

**Univerzita Karlova**

**2. lékařská fakulta**

Studijní program: Biochemie a patobiochemie



**MUDr. Jan Ohem**

**Optimalizace biologické léčby nespecifických střevních zánětů (IBD) u dětí s  
využitím moderních biomarkerů**

**Optimization of biologic therapy in children with inflammatory bowel disease  
(IBD) using modern biomarkers**

**Disertační práce**

**Školitel:**

Doc. MUDr. Jiří Bronský, Ph.D.

Pediatrická klinika

UK 2.LF a FN Motol, Praha

**Praha, 2020**

## OBSAH

OBSAH	1
Poděkování	5
Prohlášení o samostatném zpracování disertační práce	6
Seznam zkratk	7
1. Cíle práce a stanovení hypotéz	12
1.1. Cíle práce	12
1.2. Stanovení hypotéz projektu	13
2. Přehled současného stavu znalostí	14
2.1. Zánětlivá střevní onemocnění (Inflammatory bowel diseases - IBD) - Definice a epidemiologie	14
2.1.1. Vymezení základních pojmů	14
2.1.2. Epidemiologie IBD v dospělé populaci - incidence, prevalence a výskyt komplikací	15
2.1.3. Epidemiologie a základní fakta o IBD v dětské populaci	19
2.1.3.1. Incidence	19
2.1.3.2. Prevalence	20
2.1.3.3. Věkové rozložení výskytu IBD	21
2.1.3.4. Ostatní charakteristiky	21
2.2. Crohnova choroba (CD)	22
2.2.1. Klasifikace	22
2.2.2. Diagnostika	23
2.2.2.1. Klinické projevy	24
2.2.2.2. Laboratorní diagnostika	25

2.2.2.2.1. Potenciální nové diagnostické markery	26
2.2.2.2.2. Diagnostika u dětí do 6 let	26
2.2.2.3. Endoskopická a histologická diagnostika	27
2.2.2.4. Zobrazovací metody	29
2.2.3. Léčba	30
2.2.3.1. Konvenční metody navození remise CD	30
2.2.3.2. Konvenční metody udržovací léčby CD	34
2.2.3.3. Chirurgická léčba	36
2.2.3.4. Biologická léčba (BL)	38
2.2.3.4.1. Základní charakteristika	38
2.2.3.4.2. Navození remise CD	43
2.2.3.4.3. Udržovací léčba CD	47
2.2.3.4.4. Postup při selhání biologické léčby	48
2.2.3.5. Ostatní možnosti léčby	49
2.3. Infliximab (IFX)	49
2.3.1. Farmakologická charakteristika	50
2.3.2. Všeobecné indikace použití	52
2.3.3. Nežádoucí účinky	53
2.4. Monitorace aktivity onemocnění	55
2.4.1. Klinické známky	55
2.4.2. Běžné laboratorní metody	58
2.4.3. Fekální kalprotektin (CPT)	59
2.4.4. Endoskopické vyšetření	59
2.4.5. Měření hladin IFX a protilátek (ATI)	60
2.4.5.1. Způsoby měření, dostupnost v ČR a cena	60
2.4.5.2. Využití znalosti hladin a protilátek v modifikaci terapie v dospělé populaci	63

2.4.5.3. Využití znalosti hladin a protilátek	
v modifikaci terapie v dětské populaci	67
3. Metody	72
3.1. Soubor pacientů	73
3.2. Sběr klinických dat	74
3.3. Laboratorní metody	74
3.3.1. Stanovení fekálního kalprotektinu	74
3.3.2. Stanovení hladin IFX a ATI v séru	75
3.3.3. Stanovení ostatních analytů	75
3.4. Statistické metody	76
3.5. Informovaný souhlas a schválení etické komise	77
4. Výsledky	78
4.1. Vztah mezi sérovými hladinami IFX a ATI	80
4.2. Vztah mezi sérovými hladinami IFX a laboratorními markery	82
4.3. Definování optimální cut-off hladiny IFX pro zánětlivé parametry	85
4.4. Prediktory laboratorní remise	89
4.4.1. Remise definovaná pomocí C-reaktivního proteinu (CRP)	89
4.4.2. Remise definovaná pomocí sedimentace erytrocytů	90
4.4.3. Remise definovaná hladinou fekálního kalprotektinu	90
5. Diskuze	93
5.1. Měření hladin a protilátek v dospělé populaci	93
5.1.1. Doporučení pro měření hladin a situace v ČR	93
5.1.2. Úprava terapie dle naměřených hodnot	95
5.2. Měření hladin a protilátek v dětské populaci	98

5.2.1.	Doporučení pro měření hladin a situace v ČR a v zahraničí	98
5.2.2.	Doporučené a užívané cut-off hodnoty	99
5.2.3.	Úprava terapie dle naměřených hodnot	99
5.2.4.	Budoucnost využití znalosti hladin IFX a ATI v klinické praxi	101
6.	Další vědecká aktivita autora	103
6.1.	Prediktory IGRA (interferon gamma release assay) testu v dětské populaci	103
6.1.1.	Úvod	103
6.1.2.	Materiály a metody	103
6.1.3.	Výsledky a závěr	105
6.2.	Fekální kalprotektin jako prediktor endoskopické a histologické remise	107
6.2.1.	Úvod	107
6.2.2.	Materiály a metody	108
6.2.3.	Výsledky a závěr	110
7.	Závěr	112
8.	Souhrn	113
9.	Summary	114
10.	Použitá literatura	115
11.	Seznam publikací	133
11.1.	Původní práce a přehledné články v časopisech s definovaným impakt faktorem	133
11.2.	Ostatní přednášky, spoluautorství a postery	133
12.	Přílohy	135

## PODĚKOVÁNÍ

Rád bych poděkoval za podporu a výjimečně trpělivé vedení v průběhu celého studia svému školiteli Doc. MUDr. Jiřímu Bronskému, Ph.D. Také bych rád poděkoval personálu laboratoří Ústavu lékařské chemie a klinické biochemie FN Motol a 2.LF UK a zvláště pak Mgr. Petře Bukovské za zaškolení a vedení laboratorních prací při měření analytů. Doc. MUDr. Ondřeji Hradskému, Ph.D. děkuji za zpracování statistických dat. Dále bych chtěl vyjádřit díky všem, kteří mi pomohli se sběrem a zpracováním biologických vzorků, především sestrám gastroenterologického oddělení Pediatrické kliniky FN Motol. V neposlední řadě děkuji i prim. MUDr. Jaroslavě Chrtkové a kolektivu lékařů Dětského oddělení Klaudiánovy nemocnice, kteří mi vycházeli vstříc při skloubení studia a pracovních povinností.

Za podporu během celého studia děkuji především své rodině a přátelům, zejména Nataše Vokálové, Jakobovi Krupkovi, Karolíně Vokálové, Vítu Hladkému, Pavlu Kuprovi, Ondřeji Linhartovi, rodině Bergmannově a především trpělivé a skvělé partnerce Pavle Jánské.

## PROHLÁŠENÍ O SAMOSTATNÉM ZPRACOVÁNÍ DISERTAČNÍ PRÁCE

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci na téma „Optimalizace biologické terapie nespecifických střevních zánětů (IBD) u dětí s použitím moderních biomarkerů“ 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.

V Praze dne 10. 1. 2020

Jan Ohem

Podpis

## SEZNAM ZKRATEK

5-ASA	5-aminosalicylová kyselina
6-MP	6-merkaptopurin
6-TG	6-thioguanin
Ab	antibody/protilátka
ADA	adalimumab
ALP	alkalická fosfatáza
ALT	alaninaminotransferáza
AML	amyláza
ANCA	anti-neutrophil cytoplasmic antibodies/protilátky proti cytoplazmě neutrofilů
ANA	anti nuclear antibody/protilátky proti jáderným strukturám
Apod.	a podobně
ASA	aminosalicyláty
ASCA	anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies/protilátky proti Saccharomyces cerevisiae
AST	aspartátaminotransferáza
ATB	antibiotika
Atd.	a tak dále
ATG16L1	autophagy-related protein 16-1
ATI	antibodies to infliximab/protilátky proti infliximabu
AUC	area under a curve/plocha pod křivkou
AZA	azathioprin



BL	biologická léčba
CARD15	caspase recruitment domain-containing protein 15
CD	Crohn's disease/Crohnova choroba
CD20	cluster of differentiation/diferenční skupina 20
CI	confidence interval/konfidenční interval
CRP	c-reaktivní protein
CMV	cytomegalovirus
CPT	fekální kalprotektin
CT	computed tomography/počítačová tomografie
CTLA4	cytotoxický antigen 4 asociovaný s T-lymfocyty
CVID	common variable immunodeficiency
ČR	Česká republika
dsDNA	double stranded deoxyribonucleic acid
EBV	virus Epstein Barrové
ECCO	European Crohn's and Colitis Organization/Evropská organizace pro Crohnovu chorobu a Ulcerózní kolitidu
EEN	exclusive enteral nutrition
EEV	exkluzivní enterální výživa
ELISA	enzyme-linked Immuno sorbent assay
EMA	endomysial antibody/protilátky proti endomyziu
ERCP	endoskopická retrográdní cholangiopankreatikografie
ESPGHAN	European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/Evropská společnost pro dětskou gastroenterologii, hepatologii a výživu
ESR	erythrocyte sedimentation rate, sedimentace erytrocytů (FW)
FDA	Food and drug administration

FW	Fahræus Westergren/sedimentace erytrocytů
GAUK	Grantová agentura univerzity Karlovy
GGT	gama-glutamyl transferáza
GIT	gastrointestinální trakt
GM-CSF	granulocyte-macrophage colony-stimulatingfactor
HBsAg	hepatitis B surface antigen
HMSA	homogeneous mobility shift assay
HPV	human papilloma virus/lidský papilomavirus
IBD	inflammatory bowel disease
IBD-U	inflammatory bowel disease unclassified
IBD1	inflammatory bowel disease protein 1
IC	ileocékální
ICAM1	intercellular adhesion molecule 1
IFX	infliximab
IgA	imunoglobulin A
IgE	imunoglobulin E
IgG	imunoglobulin G
IgM	imunoglobulin M
IGRA	interferon gamma release assay
IL	interleukin
IL23R	interleukin-23 receptor
IQR	interkvartilové rozpětí
i.v.	intravenózní
KO+diff.	krevní obraz s diferenciálním rozpočtem

LPS	lipáza
MAB	monoclonal antibody/monoklonální protilátka
MR	magnetická rezonance/ magnetic resonance
MRCP	magnetic resonance cholangio-pancreatography
MRE	MR enterografie
MTX	methotrexát
Např.	například
NASPGHAN	North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition/Severoamerická společnost pro dětskou gastroenterologii, hepatologii a výživu
NBT test	nitro blue tetrazolium test
NF-kappa	nuclear factor kappa
NOD2	nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2
NSAID	nonsteroidal anti-inflammatory drugs/nesteroidní antirevmatika
NYHA	New York Heart Association
OR	odds ratio
ORL	otorhinolaryngologie
PCDAI	pediatric Crohn's disease activity index
PCR	polymerase chain reaction/polymerázová řetězová reakce
p.o.	per orálně
POC	point of care
PSC	primární sklerozující cholangitida
PUCAI	pediatric ulcerative colitis activity index

RIA	radio-immuno assay
ROC	receiver operating characteristic
RTG	rentgen
SD	směrodatná odchylka
SES-CD	simple endoscopic score for Crohn's disease
SICUS	small intestine contrast ultrasound
TBC	tuberkulóza
TNF alfa	tumor necrosis factor alfa
TPMT	thiopurinmethyltransferáza
TTG	tissue transglutaminase antibody/protilátky proti tkáňové transglutamináze
Tzv.	takzvané
UC	ulcerózní kolitida
UZ	ultrazvuk
VCAM1	vascular cell adhesion molecule1
vs.	versus
VZV	varicella zoster virus
WCE	wireless capsule endoscopy/vyšetření endoskopickou kapslí
WHO	World Health Organization/Světová zdravotnická organizace

## 1. CÍLE PRÁCE A STANOVENÍ HYPOTÉZ

### 1.1. Cíle práce

Cílem našeho výzkumu bylo:

1. Zhodnotit, zda jsou sérové hladiny IFX (infiximab) a ATI (antibodies to infiximab, protilátky proti infiximabu) během udržovací fáze terapie u dětských pacientů s Crohnovou chorobou (CD) asociované s laboratorní remisí onemocnění definovanou jako CRP pod 5 mg/l či s druhotnými ukazateli definovanými jako sedimentace erytrocytů menší nebo rovnou 20 mm/hod a hodnotou fekálního kalprotektinu menší nebo rovnou 100 µg/g.
2. Identifikovat prediktivní faktory sérových hladin IFX pomocí metody multivariate mixed model.
3. Stanovit sérovou hladinu IFX, která by byla s nejlepší senzitivitou a specificitou spojena s remisí onemocnění určenou nevhodnějším laboratorním ukazatelem této remise.
4. Objasnit vzájemnou asociaci sérových hladin IFX a ATI u dětských pacientů s CD.

## **1.2. Stanovení hypotéz projektu**

Základními hypotézami projektu jsou:

1. Sérové hladiny IFX a ATI jsou asociované s laboratorními ukazateli aktivity CD.
2. Existují prediktivní faktory sérové hladiny IFX.
3. Lze určit sérovou hladinu IFX, která odpovídá s nejlepší senzitivitou a specificitou remisi onemocnění určené jiným laboratorním ukazatelem.
4. Sérové hladiny IFX jsou nepřímo úměrné hladinám ATI.

## 2. PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU ZNALOSTÍ

### 2.1. Zánětlivá střevní onemocnění (Inflammatory bowel diseases - IBD) - Definice a epidemiologie

#### 2.1.1. Vymezení základních pojmů

Nozologickými jednotkami IBD jsou Crohnova nemoc (CD), ulcerózní kolitida (UC) a neklasifikovatelné zánětlivé střevní onemocnění (IBD-U). Při CD může být postižena celá šíře stěny GIT a to v celé délce zažívacího traktu. Vyskytují se segmentálně postižená ložiska a mohou se vyskytovat striktury a píštěle. UC je střevní zánět postihující jen mukózu a submukózu tlustého střeva a to v kontinuálních lézích postihujících nejvíce aborální části kolon. Kromě CD a UC je popisována ještě diagnostická jednotka nesoucí název IBD-U (Inflammatory bowel disease unclassified), kde je postiženo kolon, ale není možné jednoznačně rozlišit, zda se jedná o CD nebo UC (Bronský et al., 2012; Levine et al., 2014; Nevoral, 2013).

Příčina vzniku IBD je dosud ne zcela objasněna. V současné době se jako nejpravděpodobnější příčina považuje dysregulace imunitní odpovědi na běžné bakteriální antigeny. Významnou roli hrají cytokiny (TNF alfa- tumor necrosis factor alfa a další), metabolity kyseliny arachidonové a kyslíkové radikály. Uvažuje se také o vlivu kouření matky v průběhu těhotenství a vyšším věku při početí. V průběhu onemocnění dochází k destrukci střevní tkáně a jejímu nahrazování fibrotickou tkání s funkčními a mechanickými důsledky na trávení. Jednoznačný vliv infekčního agens na vznik IBD zatím nebyl prokázán.

Zánětlivá střevní onemocnění se dostávají do popředí zájmu dětských gastroenterologů vzhledem k jejich stoupající incidenci v populaci a k posunu jejich manifestace do nižšího věku, což je považováno za velmi rizikový faktor těchto onemocnění. Je zde tedy nutné zahájit intenzivní terapii co nejdříve, protože nepříznivý průběh choroby může velmi negativně ovlivnit další růst a vývoj dětského pacienta. Velký důraz je také kladen na efektivní monitoraci terapie a průběhu choroby směřující ke snaze předejít relapsům nebo alespoň zmírnit jejich následky, které jsou pro pacienta velmi zatěžující a znatelně snižují kvalitu života. Tato dizertační práce popisuje současný pohled na terapii IBD. Podrobněji je zde popsána především biologická léčba (BL) a její monitorace, srovnání s BL v dospělé populaci a možnosti její další optimalizace (F.M.

et al., 2014; Gionchetti et al., 2017; Gomollón et al., 2018, 2017; Gouldthorpe, Catto-Smith, & Alex, 2011; Harbord et al., 2017; Lebl J., Janda J., Stary J., 2014; Levine et al., 2014; Magro et al., 2017; Nevoral, 2013).

## 2.1.2. Epidemiologie IBD v dospělé populaci - incidence, prevalence a výskyt komplikací

### **Situace v zahraničí**

V posledních letech je patrný nárůst incidence IBD a to především ve vyspělých zemích a městských oblastech. Nejčastěji onemocnění začíná v období dospívání a poté mezi 50.-80. rokem života. Čím dříve se onemocnění projeví, tím horší průběh můžeme očekávat. Nevoral et al. udává incidenci CD 3-4/100 000 a prevalenci 30-100/100 000 a incidenci 15/100 000 a prevalenci 100-200/100 000 u UC v Evropské populaci (Nevoral, 2013). Zvyšování incidence IBD v posledních desetiletích potvrzuje i Burisch a Munkholmová, kdy například ve Skotské kohortě pacientů došlo od 90. let k nárůstu incidence IBD o 76%. Tento nárůst je dáván do souvislosti především s faktory zevního prostředí, ale také s lepší dostupností zdravotní péče a diagnostických možností. Výrazný vliv má nejspíše "západní" životní styl. Západní evropské země vykazují až dvojnásobnou incidenci IBD oproti zemím východním. Jedním z faktorů by mohl být větší obsah živočišného tuku a proteinů, potravinových aditiv a nižší obsah vlákniny v západních stravovacích zvyklostech nebo vyšší výskyt vzdušného znečištění ve větších aglomeracích. Celosvětová incidence se podle dat Burische a Munkholmové pohybuje mezi 0,1-20/100 000 pro CD a 0,5-31,5/100 000 pro UC (Burisch& Munkholm, 2013; Maaser et al., 2017). Molodecky uvádí nejvyšší roční incidenci UC v Evropě, Asii a Severní Americe 24,3; 6,3 a 19,2/100 000 a pro CD 12,7; 5 a 20,2/100 000. Prevalenci UC a CD pak uvádí v Evropě 505 a 322/100 000 a v Severní Americe 249 a 319/100 000 (Molodecky et al., 2012).

Zvyšující se incidence z výše uvedených dat je patrná i při srovnání s prací z roku 1996, kde byla udávána incidence UC 7,6-13,1/100 000 a CD 2,8-8,3/1000 000 (Shivananda et al., 1996).

Vliv "západního" životního stylu na incidenci IBD je patrný ze vzestupu incidence UC a CD v Japonsku z 0,08/100 000 obyvatel v roce 1965 na 1,95/100 000 obyvatel u UC a z 0,01 na 0,51 u CD. Dále dochází podobně jako v západních zemích ke snížení poměru UC/CD. Incidence



relapsů se zdá být srovnatelná se západními zeměmi (K.T., E.V., & W.J., 2008). Studie ACCESS dokladuje, že např. v Hong Kongu došlo za posledních 30 let ke 30-ti násobnému vzestupu incidence IBD. Dále tato práce potvrzuje již zmíněnou nejvyšší incidenci IBD mezi asijskými státy v Indii. Celková incidence v Asii je odhadována na méně než 5/100 000.

Vliv zevního prostředí na výskyt IBD potvrzují i Weimers a Munkholmová v recentní studii. Udávají světově největší incidenci IBD v severní Americe a severní Evropě (UC v severní Evropě 1,6-31,8/100 000 a CD 0,0-16/100 000). Největší incidence byla zaznamenána na Faerských ostrovech, a to 83/100 000. Tento celkově zvyšující se trend incidence IBD se předpokládá i do budoucna a některé odhady hovoří např. o 70% nárůstu případů IBD v Kanadě v roce 2025 oproti roku 2015 (Weimers& Munkholm, 2018).

Vliv prostředí je patrný i u migrujícího obyvatelstva (je doložena existence východo-západního a jiho-severního gradientu výskytu IBD), kdy je vliv prostředí nejvýraznější v raných fázích života. Tento jev je vysvětlován osidlováním střeva bakteriemi, které se děje v raném věku. Složení střevní mikrobioty má vliv na následný vývoj imunitního systému. Vliv migrace dokladuje až dvojnásobnou incidenci UC u Asijských migrantů ve Velké Británii, tento rozdíl však nebyl potvrzen u pacientů s CD. Vliv migrace a prostředí dokladuje o 25% vyšší incidence IBD v Dánsku u první generace migrantů z Faerských ostrovů než u původních obyvatel Dánska. Avšak po 10 letech pobytu v Dánsku se tento rozdíl vyrovnává.

Na zvýšený výskyt IBD mají dle ECCO vliv i další faktory jako např. zvýšený počet porodů Císařským řezem nebo menší počet členů rodiny. Také se ukázalo, že vakcinace či pití kávy by neměli mít vliv na výskyt IBD (Maaser et al., 2017).

### **Situace v ČR**

Situaci v ČR mapuje práce Jarkovského a kol. z let 2007-2013. Zde se incidence IBD v ČR pohybuje mezi 12-15/100 000. I zde došlo k výraznému nárůstu za poslední roky. Incidence CD stoupla z 12,8/100 000 v roce 2007 na 20,7/100 000 v roce 2013 a obdobná je situace i u UC, kdy incidence 16,6/100 000 v roce 2007 stoupla na 24,1/100 000 v roce 2013. Prevalence CD stoupla z 139,8/100 000 v roce 2007 na 194,5/100 000 v roce 2014. U UC stoupla prevalence v uvedeném intervalu z 195,7/100 000 na 230,6/100 000. Dle uvedených dat počty z ČR odpovídají zahraniční literatuře, která udává prevalenci IBD mezi 0,3-1,5% celkové populace.

Z těchto dat vyplývá, že i v poměrně krátkém intervalu 5 let lze sledovat významný nárůst počtu pacientů s IBD (Jarkovský, Benešová, Hejduk, Dušek, & Lukáš, 2017).

Pro přehlednost jsou data o prevalenci a incidenci IBD u dospělých pacientů uvedena v tabulce 1.

### **Komplikace IBD**

S IBD se pojí i mnoho souvisejících komplikací. Co se týká mortality pacientů s IBD, ta je dle dat z dánské studie zvýšená o 10% u pacientů s UC oproti obecné populaci a až o 50% u pacientů s CD. Toto číslo je nižší v IBD centrech s velkým počtem pacientů, což dokládá potřebu centralizace a vysoce specializované péče. Na riziko vzniku kolorektálního karcinomu u pacientů s UC jsou dle literárních zdrojů různé názory. Podle některých prací se zdá být stejné nebo lehce vyšší než u obecné populace. To platí i u CD, kde se riziko zvyšuje jen při postižení kolon (Burisch & Munkholm, 2013). V kontrastu oproti výše uvedeným datům Weimers a Munkholmová uvádějí vyšší riziko kolorektálního karcinomu u pacientů s IBD v porovnání s běžnou populací. Také riziko úmrtí je popsáno u CD o 34% vyšší v porovnání s věkově a pohlavím srovnatelnou populací. U UC není obecně popisováno zvýšené riziko úmrtí, ale v subpopulaci pacientů s UC bylo největší riziko úmrtí spojené s rozsáhlým postižením kolon a také v časných fázích onemocnění (Weimers & Munkholm, 2018). Další komplikací je např. zvýšený výskyt tromboembolických onemocnění u pacientů s IBD, který se udává až dvojnásobný oproti běžné populaci (Shanahan & Bernstein, 2009). Na druhé straně je potřeba zmínit zlepšující se kvalitu péče o pacienty s IBD, která se odráží např. v klesajícím kumulativním počtu kolektomií u UC zjištěném Kanadskou studií, kde byl zaznamenán pokles celkového počtu kolektomií po 5ti letém průběhu choroby z 8,7% u pacientů léčených v letech 1987-1994 na 5,8% u pacientů léčených v letech 2002-2008. Jedním z možných vysvětlení může být časnější užití imunosupresiv a možnost použití biologické léčby. Podobný trend se zdá být i u chirurgické terapie CD, ovšem zde data nejsou zcela jednoznačná.

U CD jsou nejčastějšími komplikacemi striktura a vznik fistulujícího onemocnění (perianální či nitrobršňní píštěle a abscesy). V americké kohortě se až u 50% pacientů po 20 letech choroby objevily píštěle, a to nejčastěji (54%) perianální. V 1. roce od stanovení diagnózy

bylo v Evropské kohortě 75% pacientů v remisi. Až 30-40% pacientů prodělá v průběhu CD chirurgický zákrok, avšak procento provedených zákroků v čase klesá - kumulativní riziko chirurgického zákroku u pacientů z let 1962-1987 bylo 35%, zatímco v letech 2003 a 2004 jen 12% (Weimers& Munkholm, 2018).

Dalším sledovaným parametrem je počet hospitalizací a hospitalizační mortalita u pacientů s IBD. Nejvíce hospitalizovaných pacientů v přepočtu na 10 000 u pacientů s IBD bylo ve věku 10-24 let, kdy se ukázalo, že počet následných hospitalizací je tím vyšší, čím je nižší věk při první hospitalizaci. Počet hospitalizací pacientů s CD byl dvojnásobný oproti pacientům s UC. Většina pacientů (87% s CD a 84,1% s UC) je hospitalizována maximálně 2 týdny. Hospitalizační mortalita u pacientů s CD mezi roky 2007 a 2015 poklesla z 0,7% na 0,4% (Jarkovský et al., 2017).

**Tab. 1. Incidence a prevalence IBD dle různých autorů**

CD	Incidence/100 000	Prevalence/100 000	Autor
	3-4	30-100	Nevoral, 2013
	0,1-20		Burisch & Munkholm, 2013
	0,0-16		Weimers & Munkholm, 2018
	20,7	194,5	Jarkovský, Benešová, Hejduk, Dušek, & Lukáš, 2017
	12,7	505	Molodecky 2012
UC			
	15	100-200	Nevoral, 2013
	0,5-31,5		Burisch & Munkholm, 2013
	1,6-31,8		Weimers & Munkholm, 2018
	24,1	230,6	Jarkovský, Benešová, Hejduk, Dušek, & Lukáš, 2017
	24,3	322	Molodecky 2012

Legenda: CD- Crohnova choroba, UC- ulcerózní kolitida

### 2.1.3. Epidemiologie a základní fakta o IBD v dětské populaci

#### 2.1.3.1. Incidence

Podobně jako je tomu u dospělé populace, i u dětí je zvyšování incidence IBD asociováno se západním životním stylem. Mezinárodní incidence CD a UC na 100 000 dětí na počátku 20. století je uvedena v tabulce 2 (Benchimol et al., 2011). V obdobném rozmezí se pohybují i data ze studie zpracované Olivierou a Akshayem (Akshay, Vidyut, & Sibal, 2013). Místně specifická data ukazují celkovou incidenci CD a UC v Kanadě, kde je udávána 6,5 a 2,4 na 100 000 obyvatel (Benchimol et al., 2017).

Narůstající výskyt potvrzuje 2,7násobné zvýšení incidence UC během 10 let u dětské populace v Severní Karolíně (USA). Podobné trendy zvyšující se incidence IBD jsou zaznamenány studii v Austrálii, kde došlo za 30 let do roku 2001 k 10násobnému nárůstu incidence CD a 11násobnému nárůstu incidence UC a v Kanadě, kde došlo ke zvýšení incidence CD z 9,5 na 11,4 na 100 000 obyvatel (Day et al., 2012).

Pokud se podíváme na data z České republiky i zde je patrný nárůst incidence CD. A to jak v letech 1990-2001, tak i mezi lety 2000-2015. V první uvedené periodě se ukázal 5násobný nárůst incidence CD a to z 0,25 na 1,26 na 100 000 (Pozler et al., 2006). Největší nárůst incidence byl následně popsán u CD ve věkové kategorii 12-19 let (Schwarz, 2017) (tabulka 2). Podobný trend dokumentoval i Kolek ve své práci popisující vzestup incidence CD v letech 1990-1993, 1994-1997 a 1998-2001 z 0 přes 0,47 až na 2,69 na 100 000. Incidence UC ve stejných letech rostla z 0,68 přes 0,994 až na 1,84 na 100 000 (Kolek, Janout, Tichy, & Grepl, 2004).

Možný vliv západního životního stylu zde dokladuje 3x vyšší incidence IBD v Britské Kolumbii u dětí původem z jižní Asie než u dětí z ostatních oblastí Asie (Oliveira & Monteiro, 2017). Vyšší výskyt IBD je zaznamenán i u dětí rodin migrujících z rozvojových do rozvinutých zemí.

Incidence a prevalence IBD u dětí jsou pro přehlednost uvedeny v tabulce 2.

### 2.1.3.2. Prevalence

Celková prevalence u CD a UC na 100 000 obyvatel v USA je udávána 58 a 34, (Kappelman, Moore, Allen, & Cook, 2013). Data z Kanady pak udávají u dětí do 16 let v letech 1999-2010 celkovou prevalenci IBD 38,2 na 100 000 obyvatel. Prevalence pro CD a UC je pak 25,5 a 10,7 na 100 000. Pokud se podíváme na rozdíl celkových prevalencí dětských IBD v delším časovém období, je zde patrný nárůst prevalence z hodnoty 33,2 v roce 2000 na 46,2 v roce 2008. Ve zkoumaných letech 1999-2010 došlo k nárůstu prevalence IBD o 4,6% za rok. Nárůst jednotlivých prevalencí za rok byl u CD a UC 3,9% a 4,4% (Benchimol et al., 2017). O něco vyšší prevalence byla ve Švédsku v roce 2010 a to 29 a 30 na 100 000 obyvatel u CD a UC (Ludvigsson et al., 2017). V nižších hodnotách se pohybují data ze Severní Karolíny, kde v roce 2006 byla hlášena prevalence CD a UC 12 a 19,5 na 100 000 obyvatel (Abramson et al., 2010).

**Tab. 2. Incidence a prevalence IBD u dětí dle různých autorů**

CD	Incidence/100 000	Autor	Prevalence/100 000	Autor
	1,74-12,36	Benchimol et al., 2011	58	Kappelman, 2013
	0,27-9,2	Oliveira & Monteiro, 2017	25,5	Benchimol, 2017
	0,6-6,8	Akshay, Vidyut, & Sibal	29	Ludvigsson et al., 2017
	6,2	Schwarz, 2018	12	Abramson et al., 2010
UC				
	0,5-5	Benchimol et al., 2011	34	Kappelman, 2013
	0,2-6,7	Oliveira & Monteiro, 2017	10,7	Benchimol, 2017
	0,8-3,6	Akshay, Vidyut, & Sibal	30	Ludvigsson et al., 2017
	2,8	Schwarz, 2018	19,5	Abramson et al., 2010

Legenda: CD- Crohnova choroba, UC- ulcerózní kolitida

### 2.1.3.3. Věkové rozložení výskytu IBD

Udává se, že až u 25% pacientů s IBD choroba propukne v dětství a adolescenci (do 20 let), 4% IBD se prezentuje před 5. rokem a 18% před 10. rokem života (Akshay et al., 2013; Benchimol et al., 2011; Day et al., 2012; Rosen, Dhawan, Saeed, & Bowel, 2016). Téměř totožná čísla vzešla z české studie plzeňského kraje (Schwarz, 2017). Počátek onemocnění je ve velmi útlém věku málo častý. Pozler při sběru dat z let 1990-2001 zachytil nejmladšího pacienta v ČR s CD ve věku 3 let a s UC ve věku 2 let (Pozler et al., 2006). Nejvíce hospitalizovaných pacientů v přepočtu na 10 000 u pacientů s IBD bylo dle Jarkovského v ČR ve věku 10-24 let (Jarkovský et al., 2017). Aktuálnější data z plzeňského regionu udávají medián věku při diagnóze IBD 14,2 (1,4-18,3), kdy nejmladšímu pacientovi s CD a UC bylo v době diagnózy 1,4 a 2,7 roku (Schwarz, 2017). Jako specifickou skupinu je nutné uvést IBD u dětí do 2 let, kde představuje asi 1-2% všech IBD a často zde bývá pozitivní rodinná anamnéza. V této skupině je nutné vyloučit jiné diagnózy, které mohou IBD imitovat. Mezi tyto onemocnění patří infekce, eozinofilní střevní záněty nebo imunodeficitní stavy (viz. níže).

