CIMT a středního arteriálního tlaku (Poyrazoglu HM., et al., 2007). V několika dalších pracích se naopak souvislost preklinické aterosklerózy a jejich klasických rizikových faktorů nalézt nepodařilo, jako v této oblasti nejrozsáhlejší práci Litwina a spolupracovníků u 126 dětí s chronickou renální insuficiencí (Litwin M., et al., 2005). V této skupině pacientů autoři našli významnou pozitivní korelaci CIMT s parametry

kalcium-fosfátového metabolismu (kalcium-fosfátový produkt, celková dávka kalciových vazačů fosfátů a průměrnou dávkou kalcitriolu) a negativní s hodnotami sérového albuminu. Tato zjištění naznačují možný význam stavu výživy a rovnováhy kalcium-fosfátového metabolismu pro rozvoj preklinické aterosklerózy u dětí s chronickým renálním onemocněním. Částečně tyto nálezy potvrzují též výsledky Bilginera et al., který ve skupině 20 dětí po transplantaci ledviny prokázal pozitivní korelaci CIMT s hodnotou kalcium-fosfátového produktu a Basiratnia et al., který u dětí a mladých dospělých (n=66) rovněž příjemců ledvinného štěpu našel signifikantní korelaci CIMT s kumulativní dávkou kalcitriolu (Bilginer Y., et al., 2007; Basiratnia M., et al., 2010). Oproti tomu italští autoři vyšetřující CIMT u 12 dětí po transplantaci ledviny našli jeho korelaci pouze s délkou trvání dialyzační léčby předcházející transplantaci.

Pokud jsou pro rozvoj aterosklerózy u dětí s ESRD podstatné jiné rizikové faktory a terapeutické cíle, než v běžné dětské populaci, jak naznačují výsledky výše zmíněných studií, je nezbytné v jejich detekci a úspěšné léčbě brát na tyto zásadní odlišnosti zřetel. Naším úmyslem bylo nalézt neinvazivní ultrazvukové metody vhodné v našich podmínkách k detekci časných aterosklerotických změn cévní stěny v dětském věku a jejich pomocí ozřejmit rizikové faktory předčasného rozvoje kardiovaskulárního onemocnění u vysoce rizikové skupiny dětí v konečné fázi renálního selhání. V menší intervenční studii u dětí po transplantaci ledviny jsme se snažili ovlivnit jeden z významných rizikových faktorů kardiovaskulárního onemocnění (proteinurii) zvýšením intenzity antihypertenzní léčby.

I. Menopauzální přechod zvyšuje aterogenní riziko kouření u žen středního věku (zavedení metodiky CIMT, studie variability, standardizace metody)

Hypotéza

Menopauzální přechod má vliv na tradiční i nově diskutované rizikové faktory aterosklerózy

Cíle studie

1. Standardizovat metodiku ultrazvukového vyšetření tepen metodou CIMT a jejího off-line hodnocení, studie variability
2. Stanovit význam různých rizikových faktorů pro aterosklerotické postižení tepen u žen středního věku a jejich eventuelních změn v období premenopauzy, menopauzálního přechodu a postmenopauzy.

Metodika I.

Vyšetřili jsme 699 žen v populační studii The Prague Pre and Post Menopausal Females study (3PMFs), která je tvořena náhodně vybraným 5% vzorkem z 29 440 žen ve věku 45-54 let žijících v Praze. Z nich bylo vybráno 40 žen (bez závažného kardiovaskulárního onemocnění, bez léčby antihypertenzivy, hypolipidemiky, či léčby hormonální), jež byly navíc vyšetřeny v rámci Hormone Variability study (HVs). V této podstudii jsme se zaměřili na otázku, zda menopauzální přechod a kouření mohou mít potenciálně vliv na výkyvy ženských pohlavních hormonů.

Byla získána anamnestická data všech účastnic zaměřená na přítomnost kardiovaskulárních onemocnění a jejich hlavních rizikových faktorů včetně údajů o eventuelní hysterektomii a/nebo ovariectomii. U všech žen byla hodnocena výška, váha, obvod pasu, krevní tlak a body mass index (hmotnost v kg)/(výška v m)². Ženy s anamnézou současného či dřívějšího pravidelného kouření byly definovány jako kuřačky. Žilní krev byla odebrána po nočním lačnění, stanovovali jsme celkový cholesterol, HDL a LDL cholesterol, triacylglyceroly a folikuly stimulující hormon (FSH).

Ženy z podskupiny HVs byly navíc vyšetřeny 3x ve 4 týdenních intervalech, kdy u nich byly stanovovány hladiny pohlavních hormonů (estradiol, celkový a volný testosteron a anti-Mulleriánský hormon), reverzní transport cholesterolu (cholesterol efflux) a počet cirkulujících endotelových progenitorových buněk.

Měření subklinické aterosklerózy

IMT společné karotidy jsme měřili za použití ultrasonografického přístroje Acuson 128/4 (Mountain View, CA, USA) se 7 MHz sondou. Vhodné obrazy pravé a levé společné karotidy byly zmraženy a zaznamenány na magnetickou pásku SVHS (Super home video system). Následná měření byla prováděna v počítačovém programu Image Measure PC Vision Micro Science (Imaging Technology Inc., Bedford, MA, USA).

Statistická analýza

Hodnoty jsou uvedeny jako procenta pro kategorické veličiny a průměry pro spojité veličiny. Pro statistické srovnání rozdílů spojitých veličin mezi jednotlivými skupinami byl použit t-test (Student) nebo analýza rozptylu (ANOVA) či analýza kovariance (ANCOVA). V případě kategorických veličin byl použit χ^2 (chí kvadrát) test. Souvislost mezi rizikovými faktory a CIMT byla hodnocena pomocí mnohotné postupné lineární regrese. Ve skupině HVs bylo porovnání průměrů provedeno použitím t-testu (Mann-Whitney) při standardizaci na věk a body mass index, pokud bylo vhodné. Porovnání variability v hladinách hormonů bylo provedeno za použití standardní odchylky průměrů tří následujících měření a rozdíly stanoveny t-testem.