### 2.1.3.4. Ostatní charakteristiky

Rozdíly mezi dětskými a dospělými pacienty nejsou jen v prevalenci a incidenci, ale i ve formě výskytu obou chorob. U dětských pacientů se UC častěji vyskytuje jako pankolitida

(v 85-90% případů), zatímco u dospělých častěji postihuje pouze distální kolon. CD před pubertou postihuje více chlapce než dívky a prezentuje se ponejvíce jako ileokolické a kolické postižení (Akshay et al., 2013; Benchimol et al., 2011). U celé pediatrické populace je uváděn poměr chlapci k dívkám 1,5:1 a převaha CD k UC 2,8:1 oproti poměru u dospělých pacientů 0,85:1 (Akshay et al., 2013; Gouldthorpe et al., 2011). Údaj o častějším výskytu CD u dětí upravuje Day zpřesněním, že v předškolním věku je převaha UC a převaha CD se posouvá až do školního věku, což odpovídá i datům z ČR, kde převaha CD je ve věkové skupině 11 až 19 let (Day et al., 2012). Mírná převaha mužského pohlaví u IBD je popisována i v ČR, kde chlapci tvoří 59,4% pacientů s IBD, taktéž v Plzeňské studii 64,7% pacientů s CD byli chlapci. Podobný výše popsanému byl i poměr CD k UC a to 2,2:1 (Schwarz, 2017). Z publikovaných prací vyplývá, že

fenotyp dětských IBD bývá závažnější a dětští pacienti vyžadují častěji operační zákrok než je tomu u dospělé populace (Akshay et al., 2013).

## 2.2. Crohnova choroba (Crohn's disease - CD)

### 2.2.1. Klasifikace

Abychom mohli predikovat či porovnávat průběh, prognózu a další chování choroby, byly vytvořeny klasifikace CD. Posuzujeme věk, místo postižení, chování choroby či přítomnost růstové retardace. U dětských pacientů je doporučeno používat v rámci klasifikace tzv. Pařížskou modifikaci Montrealské klasifikace, která je uvedena v tabulce 3.

Tab. 3. Pařížská klasifikace CD, upraveno dle (Levine et al., 2011; Nevoral, 2013)

<b>Věk při diagnóze</b>			
<b>A1a</b>	0-9 let		
<b>A1b</b>	10-16 let		
<b>A2</b>	17-40 let		
<b>A3</b>	nad 40 let		
<b>Místo postižení</b>	<b>modifikace s postižením horního GIT (L4)</b>		
<b>L1</b>	terminální ileum	L1+L4	term.ileum + horní GIT
<b>L2</b>	kolon	L2+L4	Kolon + horní GIT
<b>L3</b>	ileokolon	L3+L4	Ileokolon + horní GIT
<b>L4a</b>	proximálně od Treitzova vazy		
<b>L4b</b>	distálně od Treitzova vazy		
<b>Chování</b>	<b>modifikace s perianálním postižením</b>		
<b>B1</b>	nestrikurující, nepenetrující	B1p	B1 + perianální post.
<b>B2</b>	strikturující	B2p	B2 + perianální post.
<b>B3</b>	penetrující	B3p	B3 + perianální post.
<b>B2B3</b>	Strikturující + penetrující		
<b>Růstová retardace</b>			
<b>G0</b>	nikdy nebyla přítomna		
<b>G1</b>	byla přítomna		

Legenda: A1a-A3- věkové skupiny, B1-B2, B3 forma postižení střeva, G0 + G1 růstová retardace

## 2.2.2. Diagnostika

V diagnostice CD využíváme kombinaci klinických symptomů s laboratorní diagnostikou včetně vyšetření fekálního kalprotektinu (CPT) a jako zásadní bod diagnostiky je vnímáno endoskopické vyšetření. Diferenciální diagnostika CD je široká a patří do ní například:

- alergická a infekční onemocnění
  - celiakie
  - intolerance laktózy
  - dráždivý tračník
- Primární imunodeficientní stavy jako:
- Wiskott-Aldrichův syndrom
  - deficit IL10/IL10 (interleukin 10) receptoru
  - X-vázaný lymfoproliferativní syndrom typu 2
  - těžká kongenitální neutropenie
  - anhydrotická ektodermální dysplazie s imunodeficitem
  - Hoyeraalův-Hreidarssonův syndrom
  - deficit niacinu
  - Behcetova nemoc
  - posttransplantační IBD
  - trichohepatoenterický syndrom
  - chronická granulomatóza
  - agamaglobulinemie
  - familiární hemofagocytující lymfohistiocytóza
  - glykogenóza b
  - cyklická neutropenie
  - Heřmanský-Pudlák syndrom
  - Henoch-Schönleinova purpura
  - appendicitida, hemorhoidy
  - intususcepce



- intestinální tuberkulóza
- Meckelův divertikl
- CVID (common variable immunodeficiency)
- kolitida/enteritida způsobená NSAID (nonsteroidal anti-inflammatory drugs/nesteroidní antirevmatika)

Součástí diagnostiky kromě laboratorních a instrumentálních vyšetření musí být i důkladně odebraná anamnéza obsahující informace o cestování, užívaných lécích, dietě, rodinné anamnéze (asi 20% nemocných dětí má příbuzné s IBD, příbuzní 1. stupně mají 10-35x vyšší riziko onemocnění CD a toto absolutní riziko je asi 7% (Lebl J., Janda J., Stary J., 2014)). Dále je nutné zjištění charakteru a četnosti stolic. Samozřejmostí je pak zhodnocení růstových dat včetně BMI dle percentilových grafů a zhodnocení pubertálního vývoje (Bronský et al., 2012).

### 2.2.2.1. Klinické projevy

Klinické projevy jsou velmi různorodé a můžeme je obecně rozdělit na střevní a mimostřevní (extraintestinální).

Střevní projevy zahrnují širokou škálu symptomů jako střevní dyskomfort, tenezmy, bolesti břicha (67-86%), průjem (30-78%), ústní vředové afekce (5-28%), opožděná puberta, nauzea/zvracení (6%) nebo vznik píštělí či abscesů, nejčastěji perianálních (6-60%). Jako typické perianální postižení se vyskytují strážné hrbolky, anální trhliny a anální striktury. Velmi důležitý údaj je charakter (patologická příměs, konzistence) a četnost stolic, kdy se krvavé průjmy objevují převážně u UC. Klasické příznaky CD jako bolesti břicha, průjem a váhový úbytek má asi jen 25% pacientů. U dětí do 2 let dominují průjem, neprospívání, perianální onemocnění a aftózní vředy v ústní dutině, které mohou předcházet i o několik let intestinální manifestaci onemocnění a mohou obsahovat i granulomy (Bronský et al., 2017, 2012; Däbritz, Gerner, Enninger, Claßen, & Radke, 2017; Nevorál, 2013; Rosen et al., 2016).

Mezi mimostřevní projevy (u vybraných projevů uvedeny s přibližnou četností výskytu) řadíme artritidu (např. sakroileitida, ankylozující spondylitida), osteopenii, kožní léze typu erythemanodosum či pyoderma gangrenosum, otosklerózu, anemii, žilní tromboembolii, horečky (38%), únavu, anorexii (2-25%), úbytek hmotnosti (55-80%, je třeba brát v úvahu, že až

25% dětí s IBD jsou obézní), růstovou retardací (10-30%), oční léze jako uveitidu, episkleritidu, iriditidu, nefrolithiazu, pankreatitidu či hepatobiliární postižení (autoimunitní hepatitida či PSC-primární sklerozující cholangoitida). Často tedy při diagnostice spolupracujeme se specialisty v oblasti chirurgie, ORL (otorhinolaryngologie), dermatologie, imunologie, revmatologie či očního lékařství. Extraintestinálními projevy jako první projev onemocnění se vyskytují až u 22% dětí.

#### 2.2.2.2. Laboratorní diagnostika

Před vyslovením podezření na CD je nutné vyloučit infekční příčinu obtíží, (zejména salmonel, clostridií, campylobactera, shigell, či E.coli (sérotyp O157). Pokud prokážeme infekční agens, neznamená to automaticky vyloučení CD, protože infekce může CD doprovázet (u UC je třeba vyloučit infekční kolitidu odběrem CMV a Clostridium difficile). Je nutné vyšetřit stolicí na okultní krvácení a provést parazitologické vyšetření stolice. Dále může u CD být zvýšené CRP, FW (sedimentace erytrocytů), leukocyty, krevní destičky či snížený hemoglobin, albumin a erytrocyty (odběr krevního obrazu s diferenciálním rozpočtem (KO+diff.) a rozšířené palety biochemických parametrů) a snížené zásoby železa. Může být přítomna pozitivita p-ANCA (Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies/protilátky proti cytoplasmě neutrofilů) či ASCA (anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies/protilátky proti Saccharomyces cerevisiae). Vzhledem k již zmíněné možnosti přesahu do jaterního onemocnění je nutné odebrat ALT (alaninaminotransferáza), AST (aspartátaminotransferáza), GGT (gama-glutamyltransferáza), ALP (alkalická fosfatáza), IgG (imunoglobulin G) a albumin. K vyloučení ostatních GIT (gastrointestinální trakt) afekcí je nutné odebrat AML (amyláza), LPS (lipáza), EMA (endomyziální protilátky) a anti-TTG (protilátky proti tkáňové transglutamináze). Dalším důležitým ukazatelem střevního zánětu je fekální kalprotektin (CPT), což je leukocytární cytosolový protein, který se uvolňuje z leukocytů po jejich aktivaci nebo lýze. V diagnostice je senzitivnější (senzitivita 98%) než FW či CRP. Nicméně specifická tohoto vyšetření je nízká- 68%. Zvýšená hodnota CPT nám může pomoci k indikaci endoskopického vyšetření při nevýrazném klinickém nález s přítomností nespecifických příznaků. CPT může být pozitivní u zdravých kojenců a batolat.

#### 2.2.2.2.1. Potenciální nové diagnostické markery

V současné době se uvažuje i o novějších laboratorních ukazatelích zánětu jako např. index CD 64 polymorfonukleárů. Zde se využívá zánětem indukované exprese receptoru FC-gamma I neutrofilů. Toto vyšetření se v ČR v současné době neprovádí. Stejně tak je zatím ve fázi výzkumu role jednotlivých genů v diagnostice IBD, kdy největší význam je zatím přikládán genům NOD2/CARD15/IBD1 a IBD 5 (Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2/ caspase recruitment domain-containing protein 15/inflammatory bowel disease protein 1) na chromozomu 16q13-tyto geny jsou přítomné u pacientů s CD ve 30-40% zatímco u zdravých jedinců jen u 10-20%, dále jsou zkoumány geny pro IL23R (Interleukin-23 receptor) a ATG16L1 (Autophagy-related protein 16-1), (Bronský et al., 2012; Däbritz et al., 2017; O Hradsky et al., 2008; Ondrej Hradsky et al., 2011; Lebl J., Janda J., Stary J., 2014; Nevoral, 2013; Rosen et al., 2016; Tsianos, Katsanos, & Tsianos, 2012).

#### 2.2.2.2.2. Diagnostika u dětí do 6 let

Zvláštní pozornost je třeba věnovat dětským pacientům do 6 let věku (tzv. VEO-IBD - very early onset IBD), kde je, jak bylo již uvedeno široká diferenciální diagnostika. Pokud jsou přítomny následující faktory, je zde podezření na geneticky podmíněnou formu IBD: časný věk manifestace, mnohočetné postižení v rodině nebo konsangvinita, přidružené autoimunitní postižení, neprospívání, refrakterita ke konvenční léčbě, endokrinopatie, opakované infekty nebo nevysvětlitelné horečky, syndrom aktivovaných makrofágů a hemofagocytující histiocytóza, obstrukce či atrezie střeva, kožní léze, abnormality zubů či vlasů nebo tumory. U této rizikové skupiny patří do laboratorního vyšetření kromě výše uvedených vyšetření také burst test, NBT test (nitro blue tetrazolium test), IgA, IgM, IgE, IgG, lymfocytární subpopulace, FOXP3+CD2+CD4+ T lymfocyty, funkční test IL-10 signalizace, sekvenace kandidátních genů, celoxomové sekvenování nebo celogenomové sekvenování (Bronský et al., 2017). Proto je doporučováno odebrat se souhlasem rodičů DNA a sérum a uchovat tento materiál k ev. pozdějšímu vyšetření (Bronský et al., 2012).

### 2.2.2.3. Endoskopická a histologická diagnostika

Endoskopické vyšetření je v současné době bráno jako zásadní krok diagnostiky CD. Musí být ovšem prováděno zkušeným dětským endoskopistou schopným zvládnout i případné komplikace výkonu. Při primodiagnostice je doporučováno provést totální koloskopii (ostatní částečná endoskopická vyšetření jsou považována za nedostatečná) s intubací terminálního ilea (nedaří se v 10% případů) a ezofagogastroduodenoskopii (až 35% pacientů s IBD má přítomny změny v horním GIT, celkový přínos horní endoskopie pro diagnostiku CD je 7,5%). Vyšetření se provádí v analgosedaci nebo celkové anestezii dle věku pacienta. Vzorky pro histologické vyšetření by se měly odebírat minimálně po dvou a to z každého vyšetřeného úseku (minimálně z 5 různých lokalit včetně rekta a terminálního ilea), i pokud nejeví makroskopické známky postižení. Makroskopicky bývají zastižitelné známky CD jako eroze, aftózní či lineární vředy, sliznice vzhledu dlažebních kostek či striktury a píštěle. Histologicky pak bývají popisovány jak granulomy typické pro CD (častější v dětském věku, kdy jsou popisovány v době diagnózy ve 43-49% případů) tak transmurální zánětlivý infiltrát, submukózní fibróza, změny krypt či metaplazie Panethových buněk. U UC bývá nepřerušené slizniční postižení (zarudnutí a edém sliznice s přítomností eroze a hlenu) a histologicky nalézáme bazální plazmocytózu a kryptové pseudoabscedy. Zdá se, že dle úvodního skórování histopatologického nálezu nelze přesvědčivě predikovat vývoj komplikací u CD (Fabian et al., 2017).

Jako doplňkové endoskopické vyšetření k zobrazení tenkého střeva je k dispozici např. dvoubalonová enteroskopie, pro kterou je ovšem v dětské populaci málo indikací a standardně se využívají zobrazovací metody (viz. další kapitola). (Benchimol et al., 2011; Bronský et al., 2012; Däbritz et al., 2017; de Bie et al., 2013; Gomollón et al., 2018; Idestrom et al., 2014; Nevorál, 2013; Oliva et al., 2018; Rosen et al., 2016; Uchida et al., 2012; Yokoyama et al., 2016).

Při popisu endoskopického nálezu můžeme využít skórovacích systémů. Při běžném hodnocení endoskopického nálezu v dětské populaci se používá simple endoscopic score pro CD, neboli SES-CD, které popisuje velikost a rozsah slizničních vředů a přítomnost stenóz (Tabulka 4.). V pooperační péči se využívá Rutgeertsovo skóre, které se používá v hodnocení rekurence postižení v ileokolické anastomóze (Tabulka 5.). U UC lze využít endoskopické skóre Mayo.

**Tab. 4. SES-CD, upraveno podle Jenkins et al. 2009 (Jenkins, 2009). SES-CD=součet za všechny segmenty**

Skóre	0	1	2	3	
<b>Velikost vředů</b>	bez vředů	aftózní vřed 0,1-0,5cm	velké vředy 0,5-2cm	velké vředy nad 2cm	
<b>% povrchu postiženého vředy</b>	bez postižení	<10%	10-30%	>30%	
<b>% postiženého povrchu</b>	bez postižení	<50%	50-75%	>75%	
<b>přítomnost zúžení</b>	bez zúžení	1x, prostupné	více, prostupné	neprostupné	
<b>Segmenty</b>	ileum	pravé kolon	transverzum	levé kolon a sigmoideum	rektum

**Tab. 5. Rutgeerts skóre, upraveno dle Rutgeerts P et al. 1990 (Rutgeerts et al., 1990)**

Rutgeerts skóre	Popis	Hodnocení
<b>i0</b>	bez lézí v distálním ileu	pochirurgická endoskopická remise
<b>i1</b>	max. 5 aftózních lézí v distálním ileu	pochirurgická endoskopická remise
<b>i2</b>	více jak 5 lézí s normální mukózou mezi nimi nebo větší léze přerušovaně nebo léze vztahující se jen na ileokolickou anastomózu (<1cm délky)	pochirurgická částečná rekurence
<b>i3</b>	difúzní aftózní ileitis s difúzním slizničním zánětem	pochirurgická pokročilá rekurence
<b>i4</b>	difúzní slizniční zánět s většími vředy, noduly a/nebo stenózou	pochirurgická pokročilá rekurence

#### 2.2.2.4. Zobrazovací metody

Zobrazovací metody hrají významnou roli v diagnostice CD. Ať už před stanovením diagnózy, kde hraje roli především ultrazvukové vyšetření, tak po stanovení diagnózy CD, IBDU či atypické formy UC, kdy je doporučeno u dětských pacientů ověřit, zda je postiženo i tenké střevo (Levine et al., 2014).

Dostupnou, bezpečnou a levnou možností zobrazení je ultrasonografické vyšetření břicha, které pokud je prováděno zkušeným dětským sonografistou, může mít velký přínos. Ještě před provedením endoskopie je možné identifikovat břišní abscesy, změny echogenity a tloušťky střevní stěny, hyperemii, ztrátu stratifikace, mezenterální lymfadenopatii, terminální ileitidu či strikturu s ev. prestrikturickou dilatací. Senzitivitu ultrazvukového vyšetření lze zvýšit použitím anechogenního kontrastu (izoosmolární polyetylglykol) - SICUS (small intestine contrast ultrasound). Jako norma tloušťky střevní stěny se udává 1,5-3mm v terminálním ileu a do 2mm v kolon. V porovnání s endoskopií je udávána celková senzitivita 74-88% a specifická 78-93%. Použití ultrazvuku je výhodné především u CD, kde lze bez zátěže pro pacienta sledovat vývoj intraabdominálních afekcí a dále je zde možnost endosonograficky hodnotit hojení perianálního postižení (píštěle).

Jako metoda volby zobrazení tenkého střeva při diagnóze CD je považována MR (magnetická rezonance), která je schopná odhalit píštěle, abscesy či striktury. Provádí se s kontrastem aplikovaným p.o. (per orálně) nebo nazogastrickou sondou a je možné ji provést od 3-4 let věku pacienta. Zobrazení tenkého střeva magnetickou rezonancí- MRE (MR enterografie) je vzhledem k absenci radiační zátěže vhodnější než CT (počítačová tomografie). Pomocí tohoto vyšetření je možné ozřejmit změny mezenterických cév, ztlustění střevní stěny, přítomnost striktury s prestrikturickou dilatací či infiltraci mezenteria tukem. K ozřejmení stavu a vývoje perianální afekce se využívá MR pánve. Při podezření na postižení hepatobiliárního systému je možné provést MRCP (Magnetic resonance cholangiopancreatography), které je méně zatěžující než ERCP (Endoskopická retrogradní cholangiopankreatikografie), avšak chybí zde oproti ERCP možnost terapeutického zásahu během vyšetření.

Méně používaným vyšetřením je WCE (wireless capsule endoscopy) čili vyšetření endoskopickou kapslí, kdy je možné přehlédnout celé tenké střevo v případech, kdy se ostatními metodami nepodařilo jednoznačně určit diagnózu. Využívá se tam, kde není možné stanovit diagnózu pomocí endoskopie a běžných zobrazovacích metod (nízký věk, nedostupnost

metody nebo přetrvávající podezření na CD i přes negativitu nálezů na ostatních diagnostických metodách). V případě, že očekáváme pouze diskrétní změny, může být WCE senzitivnější než MRE. Před využitím WCE se doporučuje provést podání zkušební kapsle či zobrazovací metodou vyloučit přítomnost striktury, což sníží riziko retence kapsle. Je zde navíc riziko 10-21% falešně pozitivních nálezů u zdravých osob (např. při užívání NSAID). Dalšími nevýhodami metody je nemožnost terapeutického zásahu či odběru histologického vzorku, nemožnost kontroly pohybu kapsle, obtížná lokalizovatelnost kapsle a možnost přehlédnutí ojedinělých lézí. Kontraindikacemi provedení jsou striktura střeva, předchozí chirurgický zákrok v břiše, závažná forma onemocnění, těžká malnutrice a věk dítěte pod 1 rok. Při obtížném polknutí je možnost zanesení kapsle endoskopicky. V poslední době se metoda ukazuje jako více specifická než ostatní zobrazovací metody. Například při srovnání s MR a ultrazvukem byly při použití WCE ve sledované skupině dětí prokázány typické léze v 50% zatímco u ostatních dvou zmíněných metod to bylo pouze ve 22% (Bronský et al., 2012; Däbritz et al., 2017; Nevoral, 2013; Rosen et al., 2016).

### 2.2.3. Léčba

Léčba CD je zaměřena jak na zvládnutí samotného onemocnění, tak na zvládnutí doprovodných příznaků a komplikací (malnutrice, anemie, osteopenie apod.). Léčbu je nutné zahájit co nejdříve a její součástí je i nutriční intervence či psychologická pomoc. V zásadě rozlišujeme dvě fáze léčby CD. První je úvodní navození remise po stanovení diagnózy. Další fází je pak udržení pacienta v co možná nejdelší remisi.

Specifickou součástí terapie jsou postupy při relapsu či selhání udržovací terapie. Součástí terapie může být i chirurgická intervence nebo v závažnějších případech použití biologické terapie.

#### 2.2.3.1. Konvenční metody navození remise CD

Metodou volby navození remise u dětí je využití EEV/EEN (výlučná enterální výživa/exclusive enteral nutrition), což znamená podávání veškeré výživy v tekuté, jasně definované formě bez mikrobiální zátěže, většinou v podobě vysocekalorických roztoků. Této

terapie se využívá především v evropských zemích, Kanadě a Austrálii. Ve Spojených státech se tato modalita spíše nepoužívá. Zatímco u dospělých pacientů byla prokázána menší účinnost než při použití kortikosteroidů, u dětí je pozorována účinnost srovnatelná s výhodou absence nežádoucích účinků kortikosteroidů a pozitivního vlivu na celkový stav výživy (Kansal, Wagner, Kirkwood, & Catto-Smith, 2013; Yu, Chen, & Chen, 2019). Lepší efekt EEN dokládá i Borrelli ve své práci, kde dosáhlo 79% pacientů, léčených EEN remise vs. 69% u pacientů léčených kortikosteroidy (Borrelli et al., 2006). Dle ECCO-ESPGHAN (European Crohn's and Colitis Organization; the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition) je celková efektivita terapie přibližně 80% a při hodnocení zhojení sliznice je efekt po 10 týdnech EEV ve srovnání s kortikosteroidy 74% vs 33%. Samotná indukce EEV se nevyužívá u pacientů s rizikovými faktory (hluboké kolonické ulcerace, významná růstová retardace, extraintestinální manifestace, strikturující, penetrující perianální onemocnění), kde primární léčebnou modalitou je BL. Dle recentní čínské studie však EEV příliš nezaostává za IFX pokud hodnotíme hojení sliznice po 8 týdnech terapie (71,4% vs. 85,7% (Luo, Yu, Lou, Fang, & Chen, 2017)). Nevýhodou může být horší tolerance terapie a spolupráce pacienta, protože nutnost přijímat p.o. jen EEV (celkové množství požadované denní dávky může být dle váhy pacienta i více jak 2,5 litru za den) s nemožností přijímání běžných potravin může být zvláště u menších dětí problematické. EEV je možné aplikovat při horší toleranci i cestou nazogastrické sondy (např. formou bolusů v dávce 1-5ml/kg po 2-4 hodinách anebo kontinuálně pomocí nutriční pumpy nebo gravitačního setu, kdy je upřednostňováno noční podávání). Částečná enterální výživa se u dětí ukazuje jako neefektivní v terapii CD. Při terapii EEV se podává 120-180% nutriční potřeby pacienta a to po dobu 6-8 týdnů (někteří autoři udávají rozpětí 2-12 týdnů), při nezlepšení stavu po 2-3 týdnech je vhodná změna terapie.

Při užití EEV je nutné včas odhalit případné známky refeeding syndromu, který je charakterizovaný metabolickými komplikacemi spojenými se zahájením nutriční podpory u podvyživených pacientů (Bronský et al., 2017). Předpokládá se, že mechanismus účinku EEV spočívá v eliminaci antigenů ze stravy, celkovém zlepšení stavu výživy, úpravě střevní permeability, snížení syntézy zánětlivých střevních mediátorů mechanismem redukce dietních tuků, úpravě střevní mikroflóry a dodávce mikronutrientů. Na rozdíl od kortikosteroidů EEV podporuje lineární růst a zlepšuje anabolismus potlačením proteolýzy a stimulací proteosyntézy. Využívají se preparáty umělé výživy elementární, oligomerní či polymerní a není mezi nimi rozdíl v účinnosti, ovšem polymerní preparáty mají lepší chuťové vlastnosti a jsou tak



lépe tolerovány, navíc bývají levnější. Při terapii EEV je možné popíjet balené vody bez příchuti. Běžná strava se na konci terapie zavádí postupně během 2-3 dnů, kdy vhodná je bezsezbytková dieta. Udává se, že třetina pacientů po 6 týdnech EEV zůstane bez další léčby v remisi maximálně po dobu 2 let, proto je třeba zároveň zahájit udržovací terapii (viz. další kapitoly). Pro prodloužení remise lze po ukončení EEV pokračovat v doplňkové enterální výživě (např. noční podávání nebo aplikace 4-5x týdně). V současné době se zkoumají i jiné formy diet. Zatím nejvíce prozkoumanou je tzv. specifická karbohydrátová dieta (SCD) a Crohn's disease exclusion diet (CDED)(Levine et al., 2019; Van Limbergen et al., 2015). (Baldwin & Kaplan, 2017; Bronský et al., 2012; Däbritz et al., 2017; F.M. et al., 2014; Guariso & Gasparetto, 2017; Lahad, 2015; Lebl J., Janda J., Stary J., 2014; Nevorál, 2013; Oliveira & Monteiro, 2017; Rosen et al., 2016; S.Rabizadeh & M.Dubinsky, 2013).

Další léčebnou modalitou k navození remise CD jsou kortikosteroidy. Ty se užívají v případě, kdy pacient netoleruje či odmítne EEV, nebo je po 2-3 týdnech léčby EEV neúčinná a zároveň není indikovaná BL. Dle české studie nebyl prokázán rozdíl v délce následující remise mezi EEV a kortikosteroidy za současného užívání AZA (Ondrej Hradský, Copova, Zarubova, Nevorál, & Bronský, 2016). Kortikosteroidy se také upřednostňují v indukci remise u dětí do 2 let, kde je jejich úspěšnost vyšší než u EEV (Bronský et al., 2012). Mechanismus účinku kortikosteroidů je snížení proteosyntézy a translace vedoucí k down regulaci prozánětlivých cytokinů jako TNF alfa, NF-kappa, IL 1 a IL 6. Lékem volby je prednison. Budesonid užívaný u dospělých je u dětí méně účinný, avšak může být využit u lehčích až středně těžkých ileocekálních forem pro menší četnost nežádoucích reakcí. Kortikosteroidy se snažíme nepodávat déle než 10 týdnů. Zpravidla se podávají p.o., ale v těžších případech mohou být podány i.v. (intravenózně). Kortikosteroidy nejsou indikovány jako udržovací terapie. Pokud uijeme prednison, pak je dávka 1-2mg/kg/den (max. 60mg/den při nedostatečné odpovědi na nižší dávku) v jedné ranní dávce. V případě methylprednisolonu p.o. podáváme 80% této dávky. V i.v. terapii podáváme 1,5mg/kg solu-medrol 1x denně nebo hydrokortison 2mg/kg 4x denně (max. 100mg 4x denně). Plná dávka by se měla ponechat 1-4 týdny do dosažení remise a poté postupně snižovat během 4-8 týdnů do ukončení terapie. Během terapie je třeba dbát na dostatečný příjem kalcia a vit. D, zvláště u dětí s malnutricí a během pubertálního růstu. Výhoda kortikosteroidů je jejich cena a jednoduchost podání. Nevýhodou jsou pak široké nežádoucí účinky jako akné, facies lunata, edémy, strie, poruchy spánku a nálady, dyspepsie, porucha glukózové tolerance nebo dysforie. Při prolongovaném podávání především nad 12 týdnů pak

zadní subkapsulární katarakta, osteopenie, myopatie, náchylnost k infekcím, porucha lineárního růstu a při rychlém vysazení pak akutní adrenální insuficience. Resistence na kortikosteroidy je udávána asi u 20% pacientů a 20-36% pacientů se stává kortikodependentními, kdy snížení dávky vede ke klinickému zhoršení. Jako steroid refrakterní CD je označovaná forma, kdy vysoká aktivita onemocnění přetrvává i při léčbě dostatečnou dávkou steroidů při trvání léčby déle než 2 týdny. U refrakterní CD je třeba pomýšlet i na noncompliance. (Baldwin & Kaplan, 2017; Bronský et al., 2012; Däbritz et al., 2017; F.M. et al., 2014; Guariso & Gasparetto, 2017; Lahad, 2015; Lebl J., Janda J., Stary J., 2014; Nevorál, 2013; Oliveira & Monteiro, 2017; Rosen et al., 2016; S.Rabizadeh & M.Dubinsky, 2013).

Předchozí dvě zmíněné možnosti indukce remise jsou brány jako stěžejní. V tomto odstavci zmíníme doplňkové možnosti terapie. Řadíme sem aminosalicyláty: sulfasalazin a 5-ASA (5 aminosalicyclic acid)-mesalazin, antibiotika (ATB) nebo probiotika. Sulfasalazin a mesalazin se využívá především u UC, avšak u CD nebyla prokázána větší účinnost než placebo při využití jako monoterapie (bylo také prokázáno více exacerbací a kratší trvání první remise ve srovnání s ostatními léčebnými modalitami jako kortikosteroidy nebo EEV), tedy se u CD běžně nevyužívají. U jednostranných CD kolitid je ale možné využít lokálně působící 5-ASA jako doplněk jiné indukční terapie (např. mesalazin v dávce 50-100mg/kg/den max. 3-4x denně nebo sulfasalazin 40-60mg/kg/den (při toleranci až 100mg/kg/den) max. 3x denně). Avšak dostupná data neprokazují výrazný efekt a aminosalicyláty tedy nejsou lékem volby u CD. Taktéž antibiotika nejsou využívána jako prostředek k navození remise, nicméně hrají nezastupitelnou roli při terapii infekčních komplikací nebo při penetrujícím či strikturujícím postižení střeva, bakteriálním přerůstáním a jako antibiotická clona během chirurgického výkonu. Použití širokospektrých antibiotik naopak zvyšuje riziko infekce *Clostridium difficile*. Při nutnosti ATB terapie volíme metronidazol 7,5mg/kg á 8 hod. a ciprofloxacin 5mg/kg á 12 hod. (dle některých zahraničních prací lze podat i dávku 20mg/kg/den), zpočátku především v i.v. formě s možností převedení na p.o. formu po zlepšení stavu. Vhodná je kombinace obou ATB, avšak v monoterapii se popisuje lepší efekt metronidazolu u postižení kolon a ciprofloxacinu u postižení ilea (Lahad, 2015). Při fistulující nebo perianální formě se doporučuje podávání po 6 týdnů, metronidazol by se pro riziko periferní neuropatie neměl podávat více jak 12 týdnů. Některé zahraniční práce popisují dobrý efekt rifaximinu nebo azithromycinu (F.M. et al., 2014). Probiotika nemají prokázaný efekt a lze je využít jen jako okrajovou doplňkovou terapii např. u dysmikrobie provázející ATB terapii. (Benchimol et al., 2011; Bronský et al., 2012; Däbritz et al.,

2017; Guariso & Gasparetto, 2017; Ondrej Hradsky et al., 2016; Lebl J., Janda J., Stary J., 2014; Nevoral, 2013; Oliveira & Monteiro, 2017).

### 2.2.3.2. Konvenční metody udržovací léčby CD

Po nebo ještě během nastolení remise pomocí indukční terapie je doporučováno zahájit terapii udržovací, která má za cíl minimalizovat riziko relapsu a tedy co nejvíce prodloužit trvání remise. Nejčastěji se používají thiopuriny, a to azathioprin (AZA) a 6-merkaptopurin (6-MP, který se využívá především při intoleranci AZA). Udržovací terapie by se měla zahájit u pacientů pod 17 let se středně těžkou až těžkou formou choroby, u těch, kteří prodělali 1 relaps, u pacientů, kde bylo dosaženo remise pomocí kortikosteroidů a také po chirurgické léčbě. AZA se podává 1-2,5mg/kg/den v jedné p.o. dávce. 6-MP se podává 1-1,5mg/kg/den také v jedné p.o. dávce. Dávkování je třeba průběžně upravovat dle zvyšující se hmotnosti pacienta. Účinek léku nastupuje během několika týdnů až měsíců, proto se podává zpravidla ještě současně s indukční terapií. Před zahájením terapie se doporučuje doplnit chybějící očkování (především živými vakcínami, které jsou během imunosupresivní léčby kontraindikovány) a vyšetřit genotyp enzymu thiopurinmethyltransferázy (TPMT, v populaci se nachází 3 fenotypy tohoto enzymu: rychlí metabolizátoři-88%, intermediární metabolizátoři-11% a pomalí metabolizátoři 0,1-0,3%). Pokud má pacient aktivitu TPMT střední, podáme 30%-70% dávky a pokud je pacient pomalý metabolizátor, lék nepodáváme. Během terapie se může objevit útlum kostní dřeně (asi u 3% pacientů), který se projeví jako anémie, trombocytopenie a leukopenie a u homozygotů se sníženou aktivitou TPMT může být tento útlum velmi nebezpečný. Redukce dávky na 50% se doporučuje při leukopenii méně než  $4 \times 10^9/l$  nebo neutropenii  $1,5 \times 10^9/l$  nebo trombocytopenii méně než  $120 \times 10^9/l$ . Ukončení terapie se doporučuje při leukopenii méně než  $3 \times 10^9/l$  nebo neutropenii  $1,0 \times 10^9/l$  nebo trombocytopenii méně než  $100 \times 10^9/l$ . Nutné je tedy pravidelně kontrolovat krevní obraz. Také se kontrolují jaterní testy a amyláza (riziko hepatotoxicity a pankreatitidy se pohybuje kolem 3-5%), hepatotoxicita a myelotoxicita není závislá na dávce. Tato kontrola se doporučuje každé 2 týdny první měsíc, poté za 1 měsíc a poté každé 3 měsíce pokud dávka zůstává stabilní. Častěji kontrolujeme, pokud dávku zvyšujeme. Jako další, na dávce nezávislé, nežádoucí účinky se mohou vyskytnout alergické kožní reakce, nauzea, únava, myalgie, arthralgie, nechutenství a zvýšené riziko

bakteriálních a virových infekcí (CMV, EBV-zde pozor na zvýšené riziko s EBV asociovaných lymfomů). Pokud po 6-9 měsících nedosáhneme terapeutického efektu, lze lék vysadit, v opačném případě v léčbě pokračujeme i po řadu let. Po 4-5 letech dobré odpovědi je možné zkusit lék po domluvě s rodiči a pacientem vysadit. V případě podezření na non-compliance je vhodná kontrola hladin léčiva v krvi. Při dlouhodobém užívání je vhodná ochrana kůže před slunečním zářením a pravidelná kontrola dermatologem, protože použití thiopurinů bylo asociováno s 4-5x vyšším rizikem vzniku nemelanomových nádorů kůže před 50. rokem života. Existuje také malé zvýšení rizika výskytu lymfomu u podávání AZA kde při srovnání s běžnou populací byl pozorován výskyt u 4,5 vs. 0,6 pacientů na 100 000 obyvatel.

Mechanismus účinku AZA, který je poté neenzymaticky degradován na 6-MP a ten pak enzymaticky na 6-thioguanin (6-TG), spočívá v inhibici tvorby purinových nukleotidů hromaděním nukleotidů 6-TG v buňkách a potlačěním imunitní odpovědi zprostředkované T a B lymfocyty, jejichž proliferace je tlumena. V nižších dávkách inhibují thiopuriny GTPázu Rac1, což vede k apoptóze aktivovaných T lymfocytů, ve vyšších dávkách pak dochází k inhibici syntézy DNA. (Baldassano et al., 2003; Baldwin & Kaplan, 2017; Bronský et al., 2012; Däbritz et al., 2017; F.M. et al., 2014; Feldman & Rosh, 2009; Guariso & Gasparetto, 2017; Lebl J., Janda J., Stary J., 2014; Nevorál, 2013; Oliveira & Monteiro, 2017; Rosen et al., 2016; S.Rabizadeh & M.Dubinsky, 2013).

Poslední konvenční běžně využívanou metodou udržení remise je methotrexát (MTX). Jeho mechanismus účinku je inhibice difolát reduktázy, čímž snižuje syntézu purinů a zánětlivých cytokinů. Používá se v případě neúčinnosti nebo netoleranci thiopurinů. Tyto přípravky se nepodávají současně. Rozsáhlejší zahraniční práce udávají účinnost při udržení remise v 1 roce terapie u dětské CD jen ve 23-80% (Baldwin & Kaplan, 2017; F.M. et al., 2014). Dávka je 15-25mg/m<sup>2</sup> 1x týdně p.o., s.c. nebo i.m. a poté se za 1-3 dny podá 5-10mg kyseliny listové p.o. pro snížení toxicity léčiva. Někteří autoři doporučují podávat kyselinu listovou každý den a MTX do dosažení remise podávat s.c. pro lepší efekt léčby. Dávku opět měníme dle vývoje tělesného povrchu. Před zahájením léčby provádíme těhotenský test, rentgen (RTG) plic, kontrolujeme plicní funkce, odebíráme KO+diff. a jaterní testy. První dva měsíce léčby kontrolujeme KO+diff á 2 týdny, dále á 6 týdnů, jaterní testy každých 8-12 týdnů a event. RTG plic a plicní funkce každý rok. Dávku redukujeme na 50% při leukopenii méně než 4x 10exp9/l nebo neutropenii 1,5x 10exp9/l nebo trombocytopenii méně než 120x 10exp9/l. Terapii ukončujeme při leukopenii méně než 3x 10exp9/l nebo neutropenii 1,0x 10exp9/l nebo

trombocytopenii méně než  $100 \times 10^9/l$  nebo zvýšení ALT více než 3x nad normu. V léčbě lze při dobré odpovědi pokračovat dlouhodobě (ne však během těhotenství nebo před plánovaným otěhotněním). Po několika měsících kompletní remise můžeme zvážit snížení dávky na 10mg/m<sup>2</sup>. Nežádoucími účinky léku jsou nauzea, zvracení, chřipkové příznaky, hypersenzitivní pneumonitida, ztráta vlasů, anorexie, zvýšené riziko infekce, hepatotoxicita a také útlum kostní dřeně. U dětí nebylo popsáno zvýšené riziko malignit při použití MTX.

Kortikosteroidy nepatří mezi léky užívané při udržovací terapii, v případě kortikodependence (popisována u asi 31% dětských pacientů po jednom roce od stanovení diagnózy) je nutné zvolit jinou účinnou terapii. Taktéž aminosalicyláty a ATB nehrají významnou roli v udržení remise CD u dětí. (Baldwin & Kaplan, 2017; Bronský et al., 2012; Däbritz et al., 2017; F.M. et al., 2014; Guariso & Gasparetto, 2017; Lahad, 2015; Lebl J., Janda J., Stary J., 2014; Nevoral, 2013; Oliveira & Monteiro, 2017; Rosen et al., 2016).

### 2.2.3.3. Chirurgická léčba

Při selhání medikamentózní terapie anebo při komplikacích jako striktura, ileózní stav, píštěle nebo abscesy je indikována chirurgická léčba. Ta se nejčastěji provádí jako plánovaný výkon (ideálně s předcházející léčbou, kontrolou anemie a zlepšením nutričního stavu pacienta – např. snížená hladina albuminu před operací je asociována se septickými komplikacemi) a měla by patřit do rukou chirurga se zkušenostmi s dětskými IBD (Amil-Dias et al., 2017). Důležité je zhodnotit riziko žilní trombózy (imobilizace, centrální žilní katétr) a náležitě jí předcházet – hydratace, kompresivní pomůcky a časná mobilizace u všech pacientů. K akutnímu chirurgickému výkonu saháme v případě abscesů, krvácení (u 0,9-6% CD) či při ileózním stavu. Další indikací chirurgického zásahu je porucha růstu (bez zlepšení po použití IFX a zlepšení nutričního stavu trvající 6-12 měsíců). Typickou komplikací CD vyžadující chirurgický zákrok je střevní obstrukce, jejíž operační řešení je třeba u 25% všech pacientů. Důvodem obstrukce bývá chronická fibróza střevní tkáně nebo akutní zánět s edémem střevní stěny či kombinace obou. Nitrobřišní abscesy, které bývají nejčastěji v ileocékální oblasti a jsou asociovány s píštělemi, by měly být léčeny nejprve antibiotiky s perkutánní drenáží pod CT či UZ kontrolou a poté ev. plánovanou resekci (úspěšnost perkutánní drenáže se udává nad 90%). Pokud je nelze drénovat perkutánně, je nutné je drénovat chirurgicky. V ideálním případě máme před každým chirurgickým výkonem k dispozici výsledek MR vyšetření postižené lokality. K základnímu

vyšetření perianálního postižení by mělo patřit i zhodnocení chirurgem v celkové anestezii. Nádorové onemocnění jako indikace k chirurgickému výkonu je u dětí s IBD vzácné.

Chirurgické plánované výkony řadíme do 3 kategorií. První skupinou (55-60%) jsou pacienti se strikturující ileocékální (IC) formou, kdy se standardně provádí IC resekce otevřenou střední laparotomií-při IC resekci nebo segmentální resekci střeva lze provést i laparoskopický výkon (uvolnění střeva laparoskopicky a následná resekce z asi 3cm suprapubického řezu v místě zavedení portu). V případě krátké postresekční (u resekce do 4-5cm) striktury můžeme střevo dilatovat endoskopicky (perforace při tomto výkonu se objevuje do 2% případů). Druhou skupinou je onemocnění lokalizované do kolon a perianálně, kde resekujeme pouze postižený úsek a k proktokolektomii přistupujeme při rozsáhlejší postižení, kdy je pak nutné provést trvalou ileostomii anebo pokud je to možné spojit ileum a zbylou část rekta a vytvořit tzv. pouch (rezervoár stolice k zajištění kontinuity střeva, což se dle nejnovějších studií CD příliš nedoporučuje pro zvýšené riziko selhání pouche) (Amil-Dias et al., 2017). Perianální známky postižení se objevují u 13-62% pacientů (perianální píštěle u 10-15%). Jednoduché perianální píštěle léčíme antibiotiky a fistulotomií s ev. drenáží abscesu, jak bylo zmíněno výše. Komplexní perianální postižení léčíme ATB (kromě metronidazolu a ciprofloxacinu se také využívá piperacillin-tazobactam, ticarcillin-klavulanát, meropenem nebo vyšší generace cefalosporinů) a BL. Chirurgická terapie spočívá v založení nekonečného drénu (non-cutting seton). Definitivní řešení lze pak provést fistulotomií, plastikou slizničním lalokem (mucosal advancement flap) nebo ligací intersfinkterického traktu píštěle (Bronský et al., 2017). Data o účinnosti AZA a 6-MP v léčbě perianálního postižení jsou omezená. K přechodné kolostomii nebo ileostomii přistupujeme u závažných, na léčbu hůře reagujících píštěl, po jejich kompletním zhojení lze uvažovat o uzavření stomie, ale ne dříve jak za 6-12 měsíců. Pokud derivace střeva není efektivní, lze přistoupit k proktokolektomii s terminální kolostomií (Bronský et al., 2017). Třetí skupinu tvoří pacienti s postižením tenkého střeva včetně duodena. Při mnohočetném postižení tenkého střeva strikturami lze jako alternativu k resekci využít strikturoplastiku pro snížení rizika syndromu krátkého střeva. Před chirurgickým zásahem vysazujeme kortikosteroidy, protože jejich podávání (nad 20mg prednisonu denně po více jak 6 týdnů) je spojeno s vyšším výskytem komplikací. Dle doporučení ESPGHAN je vhodné zvážit vysazení biologické léčby 4-6 týdnů před operací, ale klinická praxe je v různých centrech odlišná. Potřeba provedení chirurgického výkonu pro jakoukoliv komplikaci u dětí s CD je asi 30-46% a do 5 let od stanovení diagnózy asi 14-30%. Pokud srovnáme riziko chirurgického zákroku ve 30 letech věku u pacientů

se začátkem onemocnění v dětství oproti riziku při nástupu onemocnění v dospělém věku, je toto riziko asi 48% vs. 14%.

Kumulativní riziko klinické rekurence po operaci ve velké dánské studii (u těchto pacientů byly podávány kortikosteroidy, AZA nebo IFX) bylo v 1., 5. a 10. roce 53, 73 a 77% (Hansen, Jakobsen, Paerregaard, Qvist, & Wewer, 2015). Toto riziko se nejvíce zvyšuje kouřením a zdá se, že podávání IFX před IC resekci neovlivňuje riziko rekurence v 6. měsíci po operaci (Amil-Dias et al., 2017; Kim, 2017). Standardně je doporučováno provedení kontrolní endoskopie 6-9 měsíců po IC resekci a pokud dojde k relapsu, je indikována eskalace léčby (např. z AZA na IFX anebo adalimumabu (ADA)). Také se doporučuje pooperační kontrola fekálního kalprotektinu 2-3x ročně. Nejběžnějšími komplikacemi po chirurgickém výkonu jsou prosak v anastomóze, obstrukce tenkého střeva s ileózním stavem a následná potřeba ileostomie, dehiscence jizev, píštěle, krvácení a tromboembolie. Po resekci více jak 20 cm terminálního ilea je doporučeno pravidelné monitorování hladiny vitamínu B12. Stejně tak může docházet k porušení vstřebávání žlučových kyselin, které také probíhá z 95% v terminálním ileu. (Amil-Dias et al., 2017; Bronský et al., 2012; Däbritz et al., 2017; Kim, 2017; Lebl J., Janda J., Stary J., 2014; Nevorál, 2013; Oliveira & Monteiro, 2017; Rosen et al., 2016; Zarubova et al., 2017).

#### 2.2.3.4. Biologická léčba (BL)

V indikovaných případech se v léčbě IBD přistupuje k použití tzv. biologické léčby (BL). Ta je popisována jako cílený regulační zásah do biologických procesů organismu pomocí vysoce účinných látek biologické povahy, které jsou podobné látkám vyskytujícím se v organismu anebo se jedná o jejich antagonisty, agonisty nebo blokátory. Jejich nežádoucí účinky jsou tedy méně časté než u léčiv s širokým a méně cíleným působením v organismu (Bronský et al., 2012; Lebl J., Janda J., Stary J., 2014; Lukáš et al., 2013; Nevorál, 2013).

##### 2.2.3.4.1. Základní charakteristika

Díky pokrokům v biomedicině se stále více daří vytvářet modernější a vyspělejší léčiva, díky kterým je možné cíleně a s co nejmenšími možnými nežádoucími účinky léčit konkrétní

choroby. Jednou z těchto možností je i BL. Dobu vzniku BL můžeme datovat k roku 1970, kdy byl poprvé použit antithymocytární globulin k zabránění rejekce transplantované ledviny u pokusných zvířat (Springer, 2002). Později vedl průkaz tvorby jednoduchých specifických uniformních protilátek ke zrodu termínu monoklonální protilátky. Za objev principu produkce monoklonálních protilátek byla udělena v roce 1984 Nobelova cena autorům Milsteinovi, Köhlerovi a Jernerovi ("The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1984," n.d.). Prvními protilátkami byly chimérické, tedy vytvořené kombinací variabilních myších a konstantních lidských regionů protilátek. Myších komponent je přítomno asi 30-35%, u humanizovaných je to pak asi do 10%. Vznik protilátek spočívá v přidání hypervariabilních částí myších monoklonálních protilátek do zbytků lidských IgG molekul, které lze pak exprimovat pomocí bakterií E.coli. V medicíně je nyní známo několik stovek těchto protilátek. Dle amerického institutu Food and drug administration (FDA) do rodiny biologických terapeutik patří séra, toxiny, antitoxiny, produkty virů, bakterií a kvasinek či jiných živých nebo usmrcených mikroorganismů. Existují i jiné možnosti dělení protilátek např. na nativní biologické přípravky a izoláty, rekombinantní peptidy, monoklonální protilátky proti cytokinům, syntetické oligonukleotidy, genovou terapii (Ardizzone & Bianchi Porro, 2002; Sands, 1997). Za nejmodernější a nejpokročilejší formu BL se dnes považuje právě genová terapie.

Pokud se zaměříme na klasifikaci BL, musíme zmínit základní názvosloví dle světové zdravotnické organizace (WHO) viz. tabulka 6 (WHO, 2017).



**Tab. 6. Názvosloví monoklonálních protilátek  
dle WHO, 2017**

Cílová skupina
-ba- bakteriální
-ami- serum amyloid protein
-ci- kardiovaskulární
-fung- fungální
-gros- související s růstem kosterního svalu
-ki- interleukin
-li- imunomodulační
-ne- neurální
-os- kost
-toxa- toxin
-ta- nádor
-vet- veterinární užití
-vi- virální

Legenda: Při tvorbě názvosloví je předpona volitelná a jako kmen se používá „mab“ (monoklonální protilátka-monoclonal antibody)

Dle tkáně, na kterou biologika působí, je můžeme dělit do několika skupin:

**1. Zaměřené na povrchové buněčné determinanty k destrukci specifických imunitních buněk.**

První z této kategorie byl rituximab, chimerická protilátka proti diferenciační skupině 20 (CD20) na membráně pre-B a B lymfocytů. Účinnost tohoto druhu terapie byla popsána u pacientů s autoimunitními chorobami (Edwards et al., 2004; Liossis & Tsokos, 2005).

**2. Zaměřené na imunoglobulin E (IgE).** Sem řadíme například v oblasti astmatu užívanou humanizovanou monoklonální protilátku omalizumab, která blokuje vazbu IgE a inhibuje uvolnění mediátorů z mastocytů a bazofilů (Boushey, 2001).

**3. Zaměřené na prozánětlivé cytokiny.** Do této skupiny patří monoklonální protilátky používané především v revmatologii a gastroenterologii. Jsou to protilátky proti TNF-alfa (IFX a ADA), dále rekombinantní TNF receptor IgG (etanercept) nebo rekombinantní humánní IL-1 receptorový antagonist (anakinra).

**4. Zaměřené na imunomodulační cytokiny.** V této skupině jsou protilátky zaměřeny především na IL- 2, 4, 5 a 12. Jako jeden z prvních zástupců této řady byl humánní rekombinantní solubilní IL-4 receptor v terapii astmatu. V terapii astmatu byl v roce 1998 koncem použit keliximab, chimerická monoklonální protilátka proti CR 4 lymfocytům (Kon et al., 1998) stejně tak jako mepolizumab, humanizovaná protilátka proti IL 5 použitá Leckiem (Leckie et al., 2000). V terapii

astmatu a v transplantologii se užívá humanizovaná monoklonální protilátka proti IL-2 dactalizumab. Do této skupiny patří i ustekinumab - protilátka proti p40 podjednotce IL-12 a IL-23, užívaná v léčbě psoriázy a účinná v navození remise i u CD. V současné době je lék schválen v EU i USA k použití u pacientů s CD (Jauregui-Amezaga, Somers, De Schepper, & Macken, 2017; Verstockt, Ferrante, Vermeire, & Van Assche, 2018).

**5. Zaměřené na koreceptory k inhibici aktivace T-buněk.** T-buňky jsou aktivovány buď antigen specifickým signálem na T buněčný receptor s MHC peptidovým komplexem na antigen prezentujících buňkách nebo vazbou ligandu na antigen prezentujících buňkách s kostimulačními receptory T buněk. Do této skupiny patří lidský cytotoxický antigen 4 asociovaný s T-lymfocyty (CTLA4) fúzovaný s těžkým řetězcem lidského imunoglobulinu IgG. Vzniklý CTLA4 IgG byl použit v léčbě revmatoidní artritidy (Kremer et al., 2003).

**6. Zaměřené na aktivitu efektorových buněk.** Léky této skupiny blokují migraci kompetentních buněk do místa zánětu. Zde se uplatňuje např. natalizumab, humanizovaná monoklonální protilátka vázající se na alfa 4 řetězec integrinové molekuly, používá v léčbě CD (Ghosh et al., 2003). Do této skupiny patří i vedolizumab, monoklonální protilátka proti integrinu alfa 4 beta 7 (Pouillon, Vermeire, & Bossuyt, 2019).

**7. Zaměřené na chemokiny či chemokinové receptory.** Jsou zaměřeny např. na chemokinové receptory exprimované na Th1 a Th2 lymfocytech.

V terapii střevních zánětů se uplatňují látky blokující TNF alfa, inhibitory adhezivních molekul a protilátky proti imunomodulačním cytokinům.

TNF alfa je považován za jeden ze stěžejních prozánětlivých cytokinů. U UC a zvláště u CD byly prokázány vysoké hladiny tohoto cytokinu v séru i ve střevní sliznici. Podobně je TNF alfa kumulován v synoviální tekutině pacientů s revmatoidní artritidou, v sakroiliakální kloubní biopsii při sakroileitidě nebo epidermis u nemocných s psoriázou (Ardizzone & Bianchi Porro, 2002; Maini et al., 1999; Sands, 1997). TNF alfa je cytokin o 157 aminokyselinách účastnící se zánětlivé odpovědi. Je složený ze 3 totožných proteinů. Vyskytuje se buď jako transmembránový protein (tmTNF, 26kDa, 212 aminokyselin), nebo jako sekretovaná forma (sTNF) vznikající z transmembránové pomocí metalloproteinázy (TNF- $\alpha$  konvertáza). Je vylučován makrofágy, monocyty, endoteliálními buňkami, neutrofil, buňkami hladké svaloviny, aktivovanými lymfocyty, adipocyty a astrocyty. Makrofágy ho vylučují při kontaktu s patogenem a iniciují tak lokální zánětlivou odpověď - aktivaci endotelu, tvorbu granulomů, umožnění diapedézy, aktivace apoptózy endoteliálních buněk, zvýšení srážlivosti krve v místě poškození

atd. Při hyperprodukcii TNF alfa může dojít až k septickému šoku (St-Pierre & Chadee, 2014). TNF alfa má následující účinky: indukuje prozánětlivé cytokiny (IL 1, IL 6, interferon gama), zvyšuje expresi adhezivních molekul na endoteliálních buňkách a leukocytech, zvyšuje permeabilitu endotelu a tím usnadňuje migraci leukocytů, aktivuje funkce neutrofilů a eozinofilů, indukuje tvorbu proteinů akutní fáze v játrech, uvolňuje prokoagulační látky, potlačuje aktivitu lipoproteinové lipázy v adipocytech a stimuluje aktivaci a diferenciaci osteoklastů se snížením jejich apoptózy. Z toho plyne fyziologická úloha TNF alfa v mechanismu zánětlivé odpovědi, která má za fyziologických podmínek 3 fáze: akutní cévní odpověď spojená s vazodilatací, vyšší permeabilitou a reakcí neutrofilů. Tato fáze trvá asi 24 hodin a poté přechází do druhé fáze akutní buněčné odpovědi s lymfocytární a monocytární infiltrací, která postupuje během asi 7 dnů do fáze chronické buněčné odpovědi s destrukcí a reparací poškozené tkáně. U chronických zánětů se pak druhá perzistující fáze překrývá s třetí fází, takže dochází k neustálé destrukci a následné obnově poškozené tkáně. V přetrvávání této aktivity hraje významnou roli právě TNF alfa. Z toho plyne, že jedna z možností, jak ovlivnit chronický zánět je právě blokování účinku TNF alfa. Aktivitu TNF alfa lze neutralizovat následujícími způsoby: prostaglandiny, inhibitory fosfodiesterázy, adenosiny, kortikosteroidy, IL-10, blokátory TNF pro-proteinů (inhibitory metaloproteinázy) a konečně anti TNF alfa protilátkami (Bartyzalová, 2014; Zbořil, 2012).

V pediatrii jsou pro léčbu CD schváleny anti-TNF preparáty infliximab a adalimumab. U dospělých pacientů je spektrum schválených biologických léčiv širší a některé z nich jsou užívány i u dětí po schválení revizním lékařem. Níže je uveden jejich stručný přehled.

**Golimumab**- plně humánní monoklonální protilátka proti TNF alfa, jejíž přínos spočívá především v možnosti subkutánní aplikace jednou za měsíc. Užívá se především v léčbě revmatoidní artritidy, ankylozující spondylitidy a psoriatické artritidy (Papagoras, Voulgari, & Drosos, 2015), avšak lék je schválen i pro léčbu UC a jeho účinnost je popisována i u CD (Greener, Boland, Steinhart, & Silverberg, 2018).

**Certolizumabpegol**- humanizovaný Fab fragment anti-TNF alfa, navázaný na dvě molekuly polyetylglykolu. Podává se u dospělých pacientů subkutánně. Používán je zejména ve Spojených státech.

**Natalizumab**- inhibitor adhezivních molekul. Humanizovaná monoklonální protilátka IgG4 proti adhezivní molekule alfa-4-beta-1 integrinu. Mechanismus účinku je blokování integrinů potřebných k migraci leukocytů z kapilár do tkáně. U dětských pacientů není pro zvýšené riziko

rozvoje progresivní multifokální leukoencefalopatie schválen k použití (Kane et al., 2012; Sandborn et al., 2005). Navíc u dětských pacientů nebyl prokázán pozitivní vliv na ovlivnění růstu při těžkém zánětu (Bandzar, Gupta, & Platt, 2013).

**Vedolizumab**- humanizovaná monoklonální protilátka proti alfa-4-beta-7 integrinu inhibující adhezi T lymfocytů na adhezivní molekuly (MAdCAM-1), které se exprimují především v tenkém střevě a kolon, což činí lék specifický. Je užíván k léčbě dospělých pacientů s IBD (Gisbert & Domenech, 2015; H. Singh, Grewal, Arora, Kumar, & Kakkar, 2016). U dětí je možné ho použít jen v režimu off-label (Bronský et al., 2017).

**Ustekinumab**- monoklonální protilátka proti IL 12. Primárně byl lék určen pro léčbu psoriázy a nyní je užíván i v léčbě IBD u dětí v podobném rozsahu jako vedolizumab (Bronský et al., 2017).

#### 2.2.3.4.2. Navození remise CD

##### **Indikace podání anti-TNF**

Dle doporučení ECCO-ESPGHAN je anti TNF terapie indikovaná u dětí se středně těžkou až vysokou aktivitou CD nereagující na konvenční imunosupresivní terapii a jako indukční terapie u steroid-refrakterních pacientů a také u dětí s aktivním fistulujícím perianálním postižením, kde je preferovanou možností. Biologickou terapii zvažujeme u pacientů s extraintestinálními projevy, významnou růstovou retardací (minus 2 směrodatné odchylky (SD) výšky k věku v době stanovení diagnózy), těžkou malnutricí, sníženou kostní mineralizací, nepříznivou rodinnou anamnézou, dětí po chirurgickém výkonu, vysokou aktivitou zánětu nebo rozsáhlým postižením tenkého střeva (F.M. et al., 2014). Biologická terapie by se měla podávat v centrech biologické terapie a neukončujeme jí dříve, než se ukončí růst a puberta, abychom udrželi optimální růst a vývoj. Následně lze zvážit ukončení léčby, pokud je pacient v dlouhodobé remisi.

##### **Anti-TNF používaná v pediatrii**

V pediatrii se používá v biologické terapii CD IFX nebo ADA. Lékem první volby často v klinické praxi bývá IFX, ale dle současných doporučení může být léčba zahájena jakýmkoliv z uvedených preparátů (dle dostupnosti, preferencí pacienta, místních klinických zvyklostí nebo ceny). V indukční terapii se podává IFX v dávce 5mg/kg v intervalu 0., 2. a 6., týden (J. Hyams et al., 2007). Infuzní podání IFX trvá 2-3 hodiny. V 10. týdnu se zhodnotí efekt terapie a dle toho se

rozhodne o následné udržovací léčbě, při neefektu by se nemělo v terapii biologikem pokračovat (F.M. et al., 2014). V ČR je IFX schválen pro léčbu CD od 6 let, ale lze ho užít i u pacientů mladších. Jeho účinnost byla prokázána v několika kvalitních studiích. Ve studii REACH u dětí ve věku 6-17 let v 10. týdnu odpovědělo na léčbu 88,4% pacientů a 58,9% bylo v remisi (J. Hyams et al., 2007). Obdobná data poskytuje mnoho dalších studií a celková efektivita TNF alfa antagonistů v 1. a 3. roce terapie je udávána 50-80% a 40-50% (Aloi & Cucchiara, 2015; Ruemmele et al., 2009). Ve studii čítající 52 pacientů, byli ti, kteří odpověděli na inciální léčbu v 1. a 2. roce terapie v remisi v 82% a 66%. U pacientů léčených více jak 1 rok byla zaznamenána v 89% IFX dependence. Ztráta odpovědi byla zaznamenána u 38% pacientů po terapii trvající 3-42 (medián 30) měsíců (Wanty, Stephenne, Sokal, & Smets, 2011). IFX se ukazuje jako účinný i v léčbě penetrujícího postižení. Při subanalýze 22 pacientů s perianálním postižením ze studie REACH byla zaznamenána odpověď na léčbu IFX ve 2. a 54. týdnu 40,9% a 72,2% (Wallace Crandall et al., 2009). Obdobně až 54% kompletních uzavření píštělí ve 12.měsíci terapie dokumentuje Dupont (F.M. et al., 2014). IFX se ukázal jako účinný i ve zlepšení parametrů růstu (Church et al., 2014; Day et al., 2012; Kang & Choe, 2018; Lahad, 2015; Sinitsky et al., 2010). Specifickou situací je CD u dětí ve velmi nízkém věku, kdy je popisována nižší účinnost IFX než u starších dětí (Kelsen et al., 2014). Zde jsou vhodnější léčebnou modalitou spíše kortikosteroidy než IFX či EEV (Bronský et al., 2012).