Výsledky I.

Skupina 3PMFs

Postmenopauzální ženy byly nejstarší a vykazovaly nejvyšší prevalenci/hodnoty téměř všech vyšetřovaných kardiovaskulárních rizikových faktorů. Jedinou výjimkou byla prevalence současného kouření, jež byla nejvyšší u skupiny perimenopauzálních žen. Perimenopauzální ženy měly příznivější hodnoty plazmatických triacylglycerolů a HDL cholesterolu než ostatní dvě skupiny. Průměrná CIMT byla lehce vyšší u postmenopauzálních žen ve srovnání s premenopauzálními.

Ve všech skupinách žen jsme našli nezávislou asociaci CIMT s věkem, body mass indexem (BMI), kouřením, systolickým krevním tlakem a HDL cholesterolem. Abychom zjistili, zda je souvislost kardiovaskulárních rizikových faktorů a CIMT modifikována reprodukčním stavem, rozdělili jsme ženy podle reprodukčního stavu a studovaných rizikových faktorů (kouření, diabetes mellitus, nadváha, hypertenze, dyslipidemie). Z hlediska jejich asociace s CIMT, jsme následně testovali vztahy mezi jednotlivými rizikovými faktory a reprodukčním stavem.

Vzestup hodnot CIMT s věkem byl ve skupině perimenopauzálních žen zřetelně strmější u

kuřáček, než u žen, které nikdy nekouřily ($p=0.005$), zatímco u premenopauzálních a postmenopauzálních žen jsme tento rozdíl nepozorovali. Při použití mnohočetné lineární regrese byl rozdíl ve změnách CIMT za rok kalendářního věku mezi kuřáčkami a nekuřáčkami signifikantně vyšší ve skupině perimenopauzálních žen, než u žen v ostatních dvou skupinách. Modifikace účinku kouření na CIMT reprodukčním věkem byla následně analyzována znovu se standardizací na věk, BMI, systolický krevní tlak a HDL cholesterol. Byl nalezen signifikantní vztah mezi reprodukčním věkem a kouřením ($p=0.035$). Nenalezli jsme statisticky významný rozdíl mezi jakýmkoli jinými sledovanými rizikovými faktory z hlediska reprodukčního stavu.

Skupina HVs

Ve skupině žen v menopauzálním přechodu, byly nekuřáčky starší ($p=0.04$), měly vyšší HDL cholesterol ($p=0.006$), Apolipoprotein A1 ($p=0.018$), efflux cholesterolu ($p=0.048$), vyšší počet cirkulujících kmenových buněk ($p=0.047$) a endoteliálních progenitorových buněk ($p=0.010$), nižší triacylglyceroly ($p=0.018$) a nižší tepovou frekvenci ($p=0.040$) než ženy kuřáčky. Po standardizaci na věk a BMI měly nekuřáčky vyšší počet cirkulujících endotelových progenitorových buněk ($p=0.023$), nižší triacylglyceroly ($p=0.021$), vyšší HDL cholesterol ($p=0.011$) a hodnoty efluxu cholesterolu hraniční významnosti ($p=0.065$). Nenalezli jsme žádné další statisticky významné rozdíly mezi vyšetřovanými skupinami z hlediska reprodukčního stavu a kouření.

Při analýze fluktuace hladin pohlavních hormonů, jsme prokázali signifikantní rozdíly v kolísání hladin volného testosteronu mezi skupinami kuřáček a nekuřáček. Tyto rozdíly byly zcela protichůdné u žen v menopauzálním přechodu ve srovnání s postmenopauzálními ženami. Ve skupině žen v menopauzálním přechodu měly kuřáčky vyšší variabilitu volného testosteronu než nekuřáčky (0.09 ± 0.14 vs. 0.24 ± 0.17 , $p=0.051$). Naopak ve skupině žen po menopauze měly kouřící ženy signifikantně nižší variabilitu hodnot volného testosteronu než nekuřáčky (0.24 ± 0.09 vs. 0.43 ± 0.49 , $p=0.026$). Nepozorovali jsme žádné další statisticky významné rozdíly ve vlivu reprodukčního stavu a kouření na kolísání hladin estradiolu, anti-Mulleriánského hormonu a celkového testosteronu mezi studovanými skupinami.

II. Preklinické známky aterosklerózy u dětí s chronickým onemocněním ledvin

Hypotézy

1. Proces aterosklerózy začíná v dětském věku a je výrazně akcentován u dětí s chronickým renálním selháním. Tento proces však zřejmě není způsoben převážně poruchami lipidového metabolismu jako u běžné populace s normální funkcí ledvin
2. U dětských pacientů s chronickým renálním selháním mohou hrát při postižení tepen dominantní roli imunitní, zánětlivé, nutriční a další parametry detekovatelné stanovením biomarkerů v periferní krvi

Cíle práce

1. Nalézt neinvazivní metodu vyšetření preklinické aterosklerózy vhodnou pro vyšetřování dětských pacientů v našich podmínkách
2. Detekovat význam rizikových faktorů- klasických i nově diskutovaných pro známky preklinické aterosklerózy u dětí postižených renálním selháním, a jejich závislost na způsobu náhradní léčby

Metodika II.

Naší studie se zúčastnilo 37 dětí (20 chlapců a 17 dívek; věk $14,5 \pm 3,3$ let) v konečné fázi renálního selhání (ESRD end-stage renal disease) a léčbou nahrazující funkce ledvin (RRT renal replacement therapy). 31 dětí podstoupilo úspěšnou transplantaci ledviny (Tx), šest bylo léčeno peritoneální dialýzou (PD). Průměrný čas mezi RRT a UZ vyšetřením byl $4,4 \pm 2,7$ let a průměrný čas mezi dialýzou a transplantací $12,5 \pm 11$ měsíců. Všechny dialyzované děti byly léčeny kontinuální cyklickou peritoneální dialýzou. Žádný ze sledovaných pacientů netrpěl onemocněním diabetes mellitus ani závažnou poruchou metabolismu lipidů. 34 dětí (92%) ve sledované skupině bylo léčeno pro arteriální hypertenzi. Ve skupině transplantovaných pacientů byli čtyři léčeni analogy vitamínu D, žádný pacient neužíval vazač fosfátů. Ve skupině PD pacientů byli všichni léčeni vazači fosfátů a čtyři navíc analogy vitamínu D.