Dalším lékem užívaným v terapii dětské CD je ADA, což je plně humanizovaná monoklonální protilátka komerčně produkovaná ovariálními buňkami čínských křečků. Dle dostupných dat je jeho efektivita srovnatelná s IFX. (F.M. et al., 2014). Jeho účinnost byla prokázána řadou prací. První dvojitě zaslepená randomizovaná studie tohoto typu byla studie IMagINE, která prokázala odpověď na léčbu u dětských pacientů, kde selhala konvenční terapie. Na indukční terapii ADA zde odpovědělo 82,4% pacientů s CD (38,7% ve skupině s vyšším dávkováním dosáhlo remise ve 26. týdnu, z toho 56,9% IFX naivních (Jeffrey S Hyams et al., 2012). Kromě CD je u dětí využíván také k léčbě ložiskové psoriázy a neinfekční přední uveitidy od 2 let věku. ADA se využívá v terapii dětské CD od 6 let věku. Iniciální dávka ADA je 100mg/m<sup>2</sup> (nebo 2,4 mg/kg) do 160mg, poté za 2 týdny dávka 50mg/m<sup>2</sup> (1,2 mg/kg) až do dávky 80 mg a poté 25mg/m<sup>2</sup> (0,6 mg/kg) do dávky 40mg á 2 týdny. Lze také dávkovat dle hmotnosti nad a pod 40kg, kdy se podávají dávky 160-80-40mg a 80-40-20mg (F.M. et al., 2014) (Bronský et al., 2012; Humira, 2018; Jeffrey S Hyams et al., 2012; Russell et al., 2011). Hodnocení terapie se provádí za 6-12 týdnů po jejím zahájení. V britské studii, kde byl ADA

podáván 72 pacientům s IBD (70 CD), s nichž většina dostávala předtím IFX bylo dosaženo remise v 1., 6. a 12. měsíci ve 24%, 58% a 41%. Konkomitantní imunosuprese měla pozitivní vliv na dosažení remise. (Russell et al., 2011; Zeisler, 2015).

### **Biosimilární léčiva**

Recentně zkoumanou otázkou je použití tzv. biosimilárních léčiv (biosimilars), což jsou dle WHO léky podobné kvalitou, bezpečností a účinností již existujícím schváleným lékům (Weise et al., 2011). Zatím nejsou k dispozici randomizované kontrolované studie k jejich použití u dětských IBD, nicméně již existují práce u dospělých pacientů popisující jejich srovnatelnou efektivitu definovanou jako odpověď na léčbu a počet nežádoucích reakcí a současně nižší cenu (Chanchlani et al., 2018).

## **Rizika a kontraindikace BL**

### **Kontraindikace podání anti-TNF**

IFX je kontraindikován při akutní infekci, septickém stavu, střední a závažné kardiální insuficienci (New York Heart Association -NYHA III/IV), demyelinizačním onemocnění, náhlé příhodě břišní, intraabdominálních abscesech, neošetřených píštělích, hypersenzitivitě na léčivou látku, u pacientů s aktivní tuberkulózou (TBC) a při těžké alergické reakci po předchozím podání. Před použitím u pacientů s penetrující formou CD musí být nejprve chirurgicky ošetřeny a drénovány abscesy a ošetřena perianální oblast.

### **Rizika infekcí a očkování u anti-TNF**

U pacientů na biologické terapii je zvýšené riziko infekce intracelulárními patogeny. Při postižení tlustého střeva je zvýšené riziko infekce *Clostridium difficile* a při současném podávání kortikosteroidů je zvýšené riziko CMV kolitidy při reaktivaci CMV. Před zahájením anti TNF je nutné vyloučit latentní TBC intradermálním tuberkulinovým testem, který ale může být u dětí na imunosupresi falešně negativní. Také se provádí RTG plic a kvantitativní vyšetření IGRA testem (Quantiferon, T-SPOT), při pozitivitě pacienta odesíláme k dětskému pneumologovi, který rozhodne o případné léčbě antituberkulotiky a zahájení léčby biologikem. Přeléčení antituberkulotiky by se mělo zvážit, i pokud jsou přítomny významné rizikové faktory TBC a

vyšetření na latentní TBC jsou negativní. Také vylučujeme EBV a hepatitidu B, kde je v případě positivity vysoké riziko reaktivace a následné jaterní selhání. U chronických nosičů hepatitis B surface antigen (HBsAg) je doporučována profylaktická léčba antivirotiky, která by měla být zahájena 2 týdny před zahájením a ukončena za 6 měsíců po vysazení imunosupresivní terapie. Vylučujeme i střevní superinfekce a pro zmíněné riziko při srdečním postižení pacienta odešleme k vyšetření dětským kardiologem. Je vhodné doočkovat neexponované pacienty proti varicele a pneumokokovi. Doporučeno je také sezónní očkování proti chřipce, human papilloma viru (HPV) a varicella zoster viru (VZV), jehož primoinfekce nebo reaktivace latentní infekce (pásový opar) u imunosuprimovaného pacienta může být spojena s rozvojem závažných orgánových komplikací (pneumonie, hepatitida, encefalitida, trombocytopenie), které mohou být spojeny s fatálním průběhem. V případě negativní anamnézy provádíme očkování dvěma dávkami. Pokud pacient jeví příznaky VZV infekce, přerušíme terapii a podáme antivirotika. U neexponovaného a neočkovaného pacienta je po kontaktu s VZV doporučena pasivní imunizace imunoglobulinem VZV IgG do 96 hodin. Živé vakcíny je možné očkovat 3 týdny před zahájením nebo 3 měsíce po ukončení imunosupresivní nebo biologické terapie. Vakcinace neživými vakcínami je možná v jakékoliv fázi imunosupresivní nebo biologické terapie, avšak tvorba protilátek u pacientů na imunosupresivní terapii může být snižena, proto je vhodné ověřit serologický titr protilátek a ev. provést doočkování. (Bronský et al., 2012; Gouldthorpe et al., 2011; Lebl J., Janda J., Stary J., 2014; Nevorál, 2013).

### **Další rizika BL**

Kromě infekcí jsou u BL popisovány také infuzní reakce a u dospívajících pacientů vzácně i hepatosplenický T-buněčný lymfom. Jako kožní afekce se vyskytuje psoriáza. V průběhu biologické terapie bývá popisována tvorba autoprotiátek (ANA, dsDNA), ale rozvoj polékového lupusu není tak častý (jeho výskyt je důvodem k ukončení terapie biologikem, ne však jen pouhá pozitivita ANA, dsDNA) (Baldwin & Kaplan, 2017; Bronský et al., 2012; Däbritz et al., 2017; de Zoeten & Mamula, 2008; Escher, Taminiau, Nieuwenhuis, Büller, & Grand, 2003; Guariso & Gasparetto, 2017; Lebl J., Janda J., Stary J., 2014; Nevorál, 2013; Oliveira & Monteiro, 2017; Renna, Cottone, & Orlando, 2014; Rosen et al., 2016; S.Rabizadeh & M.Dubinsky, 2013; Yang, Alex, & Catto-Smith, 2012). Kožní reakce typu IFX-indukované psoriázy jsou popisovány u 8-10% pacientů, tyto afekce se na rozdíl u dospělých, kde se vyskytují na dlaních a ploskách, vyskytují nejčastěji na obličeji, za ušními boltci a ve vlasaté části hlavy (Gouldthorpe et al., 2011).

### 2.2.3.4.3. Udržovací léčba CD

V případě dobré odpovědi na indukci remise biologikem je možné pokračovat v udržovací terapii. V případě IFX podáváme dávku 5mg/kg intravenózně v pravidelném intervalu 4-8 týdnů. V případě užití ADA podáváme dávku 25 mg/kg (max. 40 mg) á 1-2 týdny (Bronský et al., 2012). Za stěžejní práci dokládající efekt podávání IFX v intervalu 8 týdnů je považována studie REACH, kde pacienti v 54. týdnu podávání IFX v intervalu 8 týdnů vykazovali klinickou odpověď v 63,5% a remisi v 55,8%, zatímco při podávání v intervalu 12 týdnů byla klinická odpověď pouze v 33% a remise ve 23,5% (Cohen, Nanau, Delzor, & Neuman, 2014; Jeffrey S Hyams et al., 2012). Pravidelné podávání IFX má větší efekt než podávání epizodické, které se dnes již v klinické praxi nepoužívá. Ve studii s 34 pacienty došlo k relapsu u pravidelného oproti epizodickému podávání IFX v 92% vs. 23%. U pravidelného podávání byl statisticky významně prokázán pozitivní vliv na růstovou rychlost a dlouhodobé podávání se ukazuje být bezpečné (Nutti et al., 2014; Ruemmele et al., 2009). U asi 42-66% dětí na terapii IFX se vyskytuje vznik závislosti (tzv. „infliximab dependence“), charakterizované časným relapsem při vysazení IFX s nutností dlouhodobé terapie (D. Duricova et al., 2009). Běžně pokračujeme společně s IFX v konkomitantní imunosupresi a to nejčastěji AZA alespoň po dobu půl roku. Kombinovaná časná imunosuprese AZA je spojena s vyšší mírou dosažení slizničního hojení a s menší mírou tvorby ATI a nižším rizikem ztráty odpovědi na terapii (Aloi & Cucchiara, 2015; Cheng et al., 2017; Cohen et al., 2014; Kang et al., 2016; Kansen et al., 2017; Lin, Bai, & Zheng, 2011). Obdobné závěry potvrzují i práce s dospělými pacienty (Baldassano et al., 2003; Feldman & Rosh, 2009). Avšak dle Merra-Salmio konkomitantní terapie nemá vliv na tvorbu ATI (Merras-Salmio & Kolho, 2017).

Současná doporučení se tedy shodují na tom, že při nasazení IFX je vhodné pokračovat v konkomitantní terapii. Diskuse se však vedou nad načasováním jejího vysazení. Podle polské randomizované studie u dětských pacientů naproti tomu je srovnatelné klinické zlepšení a ztráta odpovědi na terapii mezi pacienty, kde byla terapie AZA po 6 měsících ukončena a pokračovalo se v terapii IFX a pacienti léčenými IFX a AZA i po 6 měsících terapie (F.M. et al., 2014; Kierkuś et al., 2015). Oproti tomu Grossi uvádí, že pravděpodobnost, že pacienti zůstanou na terapii IFX po 5 let, pokud užívají konkomitantní imunosupresiva více než 6 měsíců, 6 a méně měsíců nebo je neužívají je 70% (+/-4), 55% (+/-6) a 48% (+/-8)(Grossi et al., 2015). Práce Drobneho u dospělých pacientů naznačuje, že by vysazení AZA po 6 měsících nemělo mít vliv na



další vývoj hladin IFX (Drobne et al., 2015). V současné době převládá názor, že při použití ADA v udržovací léčbě, není konkomitantní imunosuprese nutná. Vědecký podklad pro tuto teorii poskytla zejména rozsáhlá randomizovaná studie na dospělých pacientech (Roblin & Flamant, 2018).

Kombinovaná terapie s sebou nese vyšší riziko infekcí a také vyšší riziko malignit, proto by měl být pacient pečlivě monitorován. O ukončení konkomitantní terapie lze uvažovat nejdříve po 6 měsících plné remise. V průběhu terapie je pacient také pravidelně sledován (viz. kapitola: Monitorace aktivity onemocnění).

Pokud je pacient v dlouhodobé remisi, potvrzené endoskopicky a normální hodnotou CPT, lze buď v terapii BL pokračovat anebo zvolit step down terapii MTX nebo thiopuriny (F.M. et al., 2014). Tento postup se však v klinické praxi používá jen velmi zřídka a terapii IFX neukončujeme před dovršením růstu a puberty (F.M. et al., 2014).

#### 2.2.3.4.4. Postup při selhání biologické léčby

Jako primární selhání léčby definujeme nedostatečnou odpověď na indukční léčbu. Ztráta odpovědi je definovaná jako relaps u pacienta, který byl dříve v remisi na terapii biologikem. U dospělých pacientů dle studie ACCENT1 ztratí odpověď na léčbu IFX asi 40% pacientů a riziko ztráty odpovědi na léčbu je asi 13% na pacienta a rok. U ADA je to asi 20,3% na pacienta a rok. U dětí se popisuje po 5 letech léčby ztráta odpovědi na léčbu IFX ve 25-50%. Některé práce udávají ztrátu odpovědi v prvním roce terapie v 36,5% (Gouldthorpe et al., 2011).

Při sekundární ztrátě odpovědi eskalujeme terapii IFX buď zvýšením dávky z 5 na 10mg/kg, zkrácením intervalu podávání na 6 nebo 4 týdny, přidáním imunosupresiva nebo změnou na jiný TNF blokátor. V současné době se doporučuje při ztrátě odpovědi měřit hladiny IFX a ATI- viz. kapitola Využití znalosti hladin a protilátek v modifikaci terapie v dětské populaci. (Katz et al., 2012; Roda, Jharap, Neeraj, & Colombel, 2016).

Kopylov srovnával efektivitu zkrácení intervalu podávání dávky 5mg/kg na 6 týdnů a zvýšení dávky podávané á 8 týdnů na 10mg/kg. Na tuto eskalaci zareagovalo 69% a 67% pacientů (Kopylov et al., 2011). Pokud pacient při selhání léčby IFX nebyl léčen jinými imunosupresivy, může jejich doplnění do terapie pomoci znovu obnovit odpověď na léčbu (Ben-Horin et al., 2013). Zdá se také, že není rozdíl v četnosti sekundární ztráty odpovědi při použití

AZA či MTX jako konkomitantní terapie. Boliá toto dokládá ve studii, kde odpověď na léčbu ztratilo 34,2% ze 73 pacientů. Také uvádí, že delší čas mezi stanovením diagnózy a nasazením IFX zvyšuje riziko ztráty odpovědi. IFX by tedy měl být, pokud je indikován, nasazen co nejdříve je to možné (Bolia et al., 2018).

Při neúčinnosti IFX lze pacienta převést na ADA, stejně tak jako při těžké alergické reakci na IFX. Převedení na ADA má účinek především v přítomnosti ATI (Karmiris et al., 2009).

Při selhání terapie bychom měli pomýšlet i na infekční příčinu a non compliance pacienta (Bronský et al., 2012).

### 2.2.3.5. Ostatní možnosti léčby

Jako doplňkovou terapii lze využít enterální výživu, jejíž podávání zlepšuje růst a nutriční stav pacienta. Použití cyklosporinu A (indikován především u těžké fulminantní kolitidy bez odpovědi na systémové kortikosteroidy), takrolimu, mykofenolátu nebo thalidomidu připadá v úvahu jen u pacientů, kde selhala veškerá konvenční i biologická terapie. Fekální mikrobiální transplantace zatím nemá své jasné místo v terapii IBD u dětí. Existuje jen málo prací s touto tematikou a tato modalita přichází zatím v úvahu jen v terapii infekce *clostridium difficile* (Bandzar et al., 2013; Guariso & Gasparetto, 2017).

V případě výskytu monogenní choroby imitující IBD u dětí do 2 let můžeme zvážit transplantaci hematopoetických kmenových buněk, např. při deficitu IL-10.

## 2.3. Infliximab(IFX)

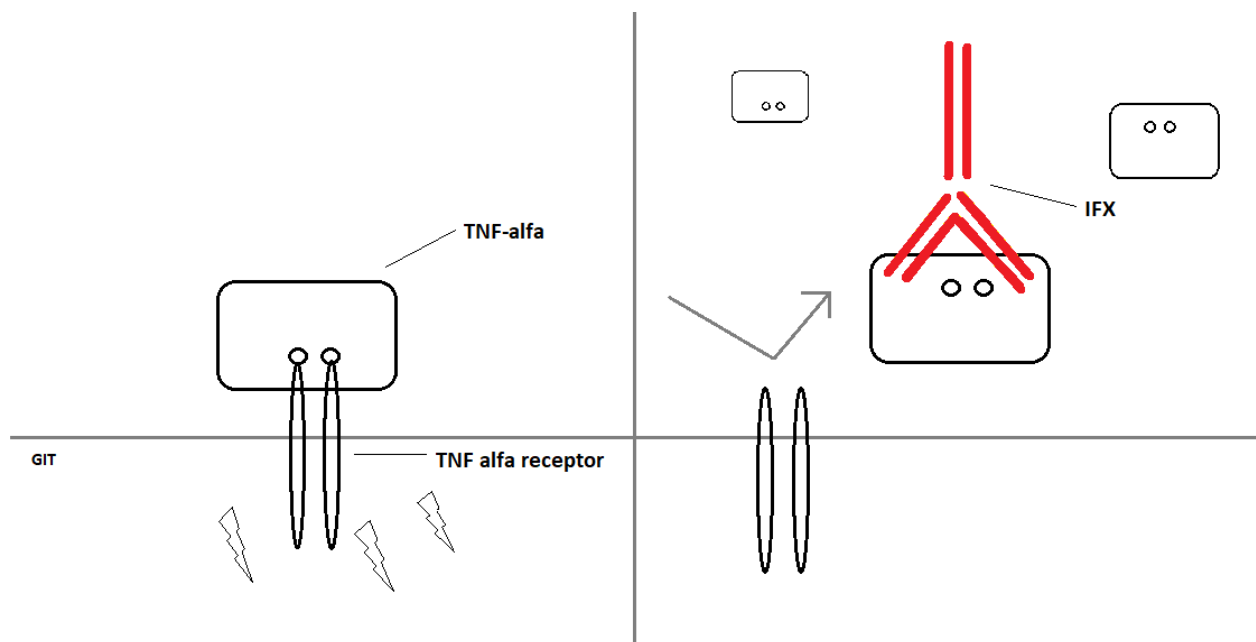
Infliximab (IFX) je monomerní IgG1 monoklonální protilátka proti TNF alfa s molekulární hmotností 149 kDa. Původně byl produkován jako myší protilátka, avšak během jeho postupného vývoje byly některé myší domény nahrazeny lidskými. Z důvodu této kombinace je řazen mezi tzv. chimérické monoklonální protilátky a obsahuje konstantní humánní (75%) a variabilní myší (25%) segmenty. IFX vyvinul Junming Le a Jan Vilcek (původem Čech) na New York University School of Medicine. V USA byl roku 1998 schválen jako první TNF alfa blokátor.

IFX Je produkován hybridními myšimi buňkami technologií rekombinantní DNA (Bronský et al., 2012; Guo, Lu, & Bai, 2013; Remicade, n.d.).

### 2.3.1. Farmakologická charakteristika

Účinek IFX spočívá v navázání na rozpustné a transmembránové formy TNF alfa. Jeho zablokováním se znemožní interakce s TNF alfa receptorem (schéma 1). IFX tak blokuje sekreci zánětlivých mediátorů. Snižuje produkci granulocytů a monocytů stimulujícího faktoru (GM-CSF), který je u IBD zvýšený. Při IBD jsou slizniční T lymfocyty rezistentní na indukovanou apoptózu, což vede k jejich hromadění ve sliznici a zvyšování sekrece zánětlivých působků. IFX indukuje singnifikantní pokles CD 3 lymfocytů ve sliznici pacientů s IBD a zvyšuje počet funkčních Treg lymfocytů, kterých je u IBD snížený počet a také regulačních makrofágů, jež inhibují proliferaci aktivovaných T lymfocytů. Zánětlivý proces u IBD zvyšuje expresi adhezivních endoteliálních molekul intercellular adhesion molecule 1 (ICAM1) a vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM1) a tím zvyšuje migraci leukocytů do tkáně. Tento proces je inhibován podáváním IFX. Jeho další funkcí je zlepšení původně narušené reakce endotelu na acetylcholin a tím zlepšuje schopnost cévní vazodilatace. Zánětlivý proces při IBD indukuje tvorbu nových cév pomocí vascular endothelial growth factor A (VEGF-A), IFX toto blokuje snížením exprese proliferačního markeru Ki-67 vedoucí ke snížení koncentrace VEGF-A. Pro mnoho fyziologických procesů ve střevě je nutná rovnováha mezi metaloproteinázou a tkáňovým inhibitorem metaloproteinázy, tato rovnováha je u IBD narušena a terapie IFX tuto rovnováhu vyrovnává. IFX zlepšuje slizniční hojení indukci regulačních makrofágů. Jako klíčový regulátor imunologických procesů u IBD je popisován jaderný transkripční faktor kappa B, jehož aktivace je u IBD zvýšena a tím je značně akcelerována exprese prozánětlivých genů. IFX je schopen aktivitu faktoru kappa B snížit a to neutralizací TNF alfa, což je agonista dráhy faktoru kappa B. Ve snaze zajistit markery, podle kterých by bylo možno predikovat odpověď na IFX, jsou studovány genetické prediktory např. vliv polymorfismu FAS1/FAS systému kaspázy-9, IBD5 či NOD2. Výsledky výzkumu zatím ale zásadně neovlivňují klinickou praxi (Feldman & Rosh, 2009; Guo et al., 2013).

### Schéma 1. Princip účinku IFX



Legenda: IFX- infliximab, GIT- gastrointestinální trakt, TNF- tumor necrosis factor

IFX je podáván pouze intravenózně a jeho distribuční objem při ustáleném rovnovážném stavu (průměrná hodnota  $V_d$  byla 3,0 až 4,1 litrů) nezávisí na velikosti dávky, což svědčí o tom, že IFX je distribuován převážně v cévním kompartmentu. Degradace IFX probíhá pravděpodobně proteázami, avšak ne enzymy příbuznými CYP450. Systémová clearance je 11-15ml/hod. Byly zkoumány faktory ovlivňující clearance IFX. Například ve studii se 44 pacienti (medián věku 35,6 let) byly měřeny koncentrace IFX a ATI u 169 vzorků (73 CD, 92 UC, 4 IBDU) a byl zkoumán vliv některých sérových parametrů na clearance IFX. Signifikantní asociace s vysokou clearance IFX byla nalezena u sérového albuminu pod 30g/l, vysoké tělesné hmotnosti a přítomnosti ATI (navázání endogenních protilátek na exogenní protein může zrychlit clearance IFX fagocytózou vzniklého imunokomplexu (Rehlaender & Cho, 1998)), kdy byla clearance zvýšena o 259%. Clearance zde nebyla ovlivněna typem onemocnění. Akumulace ve tkáních nebyla u IFX prokázána. Plazmatická koncentrace IFX stoupá v čase proporcionálně se zvyšující se dávkou, což svědčí pro lineární farmakokinetiku (Cohen et al., 2014; Dotan, Ron, Yanai, Becker, & Fishman, 2014; Klotz, Teml, & Schwab, 2007). Průměrný poločas eliminace je v rozmezí 7,7 až 9,5 dnů (Kumar et al., 2011). Dávka 5mg/kg je po 12 týden prakticky nedetekovatelná v séru ( $< 0,1\mu\text{g/ml}$ ) (Feldman & Rosh, 2009).

Současná terapie kortikosteroidy by neměla mít vliv na farmakokinetiku IFX. Současné podávání imunomodulancí zpomalilo pokles sérových koncentrací IFX (Klotz et al., 2007). Studie kompatibility nejsou k dispozici, a proto nesmí být IFX v infuzi mísen s jinými léčivými přípravky a není doporučena ani kombinace s jiným biologikem k léčbě stejných stavů (Remicade, n.d.).

Lék je možné podávat i během těhotenství. Byl prokázán jeho přestup přes placentu ve 3. trimestru, ale zdá se, že to nepředstavuje riziko pro plod. Přesto je doporučováno některými autory ukončit léčbu IFX po 30-32. týdnu těhotenství (Chaparro & Gisbert, 2014; Khan, Asim, & Lichtenstein, 2014; Persic, 2013). Pokud zkoumáme riziko v těhotenství při anti TNF terapii obecně, pak se zdá, že jakýsi negativní vliv biologik není zcela vyloučen. Weber-Schoendorfer ve své multicentrické kohortové studii dokládá zvýšené riziko postižení novorozence, předčasného porodu a nižší porodní hmotnost ve vztahu ke gestačnímu stáří u matek léčených anti TNF preparátem v těhotenství. Zvýšené riziko spontánního potratu nebylo prokázáno (Weber-Schoendorfer et al., 2015; Woude et al., 2015). Na druhou stranu však nebyl dle práce Ďuricové prokázán negativní efekt expozice IFX in utero ve smyslu infekčních komplikací, alergie, poruchy růstu či psychomotorického vývoje u kojenců (Dana Duricova et al., 2019).

### 2.3.2. Všeobecné indikace použití

IFX se běžně užívá tam, kde běžná léčba není efektivní, anebo je onemocnění tak závažné, že se nepředpokládá její dostatečný efekt. V současné době se IFX využívá především v následujících indikacích (kromě CD), (Remicade, n.d.):

Revmatoidní artritida u dospělých pacientů a u dětí.

Ulcerózní kolitida, středně těžká a těžká forma u dospělých i dětí.

Psoriatická artritida.

Idiopatická plicní fibróza.

Oční manifestace Bechcetovy choroby.

Ankylozující spondylitida a psoriáza.

### 2.3.3. Nežádoucí účinky

Mezi nežádoucí účinky IFX řadíme infuzní reakce, oportunní infekce, kožní afekce a zvýšené riziko malignit. Ve studii REACH byla popsána infuzní reakce u 17-18% dětí, ale jen v jednom případě musela být léčba IFX přerušena (J. Hyams et al., 2007). Nejběžnější symptomy akutní infuzní reakce jsou dušnost, vyrážka, nauzea, bolesti hlavy, hypoxie nebo tachykardie. Četnost infuzní reakce dle ECCO-ESPGHAN byla popsána u 15% pacientů a 3% infuzních podání (Catto-Smith & Kansal, 2014; F.M. et al., 2014; Kansen et al., 2017). Téměř totožná procenta udává i Jacobstein. V jeho práci byla infuzní reakce popsána u 16,5% pacientů a u 3,6% infuzí (Jacobstein et al., 2005). Zdá se, že ženské pohlaví a podávání imunosupresiv méně než 4 měsíce jsou rizikové faktory vzniku infuzní reakce (W V Crandall & Mackner, 2003). Z důvodu rizika rozvoje časně reakce bylo původně doporučováno, aby infuze IFX trvala minimálně 2 hodiny. Nicméně se ukazuje, že je možno IFX aplikovat bez výraznějšího rizika i rychleji, jak to dokumentuje Neef, který srovnal počet infuzních reakcí u standardní aplikace a u rychlé infuze (do 1 hod) u pacientů s IBD, RA, spondylartropatií a psoriázou. Celkem bylo podáno 13 147 infuzí během 2-3 hod. a 8497 infuzí do 1 hod. Infuzní reakce byla zaznamenána u 0.9% a 2.2% infuzí (Neef, Riebschleger, & Adler, 2013). Pacient by však měl zůstat pod dohledem další 2 hodiny po ukončení infuze. Zdá se, že premedikace paracetamolem, kortikosteroidy a cetirizinem před podáním IFX nehraje roli v ovlivnění výskytu infuzní reakce a není tedy běžně doporučována (F.M. et al., 2014; Jacobstein et al., 2005; Lahdenne, Wikstrom, Aalto, & Kolho, 2010).

V 8% případů se objevuje i opožděná hypersenzitivní reakce, která se objevuje po jednom dni od infuze (může se objevit 2-12dní po infuzi) a zahrnuje otok a bolest kloubů, horečku, periferní otoky, svědění, bolesti hlavy, dysfagii nebo bolesti v krku (F.M. et al., 2014; Feldman & Rosh, 2009).

Tvorba ANA protilátek se u terapie IFX popisuje ve 22,9% (J. Hyams et al., 2007). Jsou popsány i jednotlivé případy prokázaného polékového lupusu (Zella, Weinblatt, & Winter, 2009).

Ve Fidderově analýze se u 20% pacientů léčených IFX objevily kožní afekce (Fidder et al., 2009). Vyskytnout se mohou i psoriatické léze či rozvoj IFX-asociované psoriázy (popisované u 8% pacientů (Hiremath, Duffy, & Leibowitz, 2011)), kdy je nutné při těžším postižení léčbu IFX ukončit. V léčbě se užívají především topické kortikosteroidy. Nejčastější kožní symptom je však

svědění a bolest. Pokud je pacient po léčbě maligního melanomu a je třeba ho léčit IFX, pak je nutné současné sledování dermato-onkologem, protože se zdá, že terapie IFX zvyšuje riziko maligního melanomu. Dalším z kožních projevů může být vaskulitida. Typické jsou bolestivé krvácivé noduly vyskytující se nejvíce na dolních končetinách. Lékem volby v tomto případě jsou kortikosteroidy. Vzácně se může vyskytnout Steven Johnsonův syndrom či toxická epidermální nekrolýza, kdy reakce postihuje i sliznici úst, genitálu a spojivky. Jeden či dva dny po začátku terapie se objevují červené makuly a může dojít až ke ztrátě vlasů a nehtů. Patogenetický mechanismus spočívá v apoptóze keratinocytů kvůli masivnímu uvolnění TNFalfa z T buněk. Vzácně je pozorován lichenoidní exantém, který se objevuje několik měsíců po zahájení terapie IFX.

Oportunní infekce nejsou příliš časté, ale např. ve studii REACH byly popsány u 8% pacientů (J. Hyams et al., 2007). Objevují se i případy reaktivace latentní tuberkulózy, toto riziko by ale vzhledem k současným doporučením před léčbou mělo být velmi nízké (Jeffrey S Hyams et al., 2009). Myslet bychom měli i na možnost reaktivace chronických virových infekcí jako hepatitida B nebo herpes zoster, i když toto riziko je velmi nízké (Shale et al., 2010). Celkový výskyt závažných infekcí u pacientů léčených IFX je dle de Bie 3,3%, v jeho analýze se jednalo o sepsi, absces, meningitidu, herpes zoster, varicellu, EBV asociovanou hemafagocytující lymfohistiocytózu, kožní tineu a oportunní mykotickou infekci (de Bie, Escher, & de Ridder, 2012).

Riziko malignit se pokusil vyjádřit Williams, kdy získal data z placebem kontrolovaných studií. Celkem zahrnul 11 studií pacientů na terapii IFX, 6 studií na terapii ADA, 4 na terapii certolizumabem a 1 na terapii golimumabem s celkovým počtem 7054 pacientů nad 16 let (4566 CD a 2488 UC). Bylo zaznamenáno 16 malignit (0.39%) u léčených pacientů a 13 (0.45%) u placebo skupiny. V léčené skupině nebyl zaznamenán žádný lymfom. Ve skupině s placebem byly popsány 3 lymfomy. Data jsou ovšem dostupná jen pro léčbu trvající max. 1 rok. Není tedy jasný vliv dlouhodobé terapie (Williams, Peyrin-Biroulet, & Ford, 2014). Zkoumané soubory dětských pacientů s IBD, kteří prodělali maligní onemocnění, jsou velmi malé, avšak jednotlivé případy malignit jsou hlášeny (de Ridder et al., 2014). U mladých mužů byla popsána asociace mezi hepatosplenickým T buněčným lymfomem a kombinovanou terapií IFX s thiopuriny (Rosh, Gross, Mamula, Griffiths, & Hyams, 2007).

Pokud srovnáme výskyt nežádoucích reakcí a oportunních infekcí u IFX a ADA pak u dospělých pacientů nebyl prokázán rozdíl (Kestens et al., 2013). U dospělých pacientů s IBD

léčených thiopuriny bylo prokázáno 4 násobné riziko vzniku lymfomu (Kandiel, Fraser, Korelitz, Brensinger, & Lewis, 2005). Dle Dulaie je ale riziko vzniku lymfomu u pacientů na IFX terapii srovnatelné s běžnou pediatrickou populací, toto riziko udává jako 2,1/10000 pacientů vs. 0,58/10000 pacientů (Dulai, Thompson, Blunt, Dubinsky, & Siegel, 2014).

## **2.4. Monitorace aktivity onemocnění**

V terapii IBD je nejen důležité pacienta správně diagnostikovat a nastavit indukční a následnou udržovací terapii, ale také dlouhodobě sledovat a hodnotit efektivitu léčby a případně podle vývoje stavu terapii upravovat či zcela změnit. Níže uvedené metody by nám měly pomoci k co nejčasnějšímu odhalení nástupu relapsu a dát nám možnost terapeuticky co nejrychleji zareagovat. Toto je důležité zvláště u dětí s CD, kdy déle trvající relaps může mít negativní vliv na růst a vývoj dítěte. Ke sledování pacientů na léčbě používáme jak klinické ukazatele, tak laboratorní a instrumentální vyšetřovací metody. Hodnocení vybraných ukazatelů by mělo probíhat při každé aplikaci biologické terapie. Frekvence sledování je velmi individuální a záleží na mnoha faktorech jako je aktivita choroby, compliance, věk nebo fáze růstu (Borja-Cacho & Matthews, 2008). Součástí každé aplikace IFX (či jiného biologika) by měla být kontrola lékařem v centru biologické terapie. Tyto kontroly probíhají tedy každých 4-8 týdnů, dle intervalu podávání. Součástí této kontroly je odběr anamnestických a základních antropometrických a laboratorních dat a podrobné klinické vyšetření pacienta.

### **2.4.1. Klinické známky**

Důležité je zhodnocení aktivity onemocnění. Pro CD i UC používáme skórovací systémy upravené pro potřeby dětských pacientů. U CD používáme skóre PCDAI. Zjišťujeme četnost a konzistenci stolice, denní aktivitu, bolesti břicha a únavu. Součástí PCDAI indexu jsou i laboratorní hodnoty jako hematokrit, sedimentace erytrocytů a albumin. Dále obsahuje údaje o tělesné hmotnosti, růstové rychlosti a perianálním postižení (Tabulka 7).



Tab. 7. PCDAI index, upraveno dle Nevoral (J. Hyams et al., 2005; J S Hyams et al., 1991; Nevoral, 2013). Část. 1

Anamnéza	Symptomy	body
bolesti břicha	žádné	0
	mírné (krátce trvající, nerušící denní aktivitu)	5
	těžké (déle trvající, noční, narušující denní aktivitu)	10
stolice za 24 h	0-1 tekuté stolice, bez krve	0
	do dvou kašovitých stolic s příměsí krve nebo 2-5 tekutých	5
	výrazné krvácení, 6 a více stolic, noční průjem	10
denní aktivita, únava	bez limitace, cítí se dobře	0
	občasné potíže, podprůměrný pocit	5
	časté omezení denní aktivity, velmi špatný pocit	10
<b>Laboratorní hodnoty</b>		
hematokrit (%) 0-10 let	nad 32	0
	28-32	5
	pod 28	10
dívký 11-19 let	nad 33	0
	29-33	5
	pod 29	10
chlapci 11-14 let	nad 34	0
	30-34	5
	pod 30	10
chlapci 15-19 let	nad 36	0
	32-36	5
	pod 32	10
FW (mm/h)	pod 20	0
	20-50	5
	nad 50	10
albumin (g/l)	nad 34	0
	31-34	5
	pod 31	10
<b>Fyzikální vyšetření</b>		
tělesná hmotnost	přiměřený přírůstek hmotnosti	0
	neúmyslně stabilní hmotnost, ztráta hmotnosti 1-9%	5
	ztráta hmotnosti více než 9%	10
růstová hmotnost	větší než 1 SD	0
	1 SD až 2 SD	5
	menší než 2 SD	10
břicho	žádná palpační bolestivost, bez hmatné patologické rezistence	0
	palpační bolestivost nebo hmatný infiltrát bez bolestivosti	5
	bolestivost, dobře hmatná rezistence	10
perianální postižení	žádné, asymptomatické výrůstky v okolí konečníku	0
	1-2 nebolestivé píštěle s malou sekrecí, žádná bolestivost	5
	aktivní píštěl se sekrecí, bolestivost nebo absces, drenáž	10

Tab. 7. PCDAI index, upraveno dle Nevorala (J. Hyams et al., 2005; J S Hyams et al., 1991; Nevoral, 2013). Část. 2

Extraintestinální projev	Horečka nad 38,5st. C po dobu tří dnů během týdne, artritida, uveitida, erythemanodosum, pyodermagangrenosum	
	žádné	0
	jeden	5
	více než jeden	10

Legenda: FW- Fahræus Westergren/sedimentace erytrocytů, SD- směrodatná odchylka

Pro UC se používá skóre PUCAI, které je uvedeno v tabulce 8.

Tab. 8. PUCAI index, upraveno dle Nevorala (Nevoral, 2013; Turner et al., 2007)

Bolesti břicha	Body
žádná	0
může být ignorována	5
nemůže být ignorována	10
Krev ve stolici	
žádná	0
malé množství, v méně než 50% stolic	10
malé množství ve většině stolic	20
velké množství (více než 50% objemu stolice)	30
Konzistence většiny stolic	
formované	0
částečně formované	5
zcela neformované	10
Počet stolic za 24 hod	
0-2	0
3-5	5
6-8	10
>8	15
Noční stolice (jakákoliv epizoda vedoucí k probuzení)	
nemůže být ignorována	0
Ano	10
Denní aktivita	
bez omezení	0
občasné omezení aktivity	5
významné omezení aktivity	10

Nevýhoda uvedených skórovacích systémů je, že neodráží spolehlivě stav zhojení sliznice (při PCDAI pod 10 bodů je senzitivita 63% a specificita 77% ve vztahu k simple endoscopic scorefor Crohn's disease-SES-CD). Pokles PCDAI o 12,5 bodů a více po terapeutickém zásahu dobře reflektuje klinicky signifikantní odpověď (J. Hyams et al., 2005).

Kromě PCDAI existují dále verze weighted PCDAI, a kratší verze pro snazší proveditelnost: abbreviated PCDAI a short PCDAI (Turner et al., 2017).

Při fyzikálním vyšetření se zaměříme na pátrání po extraintestinálních projevech CD nebo nežádoucích projevech léčby IFX jako jsou strážné hrbolky, kožní afekce (psoriatická ložiska, kožní novotvary, erythema nodosum apod.) a celkové příznaky jako je nechutenství, hubnutí a únava. U pacientů na imunosupresivní terapii sledujeme vznik lymfadenopatie a hepatosplenomegalie. Vhodné je zhodnotit vývoj školního prospěchu a stav psychiky, tzn., měli bychom se ptát na změny v náladě, chování nebo fyzické či školní výkonnosti. V tomto hodnocení lze využít některý ze skórovacích systémů jako je např. Children's depression inventory (Sitarenios, GM.; Kovacs, 1999). U dětí v pubertálním věku bychom měli zhodnotit stupeň pubertálního vývoje (Bronský et al., 2017, 2012; Jenkins, 2009; Lebl J., Janda J., Stary J., 2014; Nevorál, 2013). U pacientů na terapii kortikoidy, cyklosporinem nebo takrolimem bychom měli minimálně 1x za rok provádět měření krevního tlaku.

#### 2.4.2. Běžné laboratorní metody

Doporučuje se, dle stavu pacienta, v intervalu 8-12 (delší interval platí pro pacienty léčené ADA) týdnů kontrolovat FW, KO+diff., ALT, AST, ALP, GMT, bilirubin, ureu, kreatinin, albumin, moč a CRP. CRP se ukazuje být velmi dobrým ukazatelem aktivity onemocnění (Jurgens et al., 2011). V delších časových intervalech pak kontrolujeme ANA a dsDNA. Pokud je zachycena anémie, je vhodné doplnit vyšetření metabolismu železa k vyloučení případného deficitu železa z chronických ztrát a ev. deficitu vit. B12 a folátu. Pacienti s postižením tenkého střeva mohou být ohroženi i deficitem zinku. Tam, kde je to indikováno, je vhodné kontrolovat kostní denzitu, zvláště u dětí, kde byla kostní denzita v době diagnózy snížena. U dětí, kde bylo v době diagnózy nízké BMI a snížená denzita kostí (Z skóre více jak minus 2) je indikováno vyšetření celkového a ionizovaného kalcia, fosfátu, urey, kreatininu, parathormonu, transglutaminázy IgA, 25 hydroxyvitaminu D a event. 1,26 dihydroxyvitaminu D. (Borja-Cacho & Matthews, 2008). Cílem

laboratorních vyšetření je také např. časná detekce polékové hepatopatie nebo cholangitidy či IBD indukované autoimunitní hepatitidy.

### 2.4.3. Fekální kalprotektin (CPT)

CPT je cytosolický kalcium a zinek vázající protein, který je prakticky možné považovat za specifický pro neutrofilů, i když jeho nízké koncentrace je možné nalézt i v ostatních fagocytujících buňkách. Koncentrace tohoto proteinu je zvýšena ve stolici v průběhu střevního zánětu. Zdá se, že jeho koncentrace není ovlivněna věkem ani typem IBD. Výhodou je jeho velká senzitivita, ale nevýhodou nízká specifita, může být totiž zvýšený při jakémkoli typu střevního zánětu, např. u infekčního onemocnění. Tento protein je poměrně stabilní při pokojové teplotě, proto lze odběr vzorku stolice provést v domácím prostředí a poté zkumavku dopravit do laboratoře/ordinace s určitou časovou prodlevou. Odběr stolice na kalprotektin je třeba uskutečnit ještě před přípravou k ev. endoskopickému výkonu, protože během přípravy laxativy může jeho hodnota klesnout do normálních hodnot (Bjarnason, 2017; Ondrej Hradsky, Ohem, Mitrova, et al., 2014).

### 2.4.4. Endoskopické vyšetření

Endoskopické vyšetření je vhodné provést zejména před plánovaným ukončením léčby k ověření endoskopické remise. Kontrolní endoskopii provádíme také po IC resekci a to s odstupem 6-12 měsíců ke zhodnocení zhojení sliznice a ev. indikaci další terapie nebo s delším odstupem při podezření na pooperační rekurenci. Při podezření na pouchitis indikujeme pouchoskopii. Endoskopické vyšetření indikujeme dle stavu pacienta, vhodné je ve chvíli, kdy plánujeme zásadní změnu terapie např. převedení na jiné biologikum nebo před chirurgickým výkonem. Dle Defilippis je doporučeno provádět kolonoskopické vyšetření každých 8-10 let od výskytu symptomů, a to nejenom jako screening ev. nádorových lézí. U pacientů s primární sklerotizující cholangitidou při IBD je doporučeno provádět koloskopii až 1x ročně (Defilippis, Sockolow, & Barfi, 2016). Koloskopie je indikována v případě, že je třeba verifikovat zhojení sliznice u pacienta v remisi nebo např. v průběhu klinických studií (Oliva et al., 2018).

## 2.4.5. Měření hladin IFX a protilátek (ATI)

Součástí sledování pacienta na léčbě je i pravidelné měření hladin IFX a ATI. O tom, zda vůbec a jak často je efektivní stanovovat hladiny IFX a hladiny ATI, se v poslední době vedou debaty. Jednotlivé publikované práce se liší v názoru, do jaké míry je skutečně klinicky přínosné řídit terapii dle těchto laboratorních parametrů a na kolik je naopak dostačující pouhé hodnocení klinického stavu pacienta. Nicméně význam tohoto měření se s přibývajícím studii stále více dostává do popředí zájmu dětských gastroenterologů. Obvykle v klinické praxi v případě pochybností o efektivitě terapie u pacientů léčených IFX sledujeme jeho hladinu v určených časových intervalech a součástí hodnocení terapie je i sledování ATI. Zvykem je odebírat vzorky krve těsně před aplikací další dávky, proto, aby byla zachycena nejnižší hladina léčiva během intervalu mezi dvěma podáními (tato nejnižší hladina je označovaná jako "trough level"). Pokud má být léčba efektivní, měla by se i tato nejnižší hladina pohybovat v terapeutickém rozmezí. V následujících kapitolách se zaměříme právě na otázku měření hladin IFX a ATI u dospělých a především dětských pacientů a významu tohoto měření pro klinickou praxi.

### 2.4.5.1. Způsoby měření, dostupnost v ČR a cena

Metodou volby používanou k monitoraci hladin IFX a ATI je ELISA. Principem této metody je imunoenzymatická reakce bezbarvého substrátu, který je dále hydrolyzován v barevný produkt. Ten je poté možné měřit spektrofotometricky. Intenzita zabarvení koreluje s koncentrací detekovaného antigenu nebo protilátky. ELISA využívá dvou základních vlastností imunoglobulinů: schopnost vázat se na povrch plastů (např. polystyrenu) a schopnost vázat enzymy na Fc fragmenty imunoglobulinových molekul. Vzorky se odesílají do laboratoře s adekvátním vybavením, ale výsledky nejsou k dispozici ihned a proto nelze zareagovat změnou terapie již v den odběru.

Objevují se tedy snahy o využití tzv. bed-side nebo on-site vyhodnocení vzorku, tedy v den a v místě odběru. Využit lze komerčně vyráběných kitů, nebo tzv. „home made“ kitů s vlastními reagensy. Tento způsob měření však není příliš rozšířen a je využíván převážně experimentálně. Možnost měřit hladiny IFX a ATI přímo na daném pracovišti bez nutnosti odesílání vzorků do specializované laboratoře je např. použitím metody upconverting phosphor

consecutive flow. Ta je založena na principu lateralflow, kde se využívá horizontálního kapilárního pohybu analytu společně se značenými protilátkami přes diagnostický nosič (Koczula & Gallotta, 2016). Popsaná metoda vykazovala dobrou korelaci s hodnotami IFX měřeny běžnou ELISA metodou. Tato metoda se však v ČR běžně nepoužívá (Corstjens et al., 2013). Při každém měření by se měly vždy používat soupravy od stejného výrobce, aby nedocházelo k diskrepancím pro odlišné detekční limity nebo odlišnou senzitivitu (Hernández et al., 2015; Casper Steenholdt, 2013).

Další metodou pro detekci hladin IFX a ATI je radio-immunoassay (RIA), jejímž základem je imunochemická reakce antigenu se specifickou protilátkou prováděná v přítomnosti radioaktivně značené sloučeniny jako radioindikátoru. Tuto metodu využívají především laboratoře v Dánsku a Nizozemí.

Použit lze i metodou fluid phase mobility shift assay, která se používá především ve Spojených státech. Při této metodě je využíváno vyšší hmotnosti komplexu antigen-protilátka oproti hmotnosti samotného léčiva. Tyto dvě frakce se pak lépe separují pohybem v tekuté fázi a následně jsou detekovány fluorescentně značeným TNF. Výhodou této metody je schopnost detekovat jak volné protilátky, tak protilátky již navázané na IFX (N Vande Casteele et al., 2012; Wang et al., 2012). Běžná ELISA je schopná detekovat ATI pokud se zároveň v séru nevyskytuje i IFX (Carman, Mack, & Benchimol, 2018), proto jsou k dispozici i výše zmíněné tzv. drug tolerant kity (Van Stappen et al., 2018) nebo homogeneous mobility shift assay (HMSA) (Wang et al., 2012). HMSA je tedy schopna zachytit větší procento protilátek než běžné metody. Minar ve své práci popisuje výskyt ATI u 5% pacientů při užití metody ELISA a 33% při užití metody HMSA (Minar, Saeed, Afreen, Kim, & Denson, 2016).

V České republice se využívá komerčně dodávaných ELISA kitů. K dispozici jsou následující dostupné kity pro detekci hladin IFX a ATI: ImmunoGuide, ImmunDiagnostik, R-Biopharm, ShikariMatriksBiotek, TheraDiag Lisa Tracker (Malíčková, 2017). Měření hladin a protilátek provádějí v ČR zpravidla vybrané laboratoře uvedené v tabulce 9.

**Tab. 9. Dostupnost měření hladin IFX a ATI v ČR (zdroj: laboratorní příručky jednotlivých uvedených pracovišť)**

Pracoviště	Frekvence stanovování IFX a ATI
FN u sv. Anny, Brno	1xza 2 týdny
FN Hradec Králové	1xza 3 týdny
Všeobecná fakultní nemocnice	1xza 2 týdny
Nemocnice Prostějov	1x za 1 týden
IKEM	1x za 2 týdny
Nemocnice Na Bulovce	1xza 2 týdny
Nemocnice České Budějovice	1xza 2 týdny
Nemocnice Liberec	1xza 2 týdny
Nemocnice Jihlava	Dle počtu pacientů

Legenda: FN- Fakultní nemocnice, IKEM- Institut klinické a experimentální medicíny

Cenové ohodnocení vyšetření většinou jednotlivá pracoviště neuvádějí. Dvě z uvedených pracovišť stanovila hodnotu vyšetření na 477 bodů. Ceny ELISA kitů aktuální k 9.10.2018 jsou uvedeny v tabulce 10.

**Tab. 10. Ceny ELISA kitů určených dle výrobce k experimentálnímu použití (zdroj: ceníky jednotlivých společností k 9.10.2018)**

Distributor	Cena IFX ELISA	Detekční limit	Cena ATI ELISA	Kapacita
ImmunoGuide	859,83 €	0.2-6 µg/mL	859,83 €	96 testů
Alpco	975 \$	4.15 - 225 ng/mL	975 \$	96 testů
Biovision	1120 \$	0.1 - 3µg/ml	1150 \$	100 testů
IBL-america	895 \$	6 - 200ng/mL	895 \$	96 testů

Legenda: ELISA- enzyme linked immunosorbent assay, IFX- infliximab, \$- americký dolar, €- euro

#### 2.4.5.2. Využití znalosti hladin a protilátek v modifikaci terapie v dospělé populaci

Jak již bylo uvedeno v předchozích kapitolách, měření je doporučováno provádět před aplikací následující dávky biologika, tak aby byla zachycena nejnižší hladina v rámci celého terapeutického intervalu (trough level nebo v češtině méně obvykle údolní hladina)(Malíčková, 2017). V současné době již existují data, která přesvědčivě dokladují pozitivní vliv dostatečných hladin IFX a nízkých hladin ATI na průběh IBD.

##### **Optimální hladina IFX**

Názory na dostatečnou hladinu IFX se podle jednotlivých autorů liší. Klotz et al. jako spodní hranici terapeutického rozmezí uvádějí 1 µg/ml (Klotz et al., 2007). Podle studie TAXIT je terapeutické rozmezí IFX 3-7 µg/ml (Niels Vande Castele et al., 2012). Znalost hladiny IFX nám může pomoci nejen pro potřebu jejího zvýšení, ale zdá se, že má přínos i pro její případné snížení. Příliš vysoké hladiny mohou být totiž asociovány např. s kožními lézemi a artralgiemi. Snížení dávky vede v tomto případě i k úspoře finančních prostředků. Další významná práce uvádí jako horní hranici terapeutického intervalu hodnotu 7 µg/ml (Niels Vande Castele et al., 2012; Cleynen & Vermeire, 2012). Taktéž dle ECCO-ESPGHAN doporučení by mělo být zváženo snížení dávky IFX, pokud jsou jeho hladiny v séru vyšší než 8-10 µg/ml (F.M. et al., 2014). Zdá se také, že hladina IFX ve 14. týdnu pod 2,2 µg/ml predikuje ztrátu odpovědi (Niels Vande Castele et al., 2013).

##### **ATI**

Již bylo uvedeno, že IFX jakožto exogenní léčivo může působit imunogenně a podněcovat tvorbu protilátek. ATI bývají primárně cílené proti myším doménám F(ab)<sub>2</sub> (Nanda, Cheifetz, & Moss, 2013). I pokud jsou protilátky cíleny proti jiné struktuře IFX a neovlivňují tak přímo interakci IFX a TNF alfa, vzniklý komplex zvyšuje clearance léčiva (Rehlaender & Cho, 1998). Protilátky proti IFX jsou udávány dle použitého diagnostického setu buď v µg/ml nebo U/ml. Cohen toto zvýšení specifikoval na 2,7násobek běžné clearance s eliminačním poločasem o 34% kratším u ATI pozitivních pacientů (Cohen et al., 2014). Výskyt ATI je dle různých autorů udáván u 8-60% pacientů s IBD (Nanda et al., 2013). Zdá se, že ATI vznikají nejčastěji v prvních 12 měsících terapie (stejná práce uvádí incidenci ATI u 6-25% pacientů) (Ungar et al., 2014).



Steenholdt et al. uvádějí, že se mohou v séru pacienta vyskytovat IgG protilátky, které reagují s Fab fragmenty IFX, ještě před podáním IFX a tyto protilátky tak snižují šanci na dosažení remise (C Steenholdt et al., 2013). U epizodického podávání IFX se oproti pravidelnému podávání vyskytují ATI častěji 61% vs. 16% (Corstjens et al., 2013). Vliv ATI je také dokumentován v retrospektivní studii, kde bylo prokázáno, že ATI mohou v průběhu terapie i vymizet (zde ATI vymizely u 28% pacientů), ale tam, kde jsou setrvale detekovatelné, dochází ke ztrátě odpovědi. U 68% pacientů se setrvalými ATI bylo nutné ukončit léčbu, zatímco u pacientů, u kterých ATI vymizely, bylo potřeba léčbu ukončit jen ve 13%. (Niels Vande Casteele et al., 2013). V předchozích kapitolách zmíněný příznivý efekt pravidelného podávání IFX oproti epizodickému byl potvrzen i nižším výskytem ATI (16 vs. 39%) a nižším výskytem infuzních reakcí (21% vs. 50%) (Maser, Villela, Silverberg, & Greenberg, 2006). Vyšší výskyt nežádoucích reakcí (OR 30,42) a nižší hladiny IFX u pacientů s ATI zaznamenali i Guiotto et al. (Guiotto et al., 2016).

#### **Vztah mezi hladinami IFX a ATI**

Dle dostupných studií protilátky proti IFX ovlivňují samotnou hladinu IFX. Frederiksen et al. ve své práci se 187 pacienty popisují medián koncentrace IFX u ATI pozitivních a ATI negativní pacientů 0 µg/ml a 3,8 µg/ml. V této práci poté byla u části pacientů změněna terapie na ADA a ti, kteří předtím vyvinuli ATI, měli následně ve 33% pozitivní protilátky i proti ADA, zatímco žádný pacient, který byl v předešlé léčbě bez ATI, nevyvinul protilátky ani proti ADA. Zdá se tedy, že přítomnost ATI zvyšuje pravděpodobnost protilátkové odpovědi i na ADA (Frederiksen et al., 2014). Vliv ATI na hladiny IFX je uveden i v analýze, kde pacienti s ATI měli hladiny léčiva dle různých autorů nižší než ti bez prokázaných ATI a to 3,3 µg/ml vs. 11,8 µg/ml, 0,18 µg/ml vs. 3,41 µg/ml a 1,61 µg/ml vs. 4,45 µg/ml (Cohen et al., 2014).

#### **Predikce odpovědi na léčbu a ztráty odpovědi na léčbu dle hladin IFX a ATI**

Mnoho autorů se snaží dle hladin ATI a IFX predikovat odpověď na terapii. Bar-Yoseph potvrzuje vliv hladin ATI a IFX na pravděpodobnost primární odpovědi na léčbu. Ve své práci sledoval hladiny IFX a ATI ve 2. a 6. týdnu indukční terapie. Pacienti, kteří na léčbu odpověděli, měli oproti těm, kteří na léčbu neodpověděli, vyšší hladiny IFX a nižší hladiny ATI. Navíc hladiny IFX pod 6,8 µg/ml a ATI nad 4,3 µg/ml ve 2. týdnu byly prediktorem nedostatečné primární

odpovědi na léčbu (Bar-Yoseph et al., 2018). Dle některých prací ovšem zatím není dle hladin IFX možné predikovat efekt intenzifikace (Pariente et al., 2012). Dle české práce jsou hladiny IFX ve 14. a 22. týdnu terapie nad 3 µg/ml spojeny s trvalejší odpovědí na léčbu (Bortlik et al., 2013). Obdobné hodnoty uvádí i další práce, kde pacienti na terapii 5mg/kg IFX, kteří měli ve 14. týdnu terapie hladiny IFX nad 3,5 µg/ml, s větší pravděpodobností dosáhli dlouhodobé remise (54 týdnů) (Cornillie et al., 2014). Častěji zmiňovaná cut-off hodnota 3 µg/ml se objevuje i v práci, kde ale hladina nad tuto hranici při současné pozitivitě ATI neměla vliv na hodnotu CRP. Z toho plyne, že přítomnost ATI má negativní vliv na stav onemocnění i přes dostatečné hladiny IFX a podtrhuje důležitost monitorování IFX a ATI během terapie (Feagan et al., 2012). Levesqueho et al. uvádějí, že hladina pod 3 µg/ml je také prediktorem výskytu symptomů a vzestupu CRP v indukční fázi terapie. Přítomnost ATI zde také snižovala procento pacientů s adekvátní hladinou IFX. Při znovuzahájení terapie IFX po přerušení kvůli remisi, těhotenství nebo předchozí ztrátě odpovědi, byly vyšší hladiny IFX a nepřítomnost ATI asociovány s dlouhodobou následnou remisí (Baert et al., 2003). Srovnatelný vliv úpravy terapie dle klinických symptomů, laboratorních hodnot a hladin IFX na procento pacientů dosahující dlouhodobé remise od 22. -54. týdne terapie potvrzuje i Haens (Haens et al., 2018). Bodini potvrzuje ve své práci možnost predikce dlouhodobé remise dle hladin po indukční fázi. Ve 14. týdnu terapie byly hladiny u pacientů, kteří byli v remisi ve 48. týdnu a těch, kteří ve 48. týdnu ztratili odpověď, signifikantně rozdílné: medián hladin 1,3 µg/ml vs. 10,1 µg/ml. Také byla prokázána asociace mezi IFX a ATI ve 14. týdnu (Bodini et al., 2018).

### **Vztah mezi aktivitou nemoci a hladinami IFX a ATI**

Dle hladin IFX a ATI můžeme usuzovat i na aktivitu nemoci. Vliv subterapeutických hladin (pro účely jeho práce 3-8 µg/ml) na aktivitu nemoci definovanou hladinou CRP dokladují také Carlsen et al. V jeho práci mělo subterapeutickou hladinu 30,3% pacientů. Medián CRP ve skupině s hladinami IFX pod terapeutickou mez a s hladinou v terapeutickém rozmezí byl 8,4 mg/l a 1,4 mg/l. Avšak mezi oběma skupinami nebyl signifikantní rozdíl v Harwey-Bradshaw indexu aktivity onemocnění (Carlsen et al., 2018). Vliv dostatečných hladin IFX na endoskopickou aktivitu onemocnění dokladuje i práce, kde endoskopická aktivita negativně korelovala s hladinou IFX. Jako cut-off hodnotu pro slizniční hojení zde autoři uvádí 4 µg/ml (Imaeda et al., 2014). Signifikantní rozdíl hladin IFX u pacientů se zhojenou a nezhojenou sliznicí (definováno počtem velkých lézí sliznice) dokladuje práce udávající tyto hladiny: 2,7 µg/ml a 0,5

µg/ml. Vliv na zhojení sliznice zde neměly ATI a rozdíl hladin nebyl patrný ani u postižení tenkého střeva (Koga et al., 2018).

IFX a ATI hrají dle dostupných dat důležitou roli v udržení remise. Již v roce 2003 publikoval Baert studii, kde pacienti s hladinou ATI před infuzí IFX pod 8 µg/ml byli delší dobu v remisi než ti s hladinou ATI nad 8 µg/ml a to 71 vs. 35 dnů. Také uvedl, že konkomitantní terapie (AZA, 6-MP a MTX) predikovala vyšší hladiny IFX a nižší hladiny ATI 4 týdny po infuzi (Baert et al., 2003). Vliv dostatečných hladin IFX a nízkých hladin ATI na setrvalou remisi pacientů s IBD dokladují i Vande Casteele et al. ve studii s 483 pacienty. Jako prediktory remise (definované koncentrací CRP) uvádí hladiny IFX nad 2,79 µg/ml a hladiny ATI pod 3,15 U/ml. Přítomnost ATI zde byla asociována se zvýšenou aktivitou onemocnění i přes dostatečnou hladinu IFX. Autoři tedy došli k podobnému závěru jako dříve zmíněná práce (Niels Vande Casteele et al., 2015). Asociaci hladin IFX s klinickou remisí, biochemickou remisí a normalizací CPT potvrzuje průřezová studie, kdy hranice hladin pro uvedené modality byly 1,5; 3,4 a 5,7 µg/ml (Ward et al., 2018).

Snaha předpovědět ztrátu odpovědi na léčbu pomocí hladin IFX a ATI si klade za cíl identifikovat takto ohrožené pacienty s dostatečným předstihem. Metaanalýza z roku 2013, jejíž součástí bylo 1378 pacientů s IBD na terapii IFX poukazuje na vysoké relativní riziko (zde 3,2) ztráty odpovědi na léčbu a nízkých hladin IFX u pacientů s přítomností ATI ve srovnání s pacienty, u kterých ATI nebyly detekovány (Nanda et al., 2013). Hladiny IFX pod 2,6 µg/ml a ATI nad 4,9 µg/ml byli Kogou stanoveny jako cut-off pro zvýšenou pravděpodobnost ztráty odpovědi (Koga et al., 2018). Steenholdt uvádí cut-off hodnotu IFX a ATI u CD spojenou se ztrátou odpovědi pod 0,5 µg/ml a nad 10 U/ml (Casper Steenholdt, Bendtzen, Brynskov, Thomsen, & Ainsworth, 2011). Pokud byly měřeny hladiny IFX u pacientů se sekundární ztrátou odpovědi na IFX, ukázalo se, že zvýšení hladin v 8. týdnu oproti hladině před optimalizací terapie o více jak 0,5 µg/ml byl jediný faktor asociovaný se zhojením sliznice (Paul et al., 2013). Vnější faktor ovlivňující hladiny IFX a ATI je např. kouření. Hladiny IFX u kuřáků mohou být až 10x nižší než u nekuřáků (Cohen et al., 2014).