Kontrolní skupinu tvořilo 22 zdravých dětí (10 chlapců, 12 dívek; věk $11,0 \pm 4,4$ let).

Protokol studie byl schválen etickou komisí FN Motol, Praha, Česká Republika. Od rodičů všech dětí byl získán písemný informovaný souhlas s účastí ve studii.

U všech účastníků studie byla stanovena výška, hmotnost a vypočítán body mass index, systolický (STK) a diastolický krevní tlak (DTK). Střední arteriální tlak byl vypočítán jako

DTK+ 1/3 (STK- DTK). U dětí ve skupině ESRD bylo navíc provedeno 24 hodinové ambulantní monitorování krevního tlaku (ABPM- ambulatory blood pressure monitoring). Všechna antropometrická i biochemická měření byla provedena stejný den jako ultrazvukové vyšetření tepen.

Laboratorní měření

Vzorek žilní krve byl odebrán všem účastníkům po nočním lačnění (12 hod). Byly stanoveny hodnoty lipidového metabolismu- celkový cholesterol a jeho frakce (HDL, LDL); triacylglyceroly (TAG), Apolipoprotein A1 (ApoA1) a B (ApoB), Lipoprotein (a) (Lp (a)). Dále hodnoty urey, kreatininu, kyseliny močové, albuminu, celkového bilirubinu, glukózy, C-reaktivního proteinu (CRP), homocysteinu a ferritinu.

Aterogenní index plasmy (AIP) byl vypočítán jako $\log(\text{triglyceridy}/\text{HDL cholesterol})$ dle Dobiasova a Frohlich (Dobiasova M., Frohlich J., 1991). Pacienti s hodnotou CRP nad 10 mg/l byli z hodnocení vyloučeni (4 děti ze skupiny ESRD). Hodnota glomerulární filtrace byla vypočtena na základě Schwartzovy formule (Swartz GJ., et al., 1976).

Ultrazvuková měření

Flow mediated dilatation FMD (na endotelu závislá dilatace)

Touto metodou je možno vyšetřit funkční stav endotelu a zhodnotit míru endotelové dysfunkce, tedy nejranější stupeň aterosklerotického procesu. K vyšetřování jsme použili ultrazvukový přístroj s vysokou rozlišovací schopností (SonoSite Titan, USA) s lineární 7,5- MHz sondou a zařízení "Transducer Arm fixture TAF[®]" (Vascular Imaging Center, University Medical Center Utrecht, the Netherlands). Celé vyšetření bylo zaznamenáváno na magnetickou pásku SVHS. Po 30s nahrávání klidové fáze byla manžeta tonometru umístěná distálně od měřeného úseku nafouknuta na 60 mm Hg nad průměr systolických tlaků změřených na začátku vyšetření. Po 4 minutách byla manžeta vyfouknuta a dále byla po 2 minuty nahrávána dilatační fáze. Po 10 minutách jsme vyšetření ještě jednou zopakovali. Vlastní měření pak probíhalo off line, pomocí počítačového software.

Carotis intima- media thickness CIMT (tloušťka intimy-médie)

Měření jsme prováděli stejným ultrazvukovým přístrojem i sondou jako při vyšetření FMD. Veškerá měření byla provedena na vzdálenější stěně společných karotických tepen jediným vyšetřujícím. U všech pacientů byla zobrazena tloušťka intimo-mediální dvouvrstvy pravé i levé společné karotidy a vyšetření zaznamenáno na magnetickou pásku SVHS (Super Video Home System). Vlastní měření pak byla prováděna offline pomocí počítačového software

ImagePro Plus (Media Cybernetics, USA). (Stuchlíková H., et al., 2005). Koeficient variability v předchozích studiích byl 4,9%.

Statistické zpracování dat

V předložené práci byly spojitě veličiny vyjádřeny jako průměry a jejich standardní odchylky; v případě standardizace na věk a body mass index pak jako průměry a standardní chyby. Kategorické veličiny byly vyjádřeny jako absolutní a relativní frekvence. Pro statistické porovnání rozdílů mezi jednotlivými skupinami byl použit nepárový t-test (Student) pro kontinuální veličiny; v případě kategorických veličin byl použit χ^2 (chí kvadrát) test. Pro porovnání rozdílů mezi korelačními koeficienty v jednotlivých skupinách byl použit test pro rovnost korelací (test of equality of correlations coefficients). Všechny testy byly oboustranné a jako významná byla považována velikost hodnoty p menší než 0,05. Pro rozdílnost věku byly všechny významné rozdíly ve všech případech standardizovány na věk.

Výsledky II.

U pacientů ve skupině ESRD byla CIMT signifikantně vyšší než v kontrolní skupině. Ve skupině nefrologických pacientů byly nalezeny statisticky významně vyšší hodnoty sérového kreatininu, kyseliny močové, homocysteinu, ferritinu, AIP, Lp(a) a krevního tlaku. Naopak hodnoty Apo A1 a dle očekávání též glomerulární filtrace byly ve skupině ESRD signifikantně nižší. V řadě parametrů nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi ESRD a kontrolní skupinou (BMI, celkový cholesterol, triglyceridy, HDL a LDL cholesterol, ApoB, CRP, albumin, celkový bilirubin a glukóza).

Pokud byla ze skupiny ESRD vyjmuta podskupina dětí po úspěšné transplantaci ledviny, nebyl již statisticky významný rozdíl v hodnotách aterogenního indexu plasmy a hladiny Lp(a) oproti kontrolní skupině, zatímco statisticky významný rozdíl v ostatních parametrech zůstal nezměněn.