### **Finanční úspora**

Optimalizace terapie pomocí znalosti hladin IFX a ATI může pomoci ušetřit finanční prostředky a to bez ztráty benefitu pro pacienta. Náklady na léčbu pacientů s CD lze snížit, pokud se při sekundární ztrátě odpovědi na léčbu řídíme základním algoritmem s použitím

znalosti hladin IFX a ATI (viz. kapitola: Úprava terapie dle naměřených hodnot) oproti pouhému zkrácení intervalu a to bez negativního vlivu na klinický efekt. Nicméně se zdá, že toto rozhodování na základě hladin IFX má zásadní význam jen ve fázi optimalizace. V následné udržovací fázi se zdá být stejně efektivní jako úprava terapie dle klinického stavu (Casper Steenholdt et al., 2014). Tuto úsporu financí potvrzují i další práce (Velayos, Kahn, Sandborn, & Feagan, 2013).

Z výše uvedeného je patrné, že udávané hodnoty pro predikci odpovědi na léčbu a ztráty odpovědi se liší dle autora, ale jejich znalost je přinejmenším stejně důležitá jako znalost ostatních laboratorních a klinických ukazatelů stavu pacienta. Dolní cut-off hodnota je udávána od 0,5 $\mu$ g/ml do 3  $\mu$ g/ml, kdy většina autorů se kloní spíše k hodnotě 3  $\mu$ g/ml. Další informace ohledně doporučení k léčbě na základě hladin IFX a ATI viz. kapitola: Úprava terapie dle naměřených hodnot.

#### 2.4.5.3. Využití znalosti hladin a protilátek v modifikaci terapie v dětské populaci

Stejně tak jako u dospělých pacientů, i u dětí je snaha o objektivizaci významu hladin IFX a ATI a o stanovení cut-off hodnot. Nicméně dat o této problematice je o poznání méně než v dospělé populaci.

##### **Optimální hladiny IFX a doporučený interval jejich měření**

Rozpětí terapeutických hladin se příliš neliší od hodnot doporučovaných u dospělých pacientů. Hoekman a Hoeve uvádějí terapeutické rozmezí hladin IFX jako 3-7  $\mu$ g/ml. V této práci dále stanovili korelaci mezi hladinami IFX a CRP (Spearmanův koeficient -0,51) a hladinami IFX a CPT (Spearmanův koeficient -0,49), avšak neprokázali korelaci mezi hladinami IFX a klinickou aktivitou onemocnění definovanou jako PCDAI pod 10 bodů (Hoekman et al., 2015; Hoeve et al., 2018). Většina autorů udává dolní hranici terapeutického rozmezí hladin IFX 3-3,5 $\mu$ g/ml, některé práce také zdůrazňují nutnost normální hladiny albuminu k dosažení adekvátní hladiny IFX (Deora, Kozak, El-Kalla, Huynh, & El-Matary, 2017; Dubinsky, Phan, Singh, Rabizadeh, & Mould, 2017; Frymoyer, Piester, & Park, 2016; Lega, Bramuzzo, & Dubinsky, 2018). V práci

Rolandsdottera mělo 14 ze 45 pacientů (31%) hladiny IFX pod 1 µg/ml a 13 z těchto pacientů mělo známky aktivního onemocnění (CRP nad 5 mg/l, FW nad 10 mm/hod a PCDAU/PUCAI nad 10) (Rolandsdotter et al., 2017). V jiné práci byly kromě trough hladin měřeny i hladiny IFX v polovině 8týdenního intervalu. Ukázalo se, že více pacientů (88%) dosáhlo remise za 6 měsíců po intenzifikaci terapie, pokud se tato intenzifikace řídila hladinami odebranými v polovině intervalu místo běžně užívané úpravy pomocí trough hladin (53%)(Minar et al., 2016).

## **ATI**

Výskyt ATI zaznamenali např. Hofmekler et al. u 13,3% pacientů (Hofmekler et al., 2017). V jiné práci byly ATI měřeny v 6., 14., 22. a 54. týdnu terapie a tyto byly pozitivní celkem u 20,4% pacientů (Naviglio et al., 2018). Bylo popsáno, že až 25% pacientů s CD a 11% s UC se selháním léčby IFX mělo pozitivní ATI (Vahabnezhad, Rabizadeh, & Dubinsky, 2014). Jiný autor udává ve svém souboru pozitivitu ATI ve 35,3%. Infuzní reakce byly výrazně čtenější u pacientů s ATI než bez nich a to v 13,8% vs. 3,6%. Navíc pacienti s ATI nad 8 µg/ml měli relativní riziko infuzní reakce 3,9. Naopak pacienti léčení konkomitantními imunosupresivy (v 89,7% AZA nebo 6-MP), měli relativní riziko infuzní reakce 0,34. Průměrné hladiny ATI byly nižší u pacientů s konkomitantní terapií, než bez ní a to 9,7µg/ml vs 23 µg/ml. Ve stejné práci nemělo prodloužení intervalu podávání IFX (nad 12 týdnů) vliv na incidenci ATI (Miele, Markowitz, Mamula, & Baldassano, 2004). Zcela jasná cut-off hodnota pro ATI však zatím nebyla pro dětskou populaci stanovena (Joosse, Samsom, van der Woude, Escher, & van Gelder, 2015).

## **Vztah mezi ATI a hladinami IFX**

V pediatrické populaci je velmi málo dat popisujících vzájemný vliv ATI a IFX. Hofmekler et al. např. udávají ve své práci jako medián hladin IFX u pacientů s detekovatelnými ATI hodnotu 0 µg/ml a 11,8 µg/ml u pacientů bez detekovatelných ATI (Hofmekler et al., 2017). V jiné práci mělo hladinu IFX 5 µg/ml a méně 59% pacientů s ATI nad 5 U/ml zatímco jen 14% pacientů s ATI pod 5 U/ml (Zitomersky et al., 2015).

## **Predikce odpovědi na IFX**

Snahy o predikci odpovědi na IFX jsou jedním z důvodů sledování hladin IFX a ATI. Singh měřil CRP a hladiny IFX a ATI ve 14. a 54. týdnu terapie a hodnotil možnost predikce remise

v 54. týdnu (klinická remise bez nutnosti intenzifikace terapie). Pozitivní prediktivní cut-off hodnota hladin IFX ve 14. týdnu pro predikci remise v 54. týdnu byla pro hladiny nad 3 µg/ml, 4 µg/ml a 7 µg/ml 64%, 76% a 100% (N. Singh et al., 2014). V zahraniční studii se ukázalo, že 60% pacientů, kteří podstoupili resekci střev, měli hladinu ATI 12 U/ml a více, zatímco jen 8% pacientů s takto vysokými protilátkami ji nemuselo podstoupit. Zdá se tedy, že přítomnost ATI je prediktorem následného chirurgického zákroku (Zitomersky et al., 2015). Byl pozorován i signifikantní rozdíl mezi mediány hladin IFX u 39 pacientů, kteří byli v klinické remisi (PCDAI pod 10 a 1 rok bez symptomů) a těmi, kteří nedostatečně odpověděli na léčbu. Tento medián byl 3,99 µg/ml a 0,88 µg/ml. Navíc u 7 pacientů s nedostatečnou odpovědí byly přítomny ATI, zatímco ATI nebyly zjištěny u žádného pacienta v remisi. Ve skupině pacientů, kteří nedostatečně odpověděli na léčbu, byla terapie u 21 z nich intenzifikována a 80,9% pacientů na tuto intenzifikaci odpovědělo. Medián jejich hladin IFX po intenzifikaci byl 7,76 µg/ml. Čtyři pacienti, kteří na intenzifikaci neodpověděli, měli nedetekovatelné hladiny IFX a pozitivní ATI (Choi, Kang, Lee, & Choe, 2017). Retrospektivně bylo zkoumáno 146 pacientů s IBD a byly popsány vyšší hladiny IFX u pacientů v remisi (medián 3,7 µg/ml) oproti pacientům se ztrátou odpovědi nebo žádnou odpovědí na léčbu (1,2 µg/ml) (Merras-Salmio & Kolho, 2017). Zdá se, že je možné predikovat u hladin IFX nad 9,2 µg/ml ve 2. týdnu terapie klinickou remisi ve 14. týdnu (senzitivita 71,4%, specifická 81,2% a plocha pod křivkou (AUC) 0,73) (Ungar et al., 2018). Byla také stanovena cut-off hodnota hladin IFX ve 14. týdnu terapie pro nejlepší predikci klinické remise v 54. týdnu na 3,11 µg/ml (senzitivita 88,9%, specifická 80%, AUC 0,85) (Naviglio et al., 2018). Při měření hladin IFX a ATI v 10. týdnu, 6. měsíci a 12. měsíci terapie, 78% pacientů vytrvalo na terapii IFX do 12. měsíce, medián jejich hladin IFX byl oproti těm, kde léčba selhala 20,4 µg/ml vs. 8,7 µg/ml (Stein et al., 2016). Kang et al. ve své práci sledovali 63 pacientů s CD (počátek onemocnění v dětském věku, medián 14,9 roku), u kterých byl IFX vysazen pro min. 1 rok trvající klinickou remisi. Zrelabovalo celkem 60,3% pacientů a nejvýznamnější prediktor relapsu byla hladina IFX v době ukončení terapie 2,5 µg/ml a více (Kang, Choi, Choi, & Kim, 2018).

Z výše uvedeného je patrné, že hladiny IFX a ATI a jejich měření má svůj nezastupitelný význam i u dětských pacientů. Další informace k úpravě terapie s využitím znalosti hladin IFX a ATI viz. kapitoly: Doporučené a užívané cut-off hodnoty a Úprava terapie dle naměřených hodnot.

### **Vliv hladin IFX a ATI na aktivitu onemocnění**

Podobně jako u dospělých pacientů se zdá, že dle IFX a ATI lze usuzovat na aktivitu onemocnění. Hämäläinen et al. sledovali 37 pacientů s IBD v průběhu terapie. Medián naměřených hladin IFX během indukční a udržovací terapie byl 17,6 µg/ml a 3,55 µg/ml. Hladiny se příliš nelišily mezi UC a CD (3,2 vs. 2,8 µg/ml). U všech vzorků s nedetekovatelnými hladinami (6,8%) byly přítomny ATI. Během indukční terapie byl medián hladin IFX u pacientů s vysokou aktivitou nemoci (CPT nad 1000 µg/g) 4 µg/ml a nízkou aktivitou nemoci (CPT pod 1000 µg/g) 20 µg/ml (Hämäläinen, Sipponen, & Kolho, 2013). Také byly detekovány vyšší hladiny u dětských IBD pacientů v remisi (medián 4 µg/ml) než u pacientů s aktivním onemocněním (2,25 µg/ml) (Ungar et al., 2018). V jiné studii měli pacienti v klinické remisi (PCDAI/PUCAI pod 10) vyšší hladiny IFX (medián 5,4 µg/ml) než pacienti, kteří v klinické remisi nebyli (4,2 µg/ml). Také pacienti v laboratorní remisi (CRP pod 5 a FW pod 20mm/hod) měli vyšší hladiny IFX 5,2 µg/ml versus 4,2 µg/ml u pacientů bez laboratorní remise. Stejně tomu bylo u pacientů v laboratorní a zároveň klinické remisi. A konečně pacienti s endoskopickou remisí (nepřítomnost vředů) měli oproti těm bez endoskopické remise medián hladin 6,5 µg/ml vs. 3,2 µg/ml (Hoeve et al., 2018). Rolandsdotter et al. měřili hladiny u 45 pacientů s IBD a v jejich souboru měli pacienti v remisi (nízké CRP, FW a nízké PCDAI/PUCAI skóre) signifikantně vyšší hladiny než ti v aktivní fázi nemoci, medián hladin byl 7,2 µg/ml a 4,5 µg/ml, (Rolandsdotter et al., 2017). Bylo publikováno, že hladina IFX pod 3 µg/ml je asociována s relapsem a hladina nad 7 µg/ml s remisí (Burgess, Reilly, Steward-Harrison, Balouch, & Lewindon, 2018).

Kromě výše uvedeného vlivu hladin IFX na aktivitu onemocnění se zdá, že i aktivita nemoci ovlivňuje hladinu IFX. V práci s 55 pacienty s CD měli ti s penetrujícím nebo strikturujícím onemocněním nižší hladiny než ti s „jen“ lumenální formou CD, medián 3,6 µg/ml vs. 5,2 µg/ml (Minar et al., 2016).

### **Změna terapie na základě hladin IFX**

V recentní práci byly měřeny hladiny IFX u 73 pacientů s IBD (ve 22,4% pro přítomnost příznaků naznačující možnou aktivitu nemoci a v 77,6% jako rutinní vyšetření). V 61,7% případů byla poté změněna terapie ať už zkrácením intervalu nebo zvýšením dávky IFX. Na základě této změny došlo během dalšího sledování (medián 3,7 měsíce) k zlepšení biochemických parametrů (FW, CRP a albumin) a poklesu PCDAI. (Deora et al., 2017).



### 3. METODY

Tato práce byla koncipována jako prospektivní observační studie a byla prováděná u pacientů během terapie IFX a provedena podle metodologie STROBE (STROBE Statement — checklist of items that should be included in reports of observational studies, n.d.). Cíle práce (podrobněji uvedeny v kapitole: Cíle práce) byly:

1. Zhodnotit vztah sérových hladin IFX a ATI a aktivity onemocnění během udržovací fáze terapie CD,
2. identifikovat prediktivní faktory sérových hladin IFX,
3. stanovit sérovou hladinu IFX, která by byla s nejlepší senzitivitou a specificitou spojena s remisí onemocnění a
4. objasnit vzájemnou asociaci sérových hladin IFX a ATI u dětských pacientů s CD (Ohem et al., 2017).

Zde pro doplnění uvádíme, že jako potenciální ovlivňující faktory jsme zvažovali tělesnou hmotnost, hladinu sérového hemoglobinu, sérového albuminu, počet krevních destiček, index aktivity CD u dětí (PCDAI), extraintestinální manifestace onemocnění a nežádoucí reakce na léčbu.

### 3.1. Soubor pacientů

Do studie byli zavzati pacienti, kteří byli léčeni IFX v Centru biologické terapie při oddělení dětské gastroenterologie Pediatrické kliniky 2. LF UK a FN Motol v letech 2012 až 2014. U celkem 65 pacientů byla při každé návštěvě centra biologické terapie (v intervalu 4-8 týdnů) odebrána krev, vzorek stolice a klinická data a to předtím, než byla pacientům podána terapeutická dávka IFX. Studie se účastnili pacienti pod 18 let věku (v době vstupu do studie). U všech pacientů účastnících se studie byla dříve diagnostikována CD na základě Portsčých kritérií a/nebo přepracovaných Portsčých kritérií (Levine et al., 2014). Pacienti byli léčeni IFX ve standardním udržovacím režimu nebo u nich byla terapie dříve intenzifikována (zkrácením intervalu nebo navýšením dávky) na základě posouzení klinického stavu. Studie se neúčastnili pacienti na terapii ADA nebo během indukční terapie IFX. Základní charakteristiky souboru pacientů jsou uvedeny v tabulce 11.

**Tab. 11. Základní charakteristiky souboru pacientů**

Počet pacientů	65
Mužské pohlaví, počet. (%)	37 (57)
Věk v době diagnózy, roky, medián (IQR)	12,6 (10,5-15,1)
Lokalizace, počet, (%)	
L1	10 (15)
L2	16 (25)
L3	38 (58)
Postižení horního GIT	28 (43)
Chování choroby, počet, (%)	
B1	35 (54)
B2	22 (0,34)
B3	7 (11)
Perianální choroba, počet, (%)	13 (20)
IFX před zahájením studie, měsíce, medián (IQR)	16 (6-30)
Měsíce od stanovení diagnózy do zahájení IFX, medián (IQR)	9,4 (2,7-22,7)
Věk při prvním podání IFX, věk, medián (IQR)	14 (11,4-16,4)
Potřeba změny na jiný anti TNF preparát, počet, (%)	3 (5)
Potřeba IC resekce, počet, (%)	8 (12)
Počet aplikací na pacienta, medián (IQR)	9 (5-13)

Legenda k tabulce 11: IC ileocékální, IFX- infliximab, IQR- interkvartilové rozpětí, GIT- gastrointestinální trakt, Chování choroby: B1-nestrikurující, nepenetrující; B2-strikurující; B3-penetrující, Lokalizace postižení: L1-distální ileum a/nebo přilehlé cékum, L2-kolon, L3-ileokolon. TNF-tumor necrosis factor

### **3.2. Sběr klinických dat**

U každého pacienta byla během návštěvy centra biologické terapie zaznamenána klinická data zahrnující tělesnou hmotnost a výšku dle percentilových růstových grafů pro příslušné pohlaví, dále informace o bolestech břicha, počtu a charakteru stolic, denní aktivitě a únavě, extraintestinálních projevech a perianálním postižení (vyjádřeno jako PCDAI skóre). Součástí záznamu při každé návštěvě byla také informace o intervalu podávání IFX, potřebě intenzifikace či chirurgického výkonu, nežádoucích účincích léčby včetně data výskytu, ukončení či pokračování terapie, datu první aplikace IFX, datu aktuální dávky včetně množství IFX v mg, věku v době záznamu, délce celkového sledování od prvního podání IFX, pořadí návštěvy biologického centra a datu a dávce konkomitantní terapie (AZA, kortikosteroidy, MTX). Tato data byla uložena do nemocničního informačního systému a později extrahována do zvláštního souboru vytvořeného pro potřeby studie.

### **3.3. Laboratorní metody**

#### **3.3.1. Stanovení fekálního kalprotektinu (CPT)**

Od každého pacienta byl při návštěvě získán vzorek stolice. Stolica byla zpravidla odebrána v domácím prostředí den před návštěvou centra anebo ráno v daný den. Odběr prováděl pacient či jeho rodiče do předem předaných zkumavek. Tento vzorek, který mohl být krátkodobě skladován v domácích podmínkách v chladničce, poté přinesl pacient s sebou. Vzorky byly řádně označeny, uloženy do mrazicího boxu a skladovány při teplotě -20°C až do jejich analýzy. Ta probíhala na oddělení dětské gastroenterologie Pediatrické kliniky 2. LF UK a FN Motol. Byla použita bedside metoda na základě principu lateral flow: Bühlmann Quantum Blue fCAL High Range (Bühlmann, Postfach 110325, 28083 Brémy, Německo). Detekční rozpětí metody bylo 100-1800 µg/g a detekční limit byl 100 µg/g. Vyšetření bylo provedeno dle manuálu výrobce. Čtyři jednotlivé vzorky byly pro dočasnou nedostupnost bedside metody

změřeny běžnou laboratorní metodikou v laboratoři Synlab (Synlab Czech s.r.o. Sokolovská 100/94, Karlín, 186 00, Praha 8). Výsledky měření byly zaznamenány do souboru vytvořeného pro potřeby této práce.

### 3.3.2. Stanovení hladin IFX a ATI v séru

Celkem bylo odebráno 539 vzorků krve k určení hladin IFX a ATI. Všechny vzorky byly odebrány ráno před infuzí IFX (trough level, dle pokynů výrobce) a poté neprodleně centrifugovány, řádně označeny, stočeny do plastových zkumavek, uloženy do mrazáku a zamrazeny na teplotu -20°C, při které byly skladovány až do analytické fáze. Analýza vzorků byla poté provedena podle manuálu výrobce na Ústavu lékařské chemie a klinické biochemie 2. LF UK a FN Motol. Hodnoty IFX a ATI byly stanoveny pomocí sendvičové ELISA metody. Byly použity ELISA kity Q-ATI a Q-Inflix (Matriks Biotek, Gazi Üniversitesi Gölbaşı Yerleşkesi Tekonoplaza Binası B Blok Zemin Kat BZ17 06830, Ankara, Turecko). Spodní detekční limit uvedených kitů byl 30 ng/ml. Uvedené kity dokáží detekovat hladiny IFX a ATI s recovery rate (procento správně určených hodnot u vzorků předem známých hladin) 98 a 97%. Hladiny IFX byly detekovány pomocí reaktantu navázaného v ELISA kitu. Na zachycený IFX byla poté navázána protilátka s enzymem. Měření barevné reakce bylo prováděno při vlnové délce 450 nm. Hladiny ATI byly detekovány pomocí vázaného IFX a následným přidáním specifické protilátky s navázaným enzymem. Barevná reakce byla odečtena pomocí spektrofotometru rovněž při použití vlnové délky 450 nm. Výsledky měření byly zaznamenány do souboru vytvořeného pro potřeby této práce.

### 3.3.3. Stanovení ostatních analytů

Ostatní stanovované hodnoty zahrnovaly krevní obraz (hodnota hemoglobinu, hematokrit a počet krevních destiček), sedimentaci erytrocytů, CRP, sérový albumin a celkovou bílkovinu. Krevní vzorky byly odebrány v centru biologické terapie ve stejnou dobu jako vzorky pro měření hladin IFX a ATI a to v ranních hodinách před infuzí IFX. Odběr, označení zkumavek, odeslání a zpracování vzorků probíhal podle standardních postupů laboratorního komplementu 2. LF UK a

FN Motol. Výsledky byly automaticky zaznamenány do nemocničního informačního systému 2. LF UK a FN Motol a poté extrahovány do souboru vytvořeného pro potřeby této práce.

### **3.4. Statistické metody**

Všechna data byla analyzována pomocí R software (250 Northern Ave, Boston, MA 02210, verze 3.2.3, "R Core Team: R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2013.," n.d.). Proměnné hodnoty jsou uvedeny jako medián s interkvartilovým rozptylem (IQR). Kategorické hodnoty jsou uvedeny jako frekvence výskytu a procenta. Pro testování hypotéz s kategorickými daty bylo použito odds ratio (OR) s 95% konfidenčním intervalem (CI). K testování rozdílu v distribuci mezi kvartily hladin IFX byl použit Kruskal-Wallisův test. Pro definování optimálních cut-off hodnot zánětlivých parametrů byla použita ROC křivka. Pro opakovaně měřená data byl použit výpočet crossvalidated ROC (Robin et al., 2011). Dále byl použit lineární mixed model k určení vztahu mezi remisí (definovanou zánětlivými parametry) a prediktory (kategorické proměnné: hladina IFX dle ROC, ATI jako číselná proměnná, sérový albumin, pohlaví, věk, dávka IFX a dávka AZA). Prediktory byly zvoleny podle klinické relevance. (Bates, Mächler, Bolker, & Walker, 2015; LeDell, Petersen, & van der Laan, 2015). Jako statisticky signifikantní byly považovány p hodnoty pod 0,05. Pro všechny testy byly uvedeny dvoustranné p hodnoty. U některých pacientů chyběla data o hodnotě CPT, proto byla v tomto případě použita metoda mnohočetného doplnění (imputation) s analýzou senzitivity (Kuznetsova, Brockhoff, & Christensen, 2017; van Buuren & Groothuis-Oudshoorn, 2011).

### **3.5. Informovaný souhlas a schválení etické komise**

Všichni pacienti a jejich zákonní zástupci byli předem informováni o průběhu a přínosu studie. Zařazení do studie bylo dobrovolné a pro pacienty znamenala účast pouze krevní odběr navíc (hladiny IFX a ATI) oproti běžné návštěvě centra biologické terapie. Rodiče pacientů podepsali informovaný souhlas se studií, který je jako součást této práce uveden v příloze (Příloha č. 1). Studie byla schválena etickou komisí Fakultní nemocnice v Motole.

Tato práce byla podpořena výzkumnými granty VZ FNM 64203/6001, GAUK (Grantová agentura univerzity Karlovy) 136215 a GAUK 246216. Žádný z autorů nemá střet zájmů v souvislosti s touto prací.

## 4. VÝSLEDKY

V této kapitole se zaměříme na výsledky původní autorovy práce na téma „Optimalizace biologické terapie nespecifických střevních zánětů (IBD) u dětí s použitím moderních biomarkerů“, prováděné na oddělení dětské gastroenterologie Pediatrické kliniky 2. LF UK a FN Motol u pacientů s CD na udržovací terapii IFX (Ohem et al., 2017). Základní charakteristiky všech IFX aplikací a první IFX aplikace jsou uvedeny v tabulce 12.

**Tab. 12. Základní charakteristiky všech aplikací IFX a první aplikace IFX**

Charakteristika	Všechny aplikace IFX	První aplikace IFX
Počet aplikací	539	65
PCDAI, medián, (IQR)	10 (5-15)	10 (5-15,6)
FW, mm/h, medián, (IQR)	15 (7-25)	15 (8-22)
CRP, mg/l, medián, (IQR)	1,1 (0,5-3,7)	1 (0,5-5)
Sérový hemoglobin, g/dl, medián, (IQR)	13,4 (12,7-14,1)	13,4 (12,6-14)
Fekální kalprotektin, µg/g, medián, (IQR)	754 (157-1800)	580 (235,8-1800)
Krevní destičky, 10exp9/l, medián, (IQR)	291 (253-343)	293,5 (248,8-348,5)
Sérový albumin, g/l, medián, (IQR)	43,9 (42,2-45,6)	43,9 (42-45,9)
Hladina IFX, µg/ml, medián, (IQR)	2,1 (0,8-3,9)	1,4 (0,5-3,8)
Hladina ATI, µg/ml, medián, (IQR)	0 (0-0)	0 (0-0)
Dávka IFX, mg/kg/8týdnů, mg, medián, (IQR)	6,5 (5,2-8,3)	5,7 (5-6,8)
AZA, n, (%)	408 (76)	51 (0,78)
ASA, n, (%)	26 (5)	5 (0,1)
Týdny mezi dávkami, medián, (IQR)	8 (6-8)	-
Intenzifikace zvýšením dávky, n, (%)	28 (5)	-
Intenzifikace prodloužením intervalu, n, (%)	19 (4)	-
Věk v době diagnózy, roky, medián, (IQR)	15,3 (13,4-17,2)	15,2 (12,7-17,1)

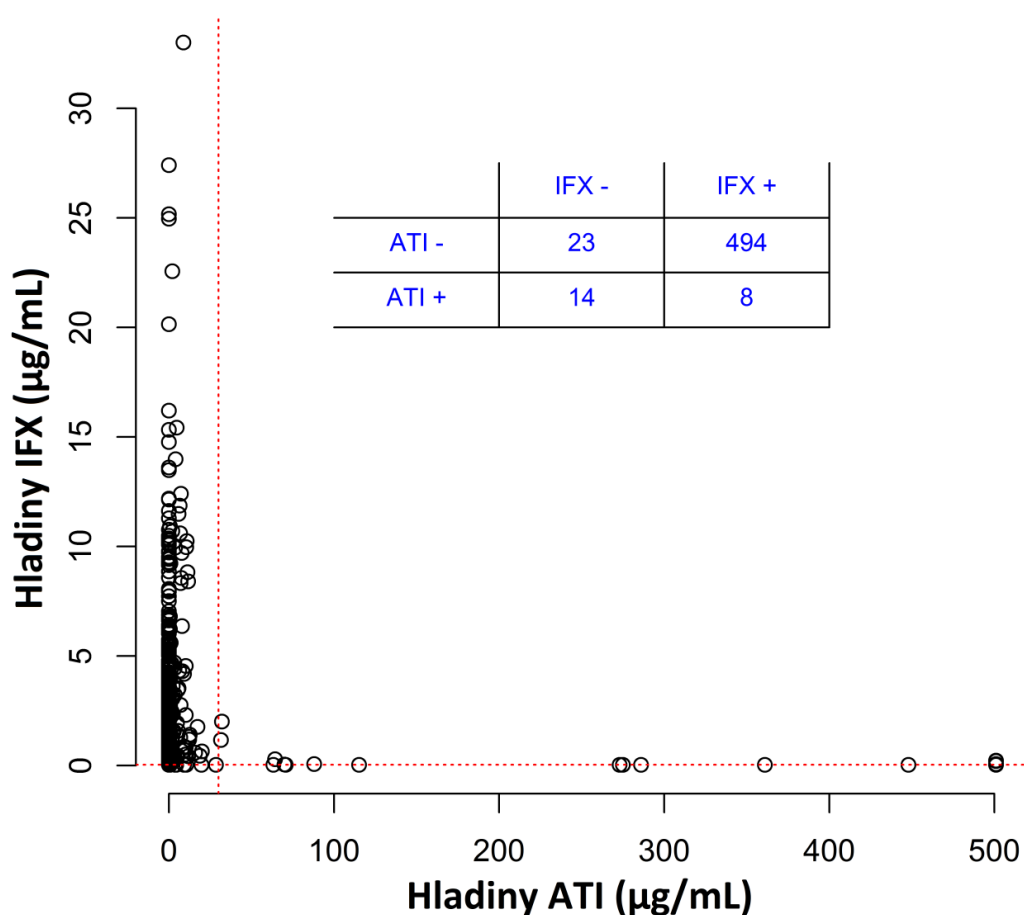
Legenda: ASA- aminosalicyláty, ATI- antibodies to infliximab/ protilátky proti infliximabu, AZA- azathioprin, CRP- c-reaktivní protein, FW-Fahraeus Westergren/sedimentace erytrocytů, IFX- infliximab, IQR- interkvartilové rozpětí, PCDAI-pediatric crohn's disease activity index



#### 4.1. Vztah mezi sérovými hladinami IFX a ATI

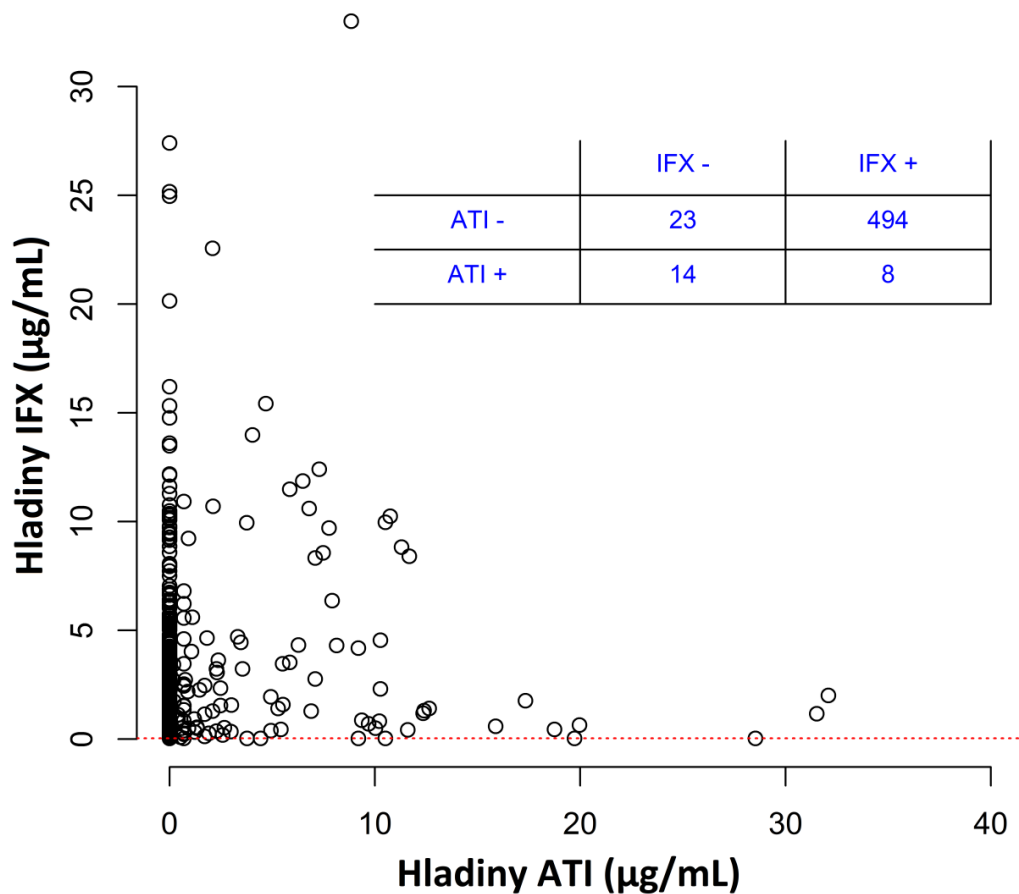
Vztah mezi hladinami IFX a hladinami ATI všech odebraných vzorků je uveden v grafech 1 a 2. Tento vztah s užitím detekčních limitů použitých kitů (pro IFX a ATI 30 ng/ml) je uveden v čtyřpolní tabulce, která je součástí grafu 1. Statisticky významná asociace byla pozorována mezi pozitivními ATI (nad 30ng/ml) a nedetekovatelnými trough hladinami IFX (pod 30 ng/ml), OR 0,027; 95% CI 0,009-0,077.

**Graf 1. Vztah mezi hladinami IFX a hladinami ATI. Přiložená tabulka uvádí počet měření s pozitivními a nedetekovatelnými hladinami IFX a ATI (cut-off v obou případech 30 ng/ml)**



Legenda: ATI- antibodies to infliximab/ protilátky proti infliximabu, IFX-infliximab

Graf 2. Vztah mezi hladinami IFX a hladinami ATI. Zde narozdíl od předchozího grafu, je ve větším detailu zobrazeno rozložení hodnot u hladin ATI do 40 µg/ml

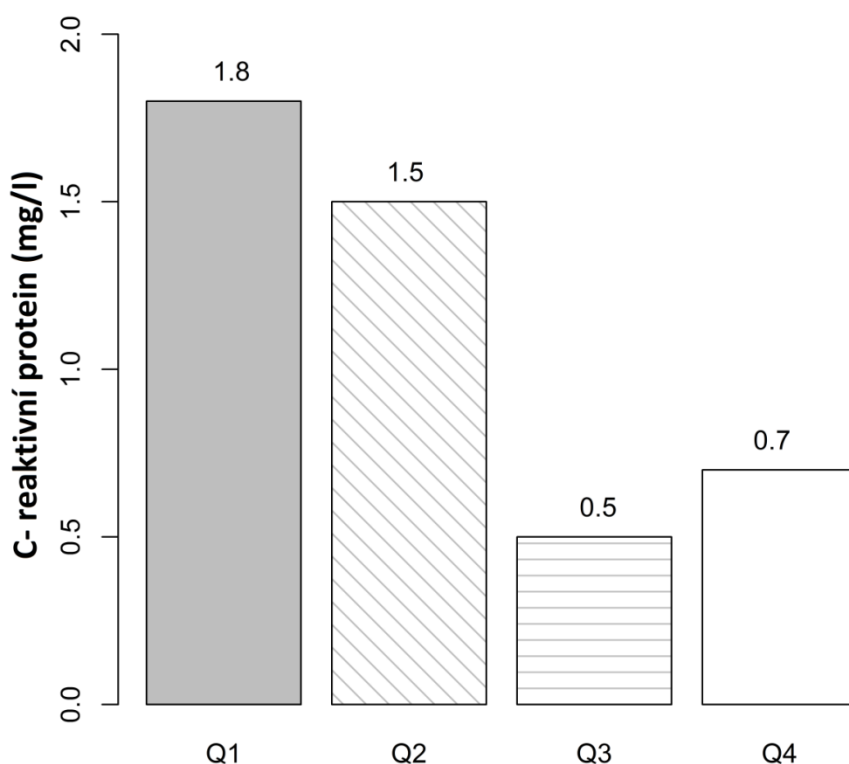


Legenda: ATI- antibodies to infliximab/ protilátky proti infliximabu, IFX-infliximab

## 4.2. Vztah mezi sérovými hladinami IFX a laboratorními markery

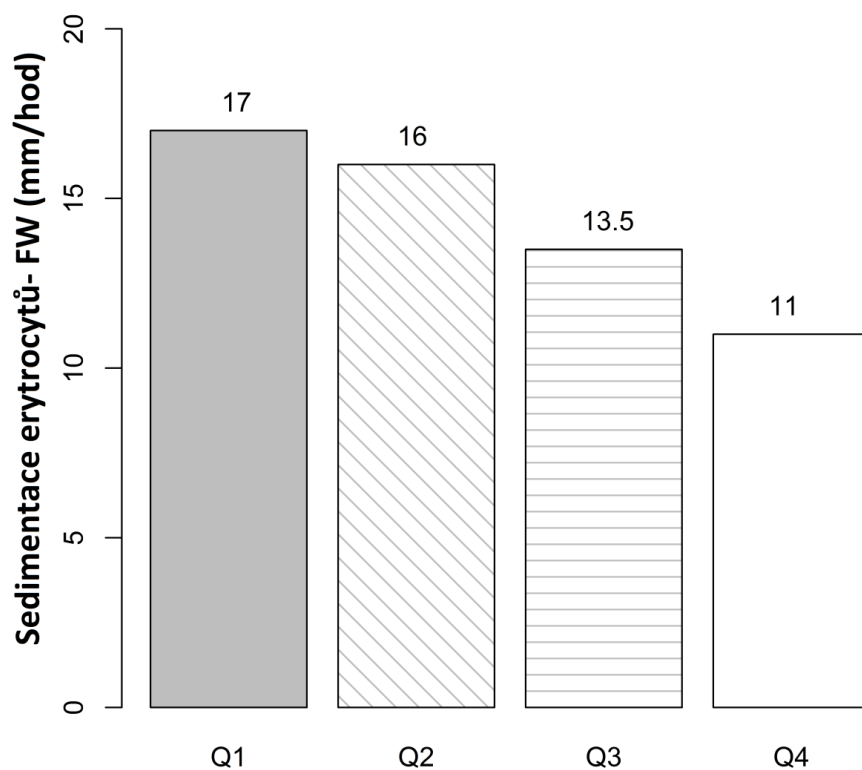
Tento vztah je vyjádřen pomocí kvartilové analýzy. Kvartilová analýza trough IFX hladin ukazuje, že CRP, FW a fekální kalprotektin jsou zvýšené ve spodních kvartilech. Kvartilová analýza je uvedena v grafech 3, 4 a 5. Kvartilová analýza pro ATI není zobrazena, protože kvartily 0,25; 0,5 a 0,75 mají všechny hodnotu 0.

**Graf. 3. Kvartilová analýza mediánů zánětlivých parametrů: C-reaktivní protein**



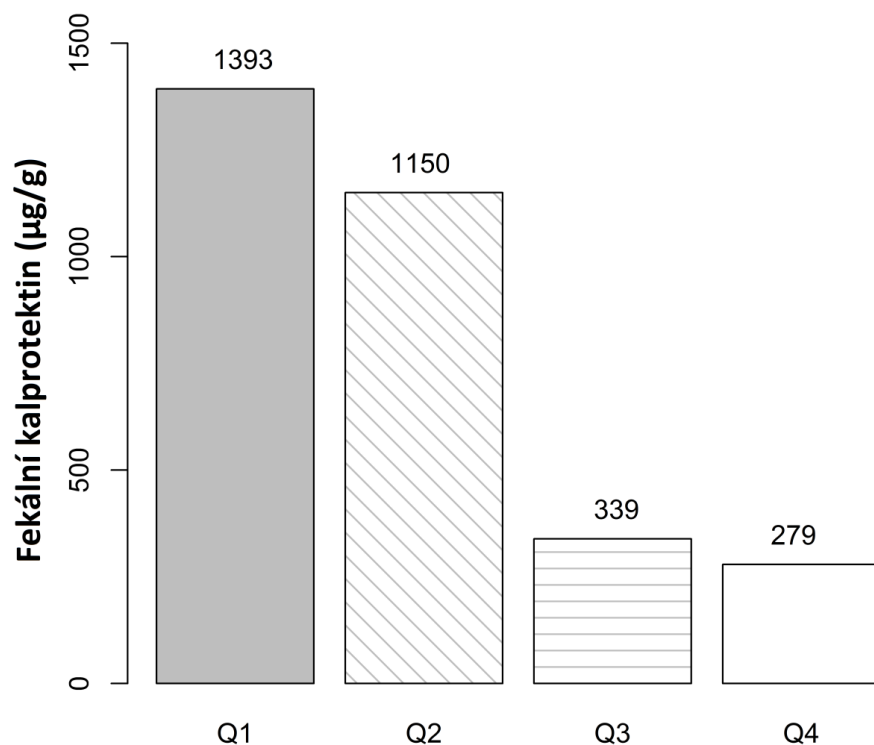
Legenda: Rozděleno do 4 kvartilů podle hladin IFX (Q1-Q2). P hodnoty získané Kruskal-Wallis testem pro CRP, byly 0,001. Hladiny IFX (v  $\mu\text{g/ml}$ ) byly pro jednotlivé kvartily následující: Q1  $<0.8$ ;  $0.8 \geq \text{Q2} < 2$ ;  $2 \geq \text{Q3} < 3.8$ ; a Q4  $\geq 3.8 \mu\text{g/ml}$ . Q1-4, jednotlivé kvartily, CRP- C- reaktivní protein, IFX- infliximab

Graf. 4. Kvartilová analýza mediánů zánětlivých parametrů: sedimentace



Legenda: Rozděleno do 4 kvartilů podle hladin IFX (Q1-Q2). P hodnoty získané Kruskal-Wallis testem pro FW byly 0,0016. Hladiny IFX (v  $\mu\text{g/ml}$ ) byly pro jednotlivé kvartily následující: Q1  $<0.8$ ;  $0.8 \geq \text{Q2} < 2$ ;  $2 \geq \text{Q3} < 3.8$ ; a Q4  $\geq 3.8 \mu\text{g/ml}$ . Q1-4, jednotlivé kvartily FW- Erythrocyte sedimentation rate/ sedimentace erytrocytů, IFX- infliximab

Graf 5. Kvartilová analýza mediánů zánětlivých parametrů: fekální kalprotektin



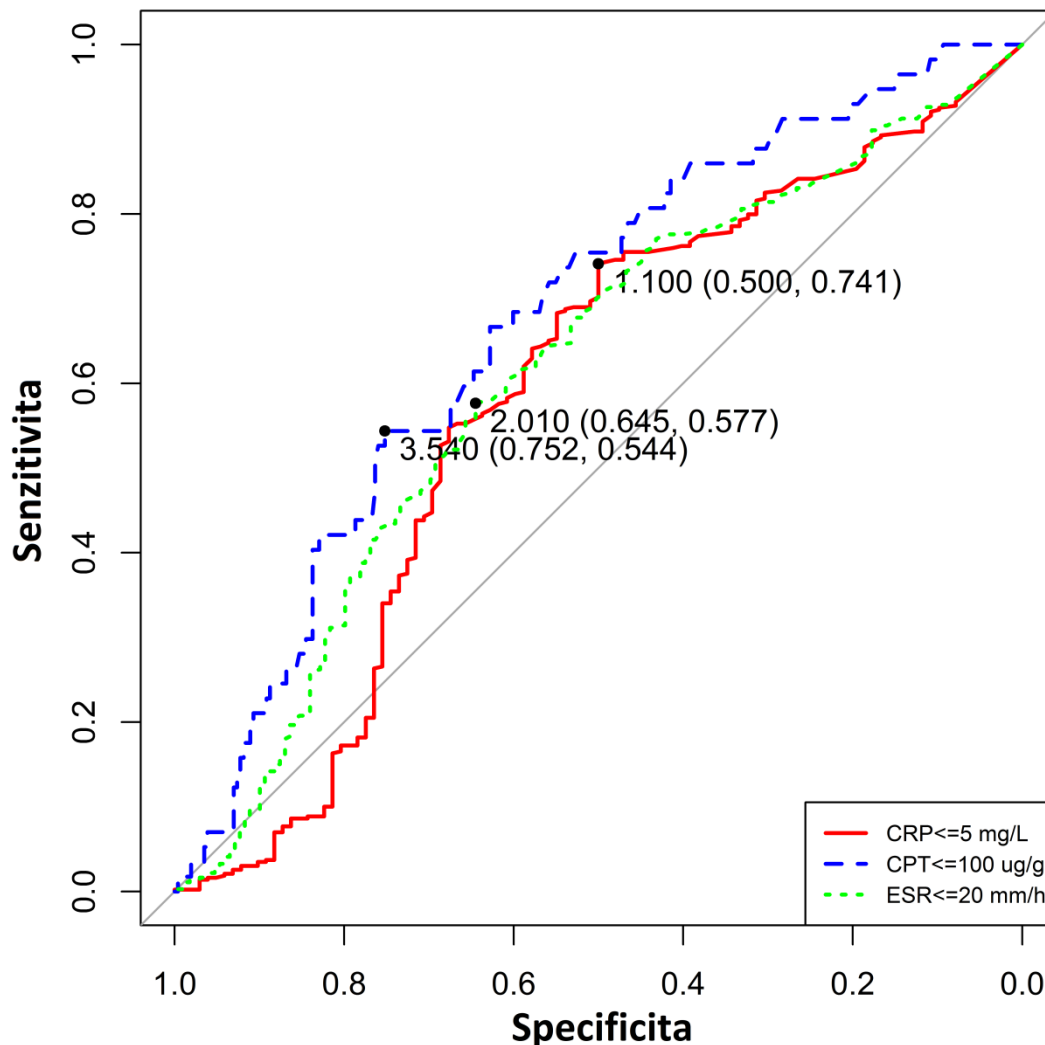
Legenda: Rozděleno do 4 kvartilů podle hladin IFX (Q1-Q2). P hodnoty získané Kruskal-Wallis testem pro fekální kalprotektin byly 0,0013. Hladiny IFX (v µg/ml) byly pro jednotlivé kvartily následující: Q1 <0.8; 0.8 ≥ Q2 <2; 2 ≥ Q3 <3.8; a Q4 ≥ 3.8µg/ml. Q1-4, jednotlivé kvartily, IFX- infliximab

### 4.3. Definování optimální cut-off hladiny IFX pro zánětlivé parametry

Dalším z cílů této práce bylo definovat optimální cut-off hodnoty hladiny IFX pro jednotlivé zánětlivé parametry pomocí ROC/AUC.

Pro určení optimálních cut-off hodnot pro hladinu IFX jsme použili ROC křivku CRP, FW a fekálního kalprotektinu. Při použití CRP pod 5 mg/l jako markeru laboratorní remise byla nejlepší kombinace senzitivity (74%) a specificity (50%) vypočítána pro hladinu IFX 1,1 µg/ml. Pro ostatní markery (FW a fekální kalprotektin) byla senzitivita a specificita nižší. Fekální kalprotektin se nepodařilo odebrat od všech pacientů při každé návštěvě. Vzhledem k tomu, že se jedná o důležitý marker aktivity onemocnění, rozhodli jsme se chybějící hodnoty doplnit pomocí metody mnohočetného dosazení (multiple imputation s analýzou senzitivity). Analýza senzitivity byla použita i přesto, že chybění hodnot fekálního kalprotektinu je možné považovat za náhodný jev. ROC křivky a AUC jsou uvedeny v grafu 6.

**Graf 6. ROC křivky CRP, FW a fekálního kalprotektinu pro hladinu IFX a AUC pro jednotlivé markery**

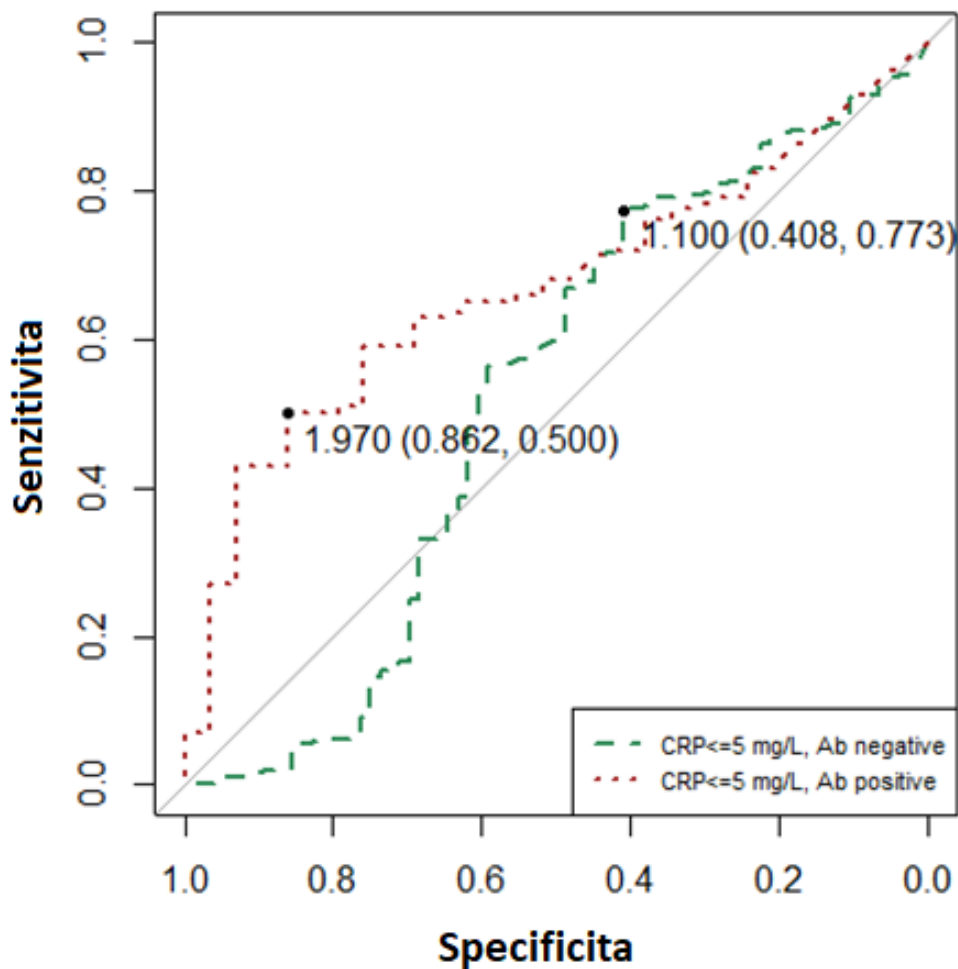


Legenda: Na ose X je uvedena specifická a na ose Y senzitivita. AUC pro CRP byla 0,58 (95% CI 0,46-0,71); optimální cut-off hodnota pro IFX byla 1,1  $\mu\text{g/ml}$ . AUC pro FW byla 0,61 (95% CI 0,51-0,71); optimální cut-off hodnota pro IFX byla 2  $\mu\text{g/ml}$  (specifická 65% a senzitivita 58%). AUC pro fekální kalprotektin byla 0,67 (95% CI 0,5-0,80); optimální cut-off hodnota pro IFX byla 3,5  $\mu\text{g/ml}$  (specifická 75% a senzitivita 54%). ESR- erythrocyte sedimentation rate, sedimentace erytrocytů (FW), CPT- fekální kalprotektin (CPT), CRP- C-reaktivní protein, ROC- receiver operating characteristic, AUC- area under the curve, IFX- infliximab.

Dále jsme ROC křivku pro CRP pod 5mg/l konstruovali pro optimální cut-off hodnotu hladiny IFX v případě pozitivních ATI (nad 30 ng/ml) a negativních ATI (pod 30 ng/ml). Při pozitivitě ATI, ROC pro CRP ukázala senzitivitu 25% a specificku 100% při hladině IFX 0.2  $\mu\text{g/ml}$ .

Pokud jsme uvažovali pozitivitu ATI jako jakoukoliv detekovatelnou hodnotu vyšší než 0, ROC pro CRP ukázala senzitivitu 50% a specificku 86% při hladině IFX 1,97 µg/ml (uvedeno v grafu7).

**Graf 7. ROC křivka CRP pro hladinu IFX při pozitivě a negativě ATI**



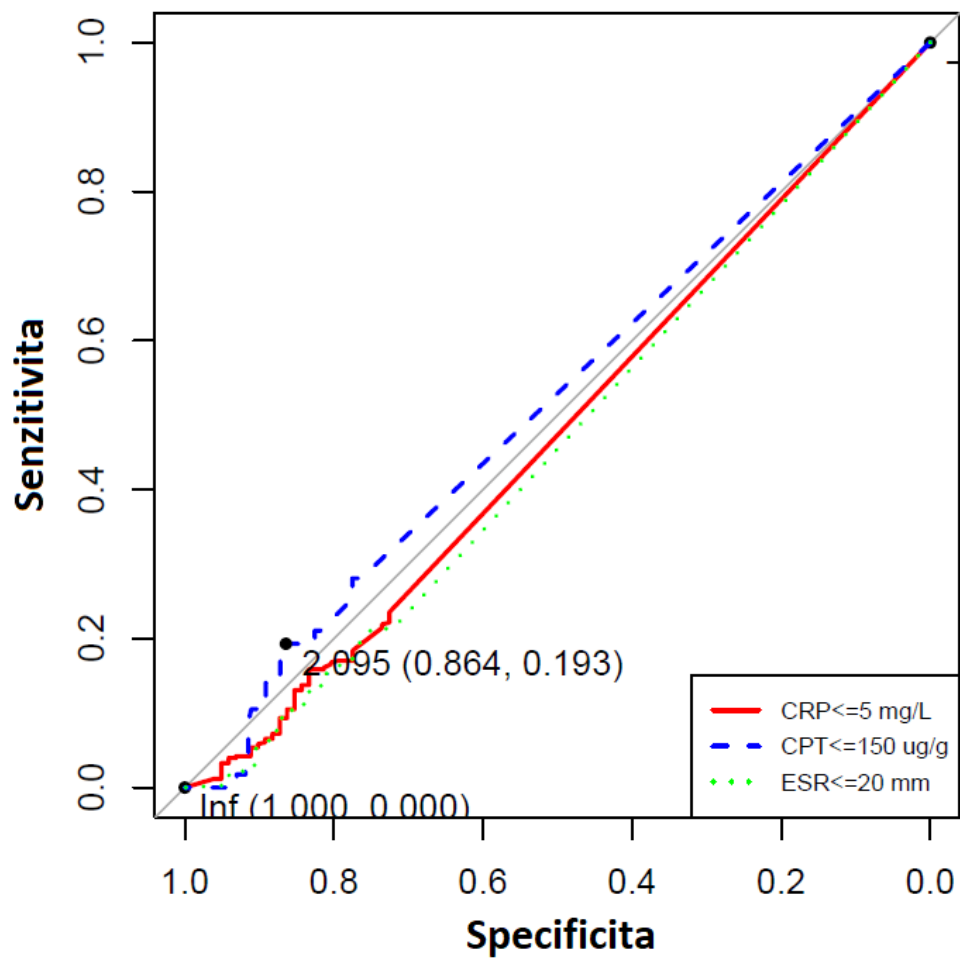
Legenda: Ab- antibody/protilátka, CRP- C-reaktivní protein, ROC- receiver operating characteristic, AUC- area under the curve, ATI-antibodies to infliximab/protilátky proti IFX

Stejnou metodu jsme použili i ke stanovení optimální cut-off hodnoty pro hladinu ATI. Protože AUC pro CRP (0,48, 95% konfidenční interval 0,29-0,66) a pro FW (0,46, 95% konfidenční interval 0,29-0,64) byla pod 0,5, nebylo možné stanovit pro CRP ani FW optimální cut-off hodnotu pro ATI. AUC pro CPT byla 0,53 (95% konfidenční interval 0,33-0,73) a optimální



cut-off hodnota byla 2,09 (specifická 86% a senzitivita 19%), pokud jsme stanovili CPT pod 150  $\mu\text{g/g}$  jako marker remise (graf 8).

**Graf 8. ROC křivky CRP, FW a CPT pro hladinu ATI. Na ose X je uvedena specifická a na ose Y senzitivita**



Legenda: CPT-fekální kalprotektin, CRP- C-reaktivní protein, ESR- erythrocyte sedimentation rate, sedimentace erythrocytů (FW), ROC- receiver operating characteristic, AUC- area under the curve, ATI- antibodies to infliximab/protilátky proti IFX, IFX- infliximab

#### 4.4. Prediktory laboratorní remise

V následujících kapitolách se zaměříme na prediktory laboratorní remise a hladin IFX u dětí s CD. Jako ukazatele laboratorní remise byly v této práci použity CRP, FW a hladina CPT.

##### 4.4.1. Remise definovaná pomocí C-reaktivního proteinu (CRP)

Pokud jsme použili hodnoty cut-off hladin IFX z ROC křivky pro CRP v modelu mnohočetné regrese, zjistili jsme signifikantní nezávislou asociaci mezi IFX hladinami (nad cut-off 1,1 µg/ml) a remisí definovanou CRP 5mg/l a méně. Data jsou názorně uvedena v tabulce 13.

**Tab. 13. Zvažované prediktory remise definované jako CRP pod 5 mg/l (mnohočetná regresní analýza)**

	OR	95% konfidenční interval	p hodnota
Hladina IFX nad 1,1 µg/ml	3,096	1,394-6,874	0,005
Hladiny ATI, µg/ml	0,998	0,992-1,004	0,402
Sérový albumin, g/l	1,364	1,169-1,593	pod 0,001
Mužské pohlaví	1,237	0,365-4,194	0,733
Trvání IFX terapie, týdny	1,003	0,996-1,011	0,444
Věk v době aplikace IFX, roky	0,843	0,674-1,054	0,136
Dávka IFX, mg/kg/8týdnů	0,909	0,804-1,029	0,129
Dávka AZA, mg/kg	0,434	0,19-0,992	0,048

Legenda: ATI- antibodies to infliximab/protilátky proti infliximabu,  
AZA- azathioprin, IFX- infliximab

Ačkoli je CRP nespecifický marker, můžeme ho dle těchto výsledků, v kombinaci s hladinou IFX nad 1,1 µg/ml použít k hodnocení remise onemocnění. Dále byla nalezena nezávislá asociace mezi remisí a hladinou sérového albuminu a hraniční asociace mezi remisí a dávkou AZA. Při použití stejného modelu pro hladiny ATI, nebyla nalezena asociace mezi remisí a ATI (při jejich použití jako kategorické i jako kontinuální proměnné).

#### 4.4.2. Remise definovaná pomocí sedimentace erytrocytů (FW)

Při použití obdobného modelu, tedy ROC křivky pro FW byla hladina IFX nad 2,01 µg/ml asociovaná s remisí definovanou jako FW pod 20mm/hod (specifická 64% a senzitivita 57%, uvedeno v grafu 6). Ostatními prediktory asociovanými s remisí byl sérový albumin, mužské pohlaví a věk v době odběru. U ATI ani AZA nebyla prokázána asociace s remisí. Data jsou uvedena v tabulce 14.

**Tab. 14. Zvažované prediktory remise definované jako FW pod 20 mm/hod (mnohočetná regresní analýza)**

	OR	95% konfidenční interval	p hodnota
Hladina IFX nad 2 µg/ml	2,872	1,273-6,477	0,011
Hladiny ATI, µg/ml	1	0,994-1,005	0,873
Sérový albumin, g/l	1,56	1,3-1,872	pod 0,001
Mužské pohlaví	13,615	2,279-81,342	0,004
Trvání IFX terapie, týdny	0,996	0,987-1,006	0,495
Věk v době aplikace IFX, roky	1,403	1,016-1,939	0,04
Dávka IFX, mg/kg/8týdnů	0,887	0,761-1,033	0,123
Dávka AZA, mg/kg	1,113	0,423-2,924	0,829

Legenda: ATI- antibodies to infliximab/protilátky proti infliximabu,  
AZA- azathioprin, IFX- infliximab

#### 4.4.3. Remise definovaná hladinou fekálního kalprotektinu (CPT)

Posledním z laboratorních markerů remise, který jsme použili, byl CPT. V modelu, kde byl použit jako marker remise CPT pod 100 µg/g, byla z jeho ROC křivky zjištěna optimální cut-off hodnota pro hladiny IFX 3,54 µg/ml, která byla nezávisle asociována s touto remisí (specifická 75% a senzitivita 54%) v případě použití všech hodnot CPT, které byly k dispozici (n=315, complete case analýza, graf 6 a tabulka 15). Při použití metody mnohočetného doplnění byl CPT nezávislým prediktorem hladin IFX (p=0,046). Avšak tuto asociaci jsme nepotvrdili při analýze senzitivity s předpokládanými hodnotami +/- 200 µg/g (p=0,047 a p=0,077).

**Tab. 15. Zvažované prediktory remise definované jako CPT pod 100 µg/g (mnohočetná regresní analýza)**

	OR	95% konfidenční interval	p hodnota
Hladina IFX nad 3,5 µg/ml	3,332	1,324-8,387	0,011
Hladiny ATI, µg/ml	0,956	0,872-1,048	0,339
Sérový albumin, g/l	1,138	0,933-1,387	0,2
Mužské pohlaví	1,33	0,313-5,648	0,699
Trvání IFX terapie, týdny	1,002	0,992-1,012	0,733
Věk v době aplikace IFX, roky	1,139	0,864-1,501	0,356
Dávka IFX, mg/kg/8týdnů	0,878	0,716-1,077	0,211
Dávka AZA, mg/kg	0,693	0,278-1,726	0,431

Legenda: ATI- antibodies to infliximab/protilátky proti infliximabu,  
AZA- azathioprin, IFX- infliximab

Protože korelace mezi dávkou IFX a tělesnou hmotností není lineární a dávkování IFX na základě tělesné hmotnosti nevede k vyšší clearance u pacientů s vyšší hmotností, započítali jsme tělesnou hmotnost jako proměnnou do stávajícího modelu. Toto započítání nemělo signifikantní vliv na výsledky (pro remisi definovanou CRP jsou výsledky uvedeny v tabulce 16). Analýza senzitivity po vyřazení pacientů s dávkováním IFX po 4 týdnech signifikantně nezměnila asociaci mezi hladinami IFX a CRP,FW nebo CPT.