Následně jsme analyzovali vztah mezi CIMT a dalšími parametry ve skupině transplantovaných dětí a v kontrolní skupině. Veškeré korelace byly standardizovány na věk a BMI. Ve skupině dětí po transplantaci ledviny jsme našli signifikantní negativní korelaci s hladinou sérového albuminu, pokud byla skupina rozšířena o PD pacienty (data nejsou prezentována), byla navíc nalezena signifikantně negativní korelace s celkovým bilirubinem ($r = -0,351$, $p < 0,05$). V kontrolní skupině pak byla nalezena signifikantně pozitivní korelace CIMT s hladinou sérového ferritinu.

Nenalezli jsme žádné další statisticky významné korelace mezi CIMT a jinými sledovanými parametry v obou skupinách, včetně kalcium-fosfátového metabolismu (data nejsou prezentována).

FMD- tato metoda se ukázala jako méně vhodná pro vyšetřování dětských pacientů. Již během vyšetření bylo zřejmé, že zejména u malých dětí nejsme schopni vyšetření validně provést. I u starších jsme však zaznamenali vysokou variabilitu (40-50%) mezi opakovanými měřeními, která nám neumožnila spolehlivou interpretaci získaných dat.

Proteinurie jako nezávislý rizikový faktor aterosklerózy

Dodatečně jsme analyzovali data pacientů skupiny ESRD (n=37), s úmyslem stanovit hodnoty proteinurie u těchto pacientů v době ultrazvukového vyšetření CIMT a zjistit případnou souvislost předčasného aterosklerotického poškození tepen s přítomností a kvantitou proteinurie jakožto dalšího významného rizikového faktoru kardiovaskulárního onemocnění.

Hodnota proteinurie byla stanovena ze vzorku moče z 24 hod sběru ($\text{mg}/\text{m}^2/\text{den}$).

Vztah mezi CIMT a proteinurií jsme hodnotili stanovením korelačních koeficientů a statistickou závislost jsme hodnotili metodou mnohotné regrese – do statistického modelu byl kromě CIMT a proteinurie zařazen i věk sledovaných dětí.

Zjistili jsme, že hodnota proteinurie u těchto pacientů významně pozitivně koreluje s tloušťkou dvojvrstvy intima-media ($r=0.478$, $p=0.003$).

Navíc, jsme pozorovali výrazný rozdíl tohoto vztahu u obou pohlaví. V případě chlapců (n=20) byla nalezena statisticky vysoce významná korelace ($r=0.724$, $p<0.001$). Oproti tomu v případě dívek (n=17) jsme významnou korelaci proteinurie s hodnotou CIMT neprokázali ($r=0.377$, $p=0.152$).

III. Snížení proteinurie během intenzivní antihypertenzní léčby u dětí po transplantaci ledviny

Hypotéza

Proteinurie je spolu s hypertenzí známý nezávislý rizikový faktor zhoršeného přežívání štěpu stejně jako morbidity a mortality dospělých pacientů po úspěšné transplantaci ledviny. I v dětské populaci transplantovaných může být proteinurie snížena podáváním inhibitorů ACE a snížením krevního tlaku, stejně jak to již bylo prokázáno u dospělých pacientů.

Cíl studie

Stanovit ve skupině dětských pacientů po transplantaci ledviny změny ve velikosti proteinurie během intervenční studie zaměřené na léčbu hypertenze.

Metodika III.

45 dětských pacientů po transplantaci ledviny bylo vyšetřeno pro možnost zařazení do studie. Kritéria pro zařazení byla: minimálně 6 měsíců po úspěšné transplantaci; bez epizody akutní rejekce v posledních 3 měsících. Proteinurie byla stanovena z 24 hodinového sběru moči. Krevní tlak (TK) byl měřen pomocí 24 hodinového ambulantního monitorování TK (ABPM) a byl vyjádřen jako standard deviation score (SDS= Z-score). Hypertenze (průměrný STK či DTK během dne nebo noci \geq než 95. percentil pro zdravé stejně staré děti, či antihypertenzní léčba) byla označena jako neléčená (TK \geq 95. percentil, bez antihypertenzní léčby), nekontrolovaná (TK \geq 95. percentil + antihypertenzní léčba) a kontrolovaná (TK < 95. percentil + antihypertenzní léčba).

U dětí s neléčenou či nekontrolovanou hypertenzí byla její léčba zintenzivněna přidáním antihypertenziva (prvního nebo do kombinace). Léčiva byla volena empiricky z následujících kategorií: ACEI (inhibitory angiotensin konvertujícího enzymu), beta-blokátory, blokátory kalciových kanálů a diuretika. Rok po změně antihypertenzní terapie byla u všech dětí stanovena proteinurie, ABPM a hodnota glomerulární filtrace (GFR, stanovená na základě sérového kreatininu pomocí Schwarzova vzorce).

Studie byla schválena místní etickou komisí FN Motol, Praha, Česká Republika.

Cílem bylo stanovit změny ve velikosti proteinurie v podskupině dětí se ztrátou bílkovin $>200\text{mg}/\text{m}^2/\text{den}$, což zhruba koresponduje s hodnotou $>300\text{ mg}/\text{den}$ u dospělých.

Data jsou uváděna jako medián, směrodatná odchylka (SD-standart deviation) či procenta.

Statistická analýza byla provedena pomocí statistického software SPSS. $P < 0.05$ bylo považováno za statisticky významný rozdíl mezi hodnotou 1 rok před zahájením studie, zahájením a po 1 roce za použití Wilcoxon signed rank test.

Výsledky III.

Dvanáct dětí (7 chlapců, 5 děvčat) splnilo kritéria pro zařazení do studie. Průměrný věk pacientů byl 13 ± 3.8 let (rozpětí 5.4- 18.9 let), střední čas od transplantace 3.1 ± 2.6 let (rozpětí 0.5-8.9 let). Všechny děti byly příjemci kadaverozního štěpu, 11 z nich bylo transplantováno poprvé. Všichni pacienti kromě jednoho byli léčeni kortikosteroidy a inhibitory kalcineurinu (Cyklosporin a Tacrolimus). Navíc všechny děti s výjimkou dvou užívaly azatioprin či mykofenolát mofetil. U pěti z těchto dětí se vyskytla minimálně jedna epizoda akutní rejekce štěpu, u jednoho biopsií potvrzená chronická rejekce. Rekurence fokálně segmentální glomerulosklerózy ve štěpu se nevyskytla u žádného pacienta. Deset dětí bylo léčeno antihypertenzivy, pouze jedno z nich užívalo ACEI. Hypertenze byla diagnostikována u 11 dětí, ať už neléčená (8%), nekontrolovaná (50%) či kontrolovaná (33%).

Proteinurie

Rok před zahájením studie byl u těchto pacientů medián proteinurie $226 \text{ mg/m}^2/\text{den}$ (rozpětí 41-1478 $\text{mg/m}^2/\text{den}$) a při zahájení studie se statisticky významně nezměnil ($278 \text{ mg/m}^2/\text{den}$, rozpětí 205-1264 $\text{mg/m}^2/\text{den}$). Po roce od zahájení studie však došlo k jejímu signifikantnímu poklesu na $199 \text{ mg/m}^2/\text{den}$ (rozpětí 65-749 $\text{mg/m}^2/\text{den}$, $p < 0.05$).

Antihypertenzní léčba a krevní tlak

Počet antihypertenziv se zvýšil z 1.6 ± 1.0 na 2.2 ± 0.9 léčiva na pacienta ($p < 0.05$). Užití jednotlivých lékových skupin se signifikantně nezměnilo: ACEI 8% ($n=1$) na počátku studie oproti 16% ($n=2$) po 1 roce, beta blokátory 67% vs 83%, blokátory kalciových kanálů 50% vs 75% a diuretika 33 vs. 42% ($p = \text{NS}$). Průměrný systolický a diastolický krevní tlak během dne a diastolický TK v noci se po roce studie signifikantně nezměnily. Průměrný systolický TK během noci se signifikantně snížil z 1.6 ± 1.54 SDS na počátku na 1.04 ± 0.97 SDS po 1 roce ($p < 0.05$). GFR se po 1 roce signifikantně nezměnila (77 ± 20 vs $70 \pm 21 \text{ ml/min/1.73 m}^2$). Nenalezli jsme signifikantní korelaci mezi změnami v proteinurii a hodnotách krevního tlaku či glomerulární filtrace.

Diskuze

Pro klinické studie prezentované v této práci jsme modifikovali dříve popsanou ultrazvukovou metodu (Pitha J., 1999) vyšetření preklinické aterosklerozy karotických tepen i její off-line hodnocení dle současných poznatků. Vzhledem k tomu, že v předchozích pracích bylo zjištěno, že měřením obou- pravé i levé společné karotidy se významně snižuje variabilita opakovaných měření (koeficient variability 8.6% jedna karotida vs 5.3% pravá i levá karotida) (Schmidt C., 1999), i naše měření u každého pacienta probíhala vždy na obou společných karotidách. Koeficient variability opakovaného měření CIMT u jednoho vyšetřujícího, který jsme hodnotili v rámci studie 3PMPs byl v našem případě 4,9%, což odpovídá dříve prezentovaným hodnotám jiných autorů 4.4-5.1% (Belcaro G., 1993), 5.4-5.8% (Salonen R., 1991). V těchto pracích bylo navíc zjištěno, že k výrazně vyšší variabilitě ve výsledcích CIMT dochází, pokud měření provádí více než jeden vyšetřující. Variabilita mezi třemi vyšetřujícími ve výše citovaných pracích byla 10,5% (Salonen), 8,45% (Belcaro). V práci Salonena byla jen 4% z celkové variability měření způsobena rozdíly v opakovaných měřeních jedním vyšetřujícím, zatímco 96% bylo na úkor variability mezi několika vyšetřujícími. V každé z našich studií veškerá měření CIMT prováděl jediný vyšetřující. Přestože v několika publikovaných pracích byla i u dětských pacientů preklinická ateroskleróza vyšetřována pomocí ultrazvukové metody FMD (Lilien MR., et al., 2003; Wilson AC., et al., 2008), z naší zkušenosti je vhodnost tohoto vyšetření pro dětský věk sporná a metodu CIMT hodnotíme jako výrazně spolehlivější. V naší práci u dětí s chronickým renálním selháním jsme ve shodě s většinou dříve publikovaných zahraničních studií prokázali signifikantně vyšší CIMT ve skupině nefrologických pacientů oproti skupině zdravých vrstevníků (Mitsnefes MM., et al., 2004; Litwin M., et al., 2005; Civilibal M., et al., 2007; Poyrazoglu HM., et al., 2007; Bilginer Y., et al., 2007; Delucchi A, et al., 2008; Basiratnia M., et al., 2010). Nenalezli jsme souvislost mezi preklinickou aterosklerózou a žádným z klasických rizikových faktorů a to ve skupině ESRD, ani u zdravých kontrol. Především zvýšený krevní tlak byl v některých předešlých studiích shledán statisticky významným v korelaci s přítomností preklinické aterosklerózy, minimálně ve skupině nefrologicky nemocných dětí. (Mitsnefes MM., et al., 2004; Civilibal M., et al., 2009; Poyrazoglu HM., et al., 2007). Tento rozdíl oproti našim pozorováním může být zapříčiněn různými vlastnostmi studovaných skupin. Například ve zmíněných pracích tureckých autorů (Poyrazoglu, Civilibal), byly sledované děti léčeny chronickou dialýzou, v našem souboru především děti po transplantaci ledviny. Vysvětlením rozdílných výsledků

tak může být různě dlouhá expozice zvýšenému krevnímu tlaku či ostatním rizikovým faktorům renálního onemocnění a jeho léčby. Náš nálezní inverzního vztahu mezi hladinou albuminu a hodnotou CIMT byl již popsán v minulosti (Litwin M., et al. 2005) a vysvětlen špatným stavem výživy vyšetřovaných osob (malnutrice), eventuelně přímou úlohou v ukládání kalcia zvýšením jeho volné precipitabilní frakce.

Pokud víme, je naše sdělení prvním popisující inverzní korelaci mezi preklinickou aterosklerózou a hodnotami bilirubinu u dětí s ESRD. Současné experimentální i humánní studie prokázaly, že bilirubin hraje důležitou roli v ochraně buněk jako fyziologický protektor poškození oxidačním stresem. (Sedalk TW., Snyder SH., 2004; Jansen T., et al., 2010). Vzhledem k tomu, že oxidační stres je dnes pokládán za významný činitel při vzniku a progresi aterosklerotického procesu, domníváme se, že negativní korelace mezi hodnotami sérového bilirubinu a mírou preklinické aterosklerózy u našich pacientů s ESRD může znamenat jeho důležitou úlohu jakožto fyziologického antioxidantu krevního séra.

Dle našich informací nebyla u dětí prezentována souvislost mezi zvýšením CIMT a hodnotou proteinurie v závislosti na pohlaví. Překvapivé pro nás bylo zjištění, že po rozdělení vyšetřované skupiny podle pohlaví, se objevil výrazný rozdíl v korelaci tohoto parametru mezi chlapci a dívkami. Zatímco ve skupině chlapců se statistická významnost korelace ještě výrazně zvýšila, ve skupině dívek nebyla již dále signifikantní. Domníváme se, že vysvětlením tohoto nálezu by mohla být zvýšená hladina ženských pohlavních hormonů, ve skupině dívek, kterých většina byla v době vyšetření v adolescentním věku (median 15 let). Přestože jsme hladiny hormonů u těchto pacientek nestanovovali a vysvětlení je pouze spekulativní, prokázali jsme v naší první studii, že hlavní rizikové období pro progresi aterosklerotického postižení v ženské populaci je až období menopauzálního přechodu a je skutečně možné, že se ochranný efekt ženských pohlavních hormonů na cévní stěnu uplatňuje pozitivně u dívek s chronickou renální insuficiencí. Jeden z námi nalezených rizikových faktorů korelujících významně s rizikem předčasného aterosklerotického postižení tepen (proteinurii) jsme se pokusili ovlivnit v intervenční studii u dětí po transplantaci ledviny. Prokázali jsme, že intenzivní léčbou zvýšeného krevního tlaku je možno proteinurii významně snížit a to překvapivě nejen inhibitory angiotensin konvertujícího enzymu, jak bylo opakovaně popsáno u dospělých (Trautndl O., et al., 1993) ale antihypertenzivy různých lékových skupin.

Domníváme se, že prezentované výsledky potvrzují naši hypotézu, že rizikové faktory aterosklerotického postižení u dětí s chronickým selháním ledvin jsou pravděpodobně jiné, než u běžné dětské populace.

Závěry

Děti s chronickým selháním ledvin, tvoří skupinu s extrémně vysokým rizikem rozvoje předčasného onemocnění kardiovaskulárního systému. V rámci naší práce jsme prokázali, že měření CIMT ultrazvukem s vysokou rozlišitelností je vhodnou metodou k diagnostice aterosklerotického postižení cév v jeho preklinickém stadiu a to především u menších dětí. Naopak metoda FMD se z našeho pohledu v pediatrii ukázala být nepříliš vhodná.

V našem souboru pacientů jsme metodou CIMT neprokázali souvislost známek preklinického aterosklerotického postižení s žádným z klasických rizikových faktorů kardiovaskulárního onemocnění (hypertenze, dyslipidemie, BMI).

Naopak významná korelace byla ve skupině pacientů nalezena mezi poškozením cévní stěny a hodnotami sérového bilirubinu, což by dle našeho názoru mohlo ukazovat na porušenou schopnost obrany proti oxidačnímu stresu, který je považován za jeden ze zásadních faktorů v rozvoji aterosklerotického postižení. Negativní korelace hodnot sérového albuminu s CIMT může být způsobena horším stavem výživy nefrologických pacientů a upozorňuje na důležitost sledování nutričního stavu těchto dětí. Dosud se v otázce rizikových faktorů aterosklerózy u pediatrických pacientů neobjevují úvahy o možné důležitosti rozdílů mezi pohlavími, které jsou známy v dospělé populaci. Není vyloučeno, že u dětí s onemocněními, které extrémně zvyšují rizika předčasného aterosklerotického postižení hraje rozdíl v hladinách pohlavních hormonů podstatnou roli v rozvoji cévních změn, především u dívek vstupujících do menarche. Tímto směrem ukazuje náš nálezný výrazně rozdílné korelace proteinurie s CIMT mezi skupinou chlapců a dívek. Naše výsledky tak doplňují pozorování jiných autorů, že rizikové faktory kardiovaskulárního postižení jsou ve skupině dětí s chronickým selháním ledvin jiné než u běžné populace. V následné intervenční studii se jeden z námi zjištěných rizikových faktorů- proteinurii podařilo u dětí po Tx ledviny signifikantně snížit. Další vyšetření těchto pacientů neinvazivní metodou CIMT by mohlo ukázat, zda pokles tohoto rizikového parametru u nich skutečně vedl ke zmírnění progresu či dokonce regresi zjištěných aterosklerotických změn.

Doufáme, že naše práce alespoň malou měrou přispěly k poznání, že rizikové faktory kardiovaskulárního onemocnění, stejně jako terapeutické cíle u dětských pacientů s chronickým renálním selháním pravděpodobně nejsou shodné s těmi pro běžnou populaci a k úspěšné léčbě těchto dětí je nezbytné brát na tyto zásadní odlišnosti zřetel.

Publikace autora, které jsou podkladem disertační práce

Impaktované:

Dvořáková HM, Szitányi P, Dvořák P, Janda J, Seeman T, Zieg J, Lánská V, Kotaška K, Piřha J. Determinants of premature atherosclerosis in children with end- stage renal disease. *Physiol. Res.* 61: 53-61, 2012

IF 1.56

Piřha J, Králová Lesná I, Poledne R, Kovář J, Lejsková M, **Dvořáková H**, Adámková S, Lánská V, Bobak M. Menopausal transition enhances the atherogenic risk of smoking in middle aged women. *Int J Cardiol.* 2012 Oct 4. pii: S0167-5273(12)01201-6. doi: 10.1016/j.ijcard.2012.09.095. [Epub ahead of print]

IF 7.078

Dvorakova HM., Pitha J., Szitanyi P., Dvorak P. Determinants of premature atherosclerosis in children with end- stage renal disease. *Atherosclerosis Supplements* 2008:9(1):180.

Seeman T, Simkova E, Kreisinger J, Vondrak K, Dusek J, Dvorak P, **Stuchlikova H**, Janda J. Reduction of proteinuria during intensified antihypertensive therapy in children after renal transplantation. *Transplant Proc* 2007:39(10):3150-2.

IF 1,01

Bez impakt faktorů

Janda J, Vondrák K, **Dvořáková H**, Seeman T. Chronické poruchy funkce ledvin u dětí a kardiovaskulární systém dětí. *Postgrad med* 2008:10(5):60–66.

Stuchlíková H, Piřha J, Szitányi P, Janda J. Možnosti stanovení rizika rozvoje předčasné aterosklerózy zobrazovacími metodami v dětském věku. *Čes-slov Pediatr* 2005:60(5):293-297.

Publikace autora, které nejsou podkladem disertační práce

Impaktované:

Zieg J, Blahova K, Seeman T, Bronsky J, **Dvorakova H**, Pechova M, Janda J, Matousovic K. Urinary transforming growth factor beta 1 in children with obstructive uropathy. Nephrology (Carlton) 2011;16(6):595-8.

IF 1,3

Obermannova B, Banghova K, Sumnik Z, **Dvořákova HM**, Betka J, Fencel F, Koloušková S, Cinek O, Lebl J. Unusually severe phenotype of neonatal primary hyperparathyroidism due to a heterozygous inactivating mutation in the CASR gene. Eur J Pediatr 2009;168(5):569-73.

IF 1.88

Szitányi P, Pistulková H, Hubáček JA, **Stuchlíková H**, Poledne R. APOE/intrauterine undernutrition interaction and hypercholesterolemia in children. Physiol Res 2008;57:965-8.

IF 1.56

Průša R, Blašík J, Kukačka J, Kizek R, **Stuchlíková H**. Plasma metallothionein levels in lead poisoned child. Toxicol Lett 2005;158(Suppl.1):S1-S276.

IF 3.23

Bez impakt faktorů

Stuchlíková H, Dvořák P, Remešová S, Procházka J, Kukačka J, Průša R, Janda J, Vavřinec J. Závažná intoxikace olovem z keramické čajové konvice u desetileté dívky. Čes-slov Pediatr 2006;61(12):692-696.

Szitányi P, **Stuchlíková H**, Janda J. Poruchy tukového metabolismu u dětí a dorostu a možnosti jejich léčby. Postgrad med Supplementum 2006;8(3):50-55.

Szitányi P, **Stuchlíková H**, Piřha J, Janda J. Porodní hmotnost a riziko kardiovaskulární morbidity (Bakerova hypotéza). Postgrad med 2005;7(3):21-23.

Literatura:

1. Basiratnia M, Fazel M, Lotfi M, Hosseini Al-Hashemi G, Fallahzadeh MH, Derakhshan A, and Salehipour M. Subclinical atherosclerosis and related risk factors in renal transplant recipients. *Pediatr Nephrol* 2010;25(2):343-8.
2. Belcaro G, Geroulakos G, Laurora G, Cesarone MR, De Sanctis MT, Incandela L, Barsotti A. Inter/intra-observer variability of carotid and femoral bifurcation intima-media thickness measurements. *Panminerva Med* 1993;35(2):75-9.
3. Bilginer Y, Ozaltin F, Basaran C, Aki TF, Karabulut E, Duzova A, Besbas N, Topaloglu R, Ozen S, Bakkaloglu M, and Bakkaloglu A. Carotid intima-media thickness in children and young adults with renal transplant: Internal carotid artery vs. common carotid artery. *Pediatr Transplant* 2007;11(8): 888-94.
4. Civilibal M, Caliskan S, Oflaz H, Sever L, Candan C, Canpolat N, Kasapcopur O, Bugra Z, and Arisoy N. Traditional and "new" cardiovascular risk markers and factors in pediatric dialysis patients. *Pediatr Nephrol* 2007;22(7):1021-9.
5. Civilibal M, Oflaz H, Caliskan S, Candan C, Canpolat N, Pehlivan G, Sever L, Kasapcopur O, and Arisoy N. Left ventricular systolic and diastolic function and carotid intima-media thickness in pediatric dialysis patients. *Int Urol Nephrol* 2009;41(2):401-8.
6. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, Vallance P, Vita J, and Vogel R. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: A report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J. Am. Coll. Cardiol* 2002;39:257-265.
7. Delucchi A, Dinamarca H, Gainza H, Whittle C, Torrealba I, and Iniguez G. Carotid intima-media thickness as a cardiovascular risk marker in pediatric end-stage renal disease patients on dialysis and in renal transplantation. *Transplant Proc* 2008;40(9):3244-6.
8. Dobiasova M, Frohlich J. The plasma parameter log (TG/HDL-C) as an atherogenic index: correlation with lipoprotein particle size and esterification rate in apoB-lipoprotein-depleted plasma (FER(HDL)). *Clin Biochem* 2001;34(7):583-8.
9. Jansen T, Hortmann M, Oelze M, Opitz B, Steven S, Schell R, Knorr M, Karbach S, Schuhmacher S, Wenzel P, Munzel T, and Daiber A. Conversion of biliverdin to

- bilirubin by biliverdin reductase contributes to endothelial cell protection by heme oxygenase-1-evidence for direct and indirect antioxidant actions of bilirubin. *J Mol Cell Cardiol* 2010;49(2):186-95.
10. Joannides R, Haefeli WE, Linder L, Richard V, Bakkali EH, Thuiliez C, and Lüscher TF.
Nitric Oxide Is Responsible for Flow-Dependent Dilatation of Human Peripheral Conduit Arteries In Vivo. *Circulation* 1995;91:1314 - 1319.
 11. Jourdan C, Wuhl E, Litin M, Fahr K, Trelewicz J, Jobs K, Schenk JP, Grenda R, Mehls O, Troger J, and Schaefer J. Normative values for intima-media thickness and distensibility of large arteries in healthy adolescents. *J Hypertens* 2005;23(9):1707-15.
 12. Kavey RW, Allada V, Daniels SR, Hayman LL, McCrindle BW, Newburger JW, Parekh RS, and Steinberger J. Cardiovascular Risk Reduction in High-Risk Pediatric Patients: A Scientific Statement From the American Heart Association Expert Panel on Population and Prevention Science; the Councils on Cardiovascular Disease in the Young, Epidemiology and Prevention, Nutrition, Physical Activity and Metabolism, High Blood Pressure Research, Cardiovascular Nursing, and the Kidney in Heart Disease; and the Interdisciplinary Working Group on Quality of Care and Outcomes Research: Endorsed by the American Academy of Pediatrics. *Circulation* 2006;114:2710 - 2738.
 13. Leeson P, Thorne S, Donald A, Kuklen M, Clarkson P, and Deanfield J. Non-invasive measurement of endothelial function: effect on brachial artery dilatation of graded endothelial dependent and independent stimuli. *Heart* 1997;78:22 - 27.
 14. Lilien MR, Stroes ES, Op't Roodt J, De Jongh S, Schroder CH, and Koomans HA. Vascular function in children after renal transplantation. *Am J Kidney Dis* 2003;41(3):684-91.
 15. Litwin M, Wühl E, Jourdan C, Trelewicz J, Niemirska A, Fahr K, Jobs K, Grenda R, Šašer ZT, Rajszyś P, Tröger J, Mehls O, and Schaefer F. Altered Morphologic Properties of Large Arteries in Children with Chronic Renal Failure and after Renal Transplantation. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2005;16:1494-1500.
 16. Mitsnefes MM, Kimball TR, Witt SA, Glascock BJ, Kňoury PR, and Daniels SR. Abnormal Carotid Artery Structure and Function in Children and Adolescents With Successful Renal Transplantation. *Circulation* 2004;110:97-101.

17. Mitsnefes MM. Cardiovascular complications of pediatric chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2008;23(1):27-39.
18. Querfeld U. Is atherosclerosis accelerated in young patients with end-stage renal disease? The contribution of paediatric nephrology. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17:719-722.
19. Pitha J, Krajickova D, Cifkova R, Hubacek J, Petrzikova Z, Hejl Z, Stavek P, Skibova J, Poledne R. Intima-media thickness of carotid arteries in borderline hypertensives. *J Neuroimaging* 1999;9(1):19-22.
20. Poyrazoglu HM, Dusunsel R, Yikilmaz A, Narin N, Anarat R, Gunduz Z, Voskuj A, Baykan A, and Ozturk A. Carotid artery thickness in children and young adults with end stage renal disease. *Pediatr Nephrol* 2007;22(1):109-16.
21. Saland JM, Pierce CB, Mitsnefes MM, Flynn JT, Goebel J, Kupferman JC, Warady BA, Furth SL, and CKiD Investigators. Dyslipidemia in children with chronic kidney disease. *Kidney Int* 2010; 78(11):1154-63.
22. Salonen R, Haapanen A, Salonen JT. Measurement of intima-media thickness of common carotid arteries with high-resolution B-mode ultrasonography: inter- and intra-observer variability. *Ultrasound Med Biol* 1991;17(3):225-30.
23. Schmidt C, Wendelhag I. How can the variability in ultrasound measurement of intima-media thickness be reduced? Studies of interobserver variability in carotid and femoral arteries. *Clin Physiol* 1999;19(1):45-55.
24. Schwartz GJ, Haycock GB, Edelmann CM Jr, Spitzer A. A simple estimate of glomerular filtration rate in children derived from body length and plasma creatinine. *Pediatrics* 1976;58(2):259-63.
25. Stuchlíková H, Piřha J, Szitányi P, Janda J. Možnosti stanovení rizika rozvoje předčasné aterosklerózy zobrazovacími metodami v dětském věku. *Čes-slov Pediat* 2005;60(5):293-297.
26. Tamura H, Suzue T, Jitsunari F, and Hirao T; Evaluation of carotid arterial intima-media thickness (IMT) and its relation to clinical parameters in Japanese children. *Acta Med Okayama* 2011;65(1):21-5.
27. Traindl O, Falger S, Reading S, Banyai M, Liebisch B, Gisinger J, Templ E., Mayer G, Kovarik J. The effects of lisinopril on renal function in proteinuric renal transplant recipients. *Transplantation* 1993;55:1309-13.

28. Vercoza AM, Baldisserotto M, de Los Santos CA, Poli-de-Figueiredo CE, and d'Avila DO. Cardiovascular risk factors and carotid intima-media thickness in asymptomatic children. *Pediatr Cardiol* 2009;30(8):1055-60.
29. Wilson AC, Mitsnefes MM. Cardiovascular disease in CKD in children: update on risk factors, risk assessment, and management. *Am J Kidney Dis* 2009;54(2):345-60.
30. Wilson AC, Urbina E, Witt SA, Glascock BJ, Kimball TR, and Mitsnefes M. Flow-mediated vasodilatation of the brachial artery in children with chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2008; 23(8):1297-302.