**Tab. 16. Remise definovaná jako CRP pod 5 mg/l, se započítáním hmotnosti jako proměnné, pro porovnání s tabulkou 13**

	OR	95% konfidenční interval	p hodnota
Hladina IFX nad 1,1 µg/ml	3,227	1,442-7,221	0,004
Hladiny ATI, µg/ml	0,998	0,992-1,004	0,422
Sérový albumin, g/l	1,369	1,17-1,601	0,000
Mužské pohlaví	1,222	0,363-4,121	0,746
Trvání IFX terapie, týdny	1,003	0,995-1,011	0,488
Věk v době aplikace IFX, roky	0,893	0,639-1,248	0,508
Dávka IFX, mg/kg/8týdnů	0,908	0,803-1,028	0,127
Dávka AZA, mg/kg	0,417	0,178-0,978	0,044
Hmotnost	0,984	0,928-1,044	0,596

Legenda: ATI- antibodies to infliximab/protilátky proti infliximabu,  
AZA- azathioprin, IFX- infliximab

Na základě dříve publikovaných prací se zdá, že PCDAI není vhodným prediktorem endoskopického a histologického postižení sliznice. Proto jsme v naší práci PCDAI použili jen jako proměnnou a ne jako primární ukazatel (Dolinsek, Riznik, Sabath, & Micetic-Turk, 2016; Fabian et al., 2017).

## 5. DISKUZE

### 5.1. Měření hladin a protilátek v dospělé populaci

V diskuzi pojednáme o současných doporučeních pro použití měření hladin IFX a ATI v terapii CD jak u dospělých, tak u dětí a také nastíníme možný směr vývoje tohoto monitorování do budoucnosti.

#### 5.1.1. Doporučení pro měření hladin a situace v ČR

Již několik let se vedou diskuse nad tím, zda u pacientů na BL je vhodné pravidelné měření hladin IFX a ATI před každou infusí a následná úprava dávkování IFX s cílem dosáhnout optimálních terapeutických hladin (tzv. proaktivní přístup), nebo zda je vhodné hladiny IFX a ATI měřit pouze v situaci klinického zhoršení (tzv. reaktivní přístup).

Proaktivní přístup se zdál na základě retrospektivních studií jako výhodnější. Např. ve studii Vaughna et al. byl prokázán pozitivní vliv proaktivního sledování hladin IFX, navíc pacienti s hladinami nad 5 µg/ml s větší pravděpodobností pokračovali úspěšně v terapii IFX narozdíl od těch s hladinami pod tuto hodnotu (Vaughn et al., 2014).

Výhody proaktivního přístupu však nebyly potvrzeny dvěma velkými prospektivními randomizovanými studiemi. Dle studie TAXIT optimalizace dávky dle hladin IFX nevedla k častější remisi v 1 roce onemocnění ve srovnání s optimalizací dávky dle klinického stavu, ale byla spojena s méně relapsy v průběhu nemoci (Niels Vande Castele et al., 2015). Obdobný závěr přinesla i studie TAILORIX, která neprokázala, že by více pacientů s aktivní CD dosáhlo remise bez potřeby použití kortikosteroidů pomocí využití znalosti hladin IFX při optimalizaci dávky IFX (Haens et al., 2018).

I přes výše uvedená data se proaktivní monitoring stal součástí doporučených postupů v řadě zemí. Např. v Dánsku byl vypracován algoritmus pro laboratorní měření hladin a protilátek proti BL. Tento algoritmus byl založen na studii Steenholdta et al., kde byli pacienti na základě klinického průběhu nemoci a výsledků vyšetření rozděleni do skupin podle toho, zda byl detekován sérový IFX či ADA v subterapeutických či terapeutických hladinách (pro IFX  $\geq 0,5$  µg/ml při použití metody RIA; 1,4 µg/ml při použití metody ELISA a  $\geq 3$  µg/ml při použití metody

HMSA) a zda byly či nebyly detekovány protilátky proti IFX/ADA. Na základě laboratorních analýz se výše popsaným způsobem upravovalo dávkování léčiv. Při dodržování těchto doporučení bylo dosaženo úspory až 34% nákladů na biologickou léčbu: 6038 €/rok u laboratorně monitorovaného pacienta versus 9178 €/rok u pacienta bez pravidelného sledování hladin léčiv a protilátek proti léčivům ( $p < 0,001$ ). (Casper Steenholdt et al., 2014).

Naopak, dle recentního doporučení Americké gastroenterologické asociace je vhodné měřit hladiny a protilátky reaktivně. To znamená nikoli rutinně, ale v případě, kdy se vyskytují známky relapsu (klinické, laboratorní či endoskopické) nebo v situaci před změnou terapie. Zároveň toto doporučení jako vhodnou terapeutickou hladinu IFX navrhuje 5  $\mu\text{g/ml}$ . (Feuerstein, Nguyen, Kupfer, & Falck-ytter, 2017). Obdobný závěr přináší usnesení 25 australských a jiných mezinárodních odborníků- gastroenterologů. Toto usnesení doporučuje měřit hladiny IFX a ATI při selhání léčby po úspěšné indukční terapii, před plánovaným vysazením léčby a v klinické remisi, pouze pokud předpokládáme, že by výsledek mohl změnit terapii. Jako vhodné terapeutické rozmezí zde byla stanovena hladina 3-8  $\mu\text{g/ml}$ . Dle těchto doporučení také není rozdíl při použití kitů na měření ATI, které jsou nebo nejsou schopny měřit ATI v přítomnosti IFX (Seow et al., 2017).

### **Situace v ČR**

Dle doporučení České gastroenterologické společnosti je doporučováno měření hladin ATI a IFX především při ztrátě odpovědi na terapii nebo nedostatečné odpovědi na léčbu (tedy reaktivní přístup). Při nízkých hladinách IFX (zde uvedeno terapeutické rozmezí 0,5-5,5  $\mu\text{g/ml}$ ) a při absenci ATI je doporučována intenzifikace terapie. Při nízkých hladinách IFX a pozitivě ATI je doporučena změna na jiný anti-TNF preparát. Pokud je dostatečná hladina IFX a nejsou přítomny ATI, je doporučena změna na jiný preparát, který nepracuje na anti-TNF principu. Doporučení tedy pracuje s obdobným schématem, uvedeným v dalších kapitolách (Bortlik et al., 2016).

Pro získání informací o aktuálním stavu v ČR byli autorem této disertační práce osloveni gastroenterologové fakultních a krajských nemocnic (nepublikovaná data). Celkem bylo osloveno 15 tuzemských pracovišť a to jak pro dětské ( $n=10$ ) tak i dospělé ( $n=5$ ) pacienty. Informace poskytlo 13 z nich (81% oslovených). V ČR některá pracoviště přistupují k měření hladin a protilátek při selhání léčby pro odlišení situace, kdy je nutné intenzifikovat léčbu při nízké hladině nebo kdy je nutné změnit léčbu na jiný anti TNF preparát. V této situaci se přihlíží

k individuální situaci a není určeno specifické časové schéma (2 oslovená pracoviště). Jiná pracoviště k tomuto postupu přidávají ještě informaci o hladině CPT. Pomocí jeho hladiny podporují informaci o relapsu onemocnění a nutnosti změny terapie (1 oslovené pracoviště). Jsou i pracoviště, kde měření IFX a ATI provádějí rutinně ve 14. nebo 22. týdnu terapie, a dále pokud bylo při endoskopii diagnostikováno neúplné slizniční zhojení i přes klinickou remisi nebo před plánovaným vysazením AZA (pacient v remisi s dostatečnými hladinami IFX),(1 oslovené pracoviště). Jedno oslovené pracoviště měří hladiny IFX a ATI po 3. indukční dávce IFX a dle toho se rozhoduje o pokračování terapie, dále měří 1-2x za rok rutinně a kdykoliv v případě relapsu. Poté postupují podle schématu uvedeného v tabulce 18, s tím, že pokud jsou mírně pozitivní ATI, doplní do terapie imunosupresivum (AZA) a pokud jsou protilátky pozitivní výrazně, změní terapii na jiný anti TNF preparát (1 oslovené pracoviště). Další pracoviště měří reaktivně v případě relapsu nebo fulminantní kolitidy. Hodnoty zde berou jako doplněk k ostatním laboratorním a klinickým ukazatelům a neupravují léčbu jen na základě hodnoty hladin (1 oslovené pracoviště). A nakonec poslední oslovené pracoviště provádí proaktivní měření na konci indukční terapie, poté v 6. a 12. měsíci udržovací terapie a dále dle stavu pacienta v relapsu či 1x ročně. Terapii poté dle těchto hodnot upravují (1 oslovené pracoviště).

Praxe měření hladin IFX a ATI je tedy v klinické praxi v ČR odlišná dle pracoviště, nicméně se již jedná o běžně dostupná vyšetření, která pomáhají rozhodovat o změně terapie a o dalším osudu pacienta. Tato již nejsou prováděna pouze na experimentální úrovni. Pracoviště tedy pružně reflektují vznikající doporučení v této oblasti.

### 5.1.2. Úprava terapie dle naměřených hodnot

Jak bylo uvedeno v předchozí kapitole, měření hladin IFX a ATI je již součástí běžné klinické praxe u dospělých pacientů. Na základě jejich znalosti poté máme více možností, jak směřovat terapii. Je možné například usuzovat dle hladin odebraných po indukční fázi na případný relaps a rizikové pacienty tak častěji sledovat (Niels Vande Castele et al., 2013) nebo např. na začátku udržovací fáze terapie nastavit dávku tak, aby hladiny byly v terapeutickém rozmezí (viz. kapitola: Využití znalosti hladin a protilátek v modifikaci terapie v dospělé populaci). Nejčastěji se však využívá pro změnu terapie na základě znalosti hladin IFX a ATI následující schéma, které platí jak pro dětské, tak pro dospělé pacienty a základní odlišností



oproti dětským pacientům je širší paleta biologik dostupných pro dospělé pacienty (tabulka 17) (Bronský et al., 2012).

**Tab. 17. Doporučení pro změnu terapie dle hladin IFX a ATI, upraveno dle Bronského (Bronský et al., 2012)**

Hladina IFX	Hladina ATI	Interpretace nálezu
Nízká	Nízká	Intenzifikace terapie
Nízká	Vysoká	Intenzifikace nebo změna na jiný anti TNF preparát (ADA)
Vysoká	Nízká	1. ideální stav (v remisi)/2. preparát s jiným účinkem ( v relapsu, vedolizumab či ustekinumab)
Vysoká	Vysoká	Málo pravděpodobné, kontrola při příští návštěvě

Legenda:ADA- adalimumab, ATI- antibodies to infliximab/protilátky proti infliximabu,IFX- infliximab, TNF- tumor necrosis factor

Principiálně obdobné schéma ve své práci uvádí i Steenholdt, s některými rozdíly a to v jasně definované dolní terapeutické hranici 0,5 µg/ml a rozdělení ATI na detekovatelné a nedetekovatelné, bez udání konkrétní hladiny (tabulka 18)(Casper Steenholdt et al., 2014).

**Tab. 18. Doporučení pro změnu terapie dle hladin IFX a ATI upraveno dle Steenholdta**

	Detekovatelné ATI	Nedetekovatelné ATI
<b>Subterapeutické hladiny IFX pod 0,5 µg/ml</b>	<b>1)</b> malá dostupnost IFX kvůli indukované imunogenicitě > změna na jiný TNF inhibitor nebo navýšení dávky	<b>2)</b> malá dostupnost IFX kvůli neimunogenně ovlivněné farmakokinetice > intenzifikace léčby: IFX 5 µg/kg á 4 týdny
<b>Terapeutické hladiny IFX 0,5 µg/ml a více</b>	<b>4)</b> zvážit: farmakodynamiku, neneutralizující ATI a falešnou pozitivitu testu > zopakování odběru IFX a ATI, pokud jsou stejné výsledky pak stejná akce jako u <b>3)</b>	<b>3)</b> inhibice TNF alfa není efektivní, protože se jedná o nemoc nezpůsobenou TNF alfa > vysazení anti TNF terapie a opakování diagnostiky: Pokud jde o relaps CD pak použít jinou imunosupresi (AZA, kortikosteroidy, jiné biologikum) a zvážit chirurgický zákrok. Pokud nejde o relaps léčit primární problém

Legenda: ATI- antibodies to infliximab/ protilátky proti infliximabu, AZA- azathioprin, CD- Crohnova choroba, IFX- infliximab, TNF- tumor necrosis factor

Efektivitu využití uvedeného algoritmu potvrzuje ve své práci např. Afif, kdy u pacientů se sekundární ztrátou odpovědi a pozitivními ATI došlo k terapeutické odpovědi na změnu na jiný anti TNF preparát u 92% pacientů, zatímco na zvýšení dávky reagovalo jen 17% z nich. Ve skupině pacientů se sekundární ztrátou odpovědi a subterapeutickými hladinami IFX reagovalo na zvýšení dávky 86% pacientů, zatímco na změnu na jiný preparát jen 33% pacientů (Afif et al., 2010). Jak již bylo uvedeno, zmíněná schémata využívají jak zahraniční, tak tuzemská gastroenterologická pracoviště. Na konkrétní hodnoty hladin hledíme zpravidla tehdy, upravujeme-li hladinu tak, aby byla v terapeutickém rozmezí. ATI se hodnotí zpravidla jen jako pozitivní (jakákoliv hodnota) nebo nedetekovatelné (nulová hladina). Jiné úpravy terapie dle naměřených hodnot nejsou součástí doporučení a vždy se klade důraz na individuální posouzení konkrétní situace u konkrétního pacienta s přihlédnutím k ostatním aspektům jako laboratorní, endoskopický a klinický nález.

## 5.2. Měření hladin a protilátek v dětské populaci

Stejně jako u dospělé populace i u dětí podle výsledků, uvedených v kapitole: Vztah mezi sérovými hladinami IFX a ATI, ovlivňuje tvorba protilátek hladinu léčiva a stejně tak jsou zvažovány přínosy a nevýhody proaktivního terapeutického monitoringu.

### 5.2.1. Doporučení pro měření hladin a situace v ČR a v zahraničí

U dětských pacientů je množství dat a doporučení výrazně menší než v dospělé populaci. Dle doporučení ECCO/ESPGHAN by mělo po druhé či třetí dávce IFX proběhnout zhodnocení efektu terapie, ale rutinní součástí tohoto hodnocení nejsou hladiny IFX a ATI. Podle tohoto doporučení by však mělo být zváženo snížení dávky, pokud jsou hladiny IFX během udržovací fáze terapie nad 8-10 µg/ml. Jako terapeutické rozmezí je zde určeno rozmezí 3-8 µg/ml. Měření hladin je doporučováno v případě částečné odpovědi na léčbu nebo ztráty odpovědi. Toto je zatím ojedinělé stanovisko odborné společnosti pro měření hladin IFX a ATI zakotvené v doporučení (F.M. et al., 2014). V naší práci byla hladina IFX nad 1,1 µg/ml asociována s remisí, kterou jsme definovali jako CRP 5mg/l a méně (Ohem et al., 2017), výsledky naší práce jsou v souladu např. s prací Casteleho, kde byly hladiny IFX také asociovány se zánětlivými parametry (Niels Vande Castele et al., 2015). Výrobce kitu použitého v naší práci udává dolní hranici terapeutického rozmezí 1 µg/ml, což je v souladu s výsledky naší práce (Remicade, 2017). Detekční vlastnosti a limity různých použitých metod a kitů se mohou mezi sebou lišit, proto by výsledky této práce neměly být zobecňovány na situace, kdy jsou použity jiné metody detekce hladin IFX a ATI (N Vande Castele et al., 2012). V naší práci jsme také našli asociaci mezi hladinou sérového albuminu a hladinou IFX (Ohem et al., 2017). Podobné výsledky publikoval i Frymoyer (Frymoyer et al., 2016). Dle těchto výsledků se zdá být vhodné nejprve znormalizovat hladinu sérového albuminu a poté vzít v úvahu hladinu IFX jako podklad pro změnu terapie. Naproti tomu dle naší práce ATI nepřinesly žádný benefit v hodnocení aktivity nemoci, ale mohou být důležitou veličinou v hodnocení nízkých hladin IFX (Ohem et al., 2017).

Pomocí jednoduchého dotazníku vypracovaného autorem této dizertační práce bylo osloveno 10 pracovišť dětské gastroenterologie v ČR. Odpověděla 3 pracoviště. Jedno z nich

měří hladiny a protilátky u dětí po indukční fázi – ve 14. nebo 22. týdnu, nebo při známkách laboratorního či klinického relapsu, alergické reakci nebo min. 1x ročně, s tím, že by hladiny měly být nad 3 µg/ml, nejlépe kolem 5 µg/ml. (1 oslovené pracoviště). Jiná pracoviště optimalizují terapii dle naměřených hodnot při změně stavu pacienta (relaps) nebo při plánované změně terapie (2 oslovená pracoviště). Další z pracovišť měří hladiny a protilátky při každé návštěvě, ale řídí se jimi jen v případě relapsu (1 oslovené pracoviště). Jedno pracoviště měří hladiny po 2. Indukční dávce a poté reaktivně při nedostatečné odpovědi a sekundární ztrátě odpovědi společně s protilátkami. Bylo osloveno i 10 zahraničních pracovišť dětské gastroenterologie. Pravidelné proaktivní měření hladin IFX a ATI provádějí například v Anglické Univerzitní nemocnici v Oxfordu, a to každých 8 týdnů. Bruselské pracoviště také měří hladiny proaktivně a to 6. měsíc od zahájení terapie a poté 1x ročně a také v případě relapsu (nepublikovaná data).

### 5.2.2. Doporučené a užívané cut-off hodnoty

Jak již bylo uvedeno v předchozích kapitolách, za terapeutické rozmezí hladin IFX užívané u dětských pacientů s IBD se považuje 3-7 (8) µg/ml (F.M. et al., 2014). Z předchozí kapitoly je patrné, že i v ČR existuje pracoviště, kde podle pravidelně měřených hladin IFX upravují dávku, aby hladina byla 3, nebo ještě lépe 5 µg/ml.

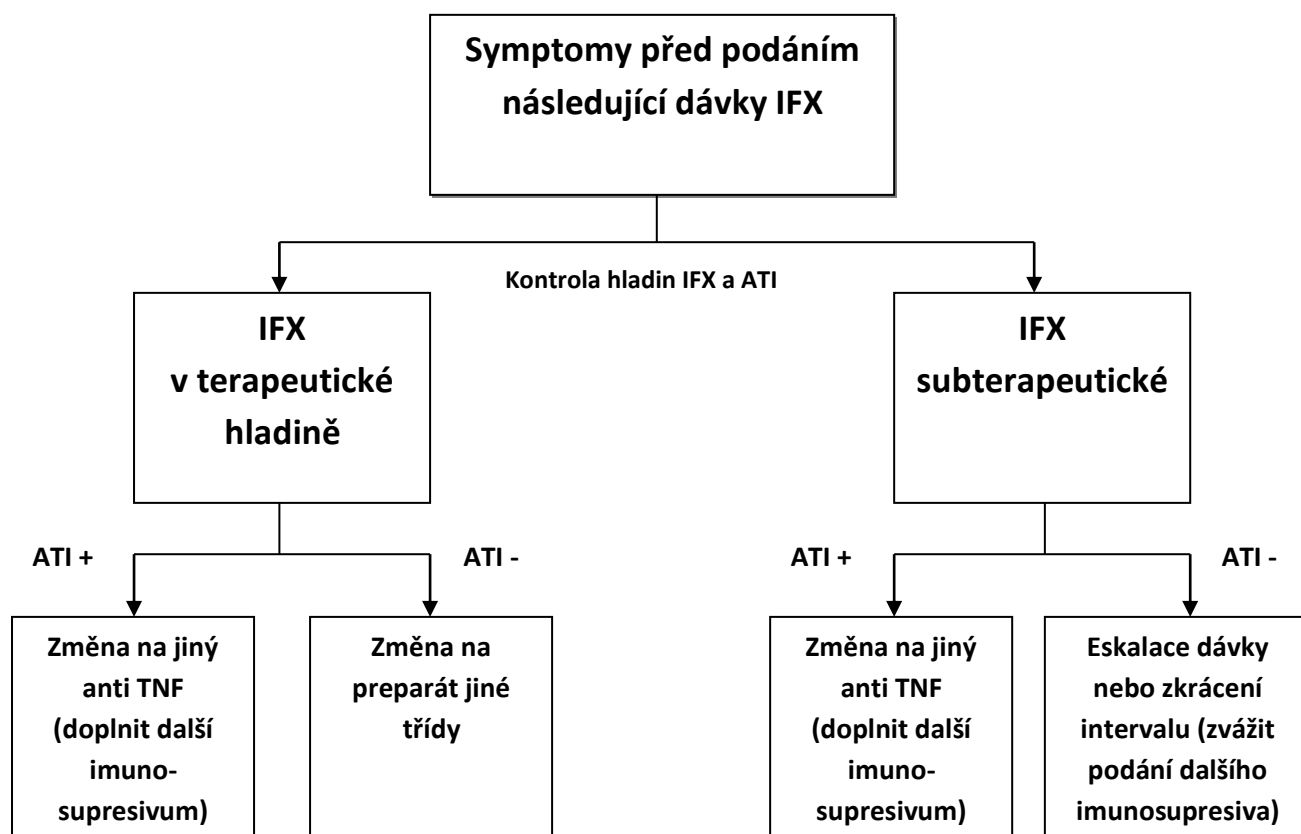
### 5.2.3. Úprava terapie dle naměřených hodnot

V oblasti proaktivního a reaktivního přístupu k měření hladin a protilátek k BL se v pediatrii pro nedostatek dat řídíme výsledky studií prováděných u dospělých pacientů. Existují však i pediatrická data k tomuto tématu. V recentní randomizované kontrolované studii, která srovnávala procento dětských pacientů v klinické remisi od 8. do 72.týdne terapie bez nutnosti použití kortikosteroidů (tato práce však pracuje s ADA), byly v první skupině hladiny ADA a protilátek proti ADA měřeny proaktivně, tzn. měření ve 4. a 8. týdnu terapie a poté každých 8 týdnů až do 72.týdne. Ve druhé skupině byly hladiny měřeny reaktivně, tedy v případě ztráty odpovědi na léčbu. V první skupině bylo v remisi v 72. týdnu terapie 82% pacientů, zatímco ve druhé jen 48% (Assa et al., 2019). Poprvé tak byl v randomizované kontrolované studii prokázán

přínos proaktivního monitoringu. Doposud však v pediatrické praxi stejně jako u dospělých pacientů převládalo reaktivní monitorování hladin IFX a ATI. Jen některá pracoviště, která k tomu mají odpovídající podmínky, měří hladiny proaktivně.

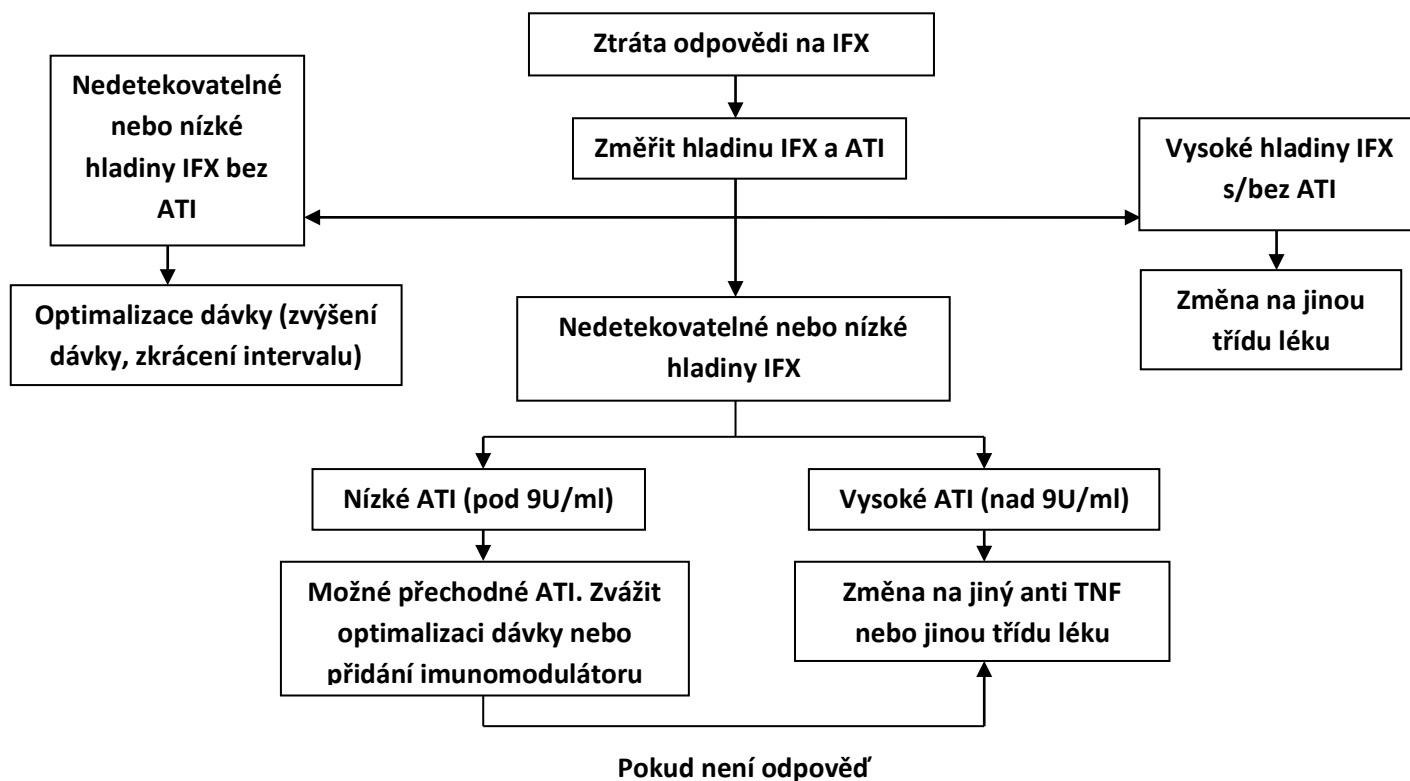
Při optimalizaci terapie u dětských pacientů se řídíme obdobným algoritmem jako u dospělé populace. Tento algoritmus ve své recentní práci uvádí např. Minar (schéma 2). Minar také doporučuje proaktivní monitoraci hladin IFX a ATI (Minar et al., 2016). Další podobné schéma uvádí i Lega, který navíc jako hranici positivity pro ATI uvádí hodnotu 9 U/ml (schéma 3)(Lega et al., 2018). V ČR se problematikou hodnocení hladin a protilátek zabývá Bronský, který ve svém doporučení publikoval schéma základní optimalizace terapie dle naměřených hodnot hladin IFX a ATI (tabulka 17) (Bronský et al., 2017, 2012). Tato schémata jsou nyní nejaktuálnějšími doporučeními schválenými odbornými společnostmi a jsou užívána v praxi pro optimalizaci terapie na základě znalosti hladin IFX a ATI.

**Schéma 2. Základní algoritmus postupu při výskytu symptomů před podáním následující dávky IFX. Upraveno dle Minara (Minar et al., 2016)**



Legenda:ATI- antibodies to infliximab/protilátky proti infliximabu,IFX- infliximab, TNF- tumor necrosis factor

**Schéma 3. Základní algoritmus postupu při ztrátě odpovědi na IFX. Upraveno dle Lega (Lega et al., 2018)**



Legenda: ATI- antibodies to infliximab/protilátky proti infliximabu, IFX- infliximab

#### 5.2.4. Budoucnost využití znalosti hladin IFX a ATI v klinické praxi

V budoucnu nejspíše bude možné využít software, který dle zadaných hodnot včetně hladin IFX a ATI nastíní vhodnou změnu dávkování či intervalu, která s největší pravděpodobností bude nejefektivnější. Software tohoto typu již v současné době je ve fázi vývoje a testování (Barrett, Mondick, Narayan, Vijayakumar, & Vijayakumar, 2008; Dubinsky et al., 2017; Lega et al., 2018). Také se zdá, že bude možné určit pravděpodobnost efektu IFX nebo jiného anti TNF preparátu pokud zkombinujeme již známé faktory se znalostí genotypu. Zatím bylo identifikováno několik jednotlivých kandidátních lokusů, které jsou spojeny s rizikem primární neefektivity IFX (Dubinsky et al., 2010).

Základním předpokladem do blízké budoucnosti je zajištění dostatečné místní a časové dostupnosti vyšetření hladin IFX a ATI na všech pracovištích podávajících BL pacientům s IBD -

tak, aby bylo možné na základně jejich znalosti terapeuticky reagovat co nejdříve po odebrání vzorku krve ve snaze co nejvíce zkrátit trvání relapsu či primární neodpovědi na léčbu. Toto je důležité především u dětských pacientů, kterým mohou příznaky aktivní nemoci způsobit mnoho komplikací ať už somatických, nebo psychických. V tomto ohledu je možné očekávat zavedení do praxe bedside (nebo také point of care- POC) vyšetření, tedy vyšetření prováděná přímo v místě ošetření/vyšetření pacienta a bezprostředně po odběru, kdy známe výsledek většinou do několika minut či desítek minut po odběru materiálu. Jak bylo uvedeno v této práci, bedside vyšetření se zdají být dostatečně spolehlivá na to, abychom se mohli dle jejich výsledků řídit ve vedení terapie, a s probíhajícím technickým pokrokem lze předpokládat další zlepšování jejich kvality a snižování ceny. U některých vyšetření, jako je CPT, kde odběr vzorku není tak odborně náročný jako odběr krve, je možné uvažovat i o jejich testování v domácím prostředí přímo pacientem, které se ale zatím zdá být méně spolehlivé než stanovení v laboratoři (Ondrej Hradsky, Ohem, Mitrova, et al., 2014; Lerchova et al., 2019).

V ideálním případě dojde u dětských pacientů s IBD k vytvoření doporučení k měření hladin IFX a ATI v konkrétním časovém úseku (týden terapie) a následné úpravě terapie (dávka, interval, změna na jiný preparát nebo zařazení konkomitantní terapie) tak, aby k relapsu docházelo v co nejmenší míře, nebo aby bylo možné dle hodnot IFX a ATI v dostatečném předstihu predikovat relaps a zahájit terapeutické kroky ještě před výskytem klinických známek zatěžujících pacienta.

## 6. DALŠÍ VĚDECKÁ AKTIVITA AUTORA

### 6.1. Prediktory IGRA (interferon gamma release assay) testu v dětské populaci

#### 6.1.1. Úvod

Jak bylo uvedeno v této práci, IFX je využíván pro svoji efektivitu v léčbě dětských IBD. TNF alfa je jedním ze stěžejních cytokinů účastnících se zánětlivé odpovědi při IBD, ale i při tuberkulóze (TBC). Pacienti léčení IFX tak mají zvýšené riziko reaktivace latentní TBC (Keane et al., 2001). Proto je doporučeno u dětí před zahájením anti TNF terapie provést kožní test (Mantoux) a test IGRA (interferon gamma releasing assay, test měřící reaktivitu imunitního systému vůči *Mycobacterium tuberculosis*) (Solovic et al., 2010; Travis et al., 2006). Riziko TBC u pacientů na anti TNF terapii lze významně snížit preventivní terapií izoniazidem (Gomez-Reino, Carmona, & Angel Descalzo, 2007). Pokud jsou pacienti s IBD léčeni imunosupresivou včetně kortikosteroidů, může to ovlivnit výsledky testů na latentní TBC (Helwig, Muller, Hedderich, & Schreiber, 2012). Tento výsledek může být ovlivněn i malnutricí, která často IBD doprovází (Cunningham-Rundles, McNeeley, & Moon, 2005; Hartman, Eliakim, & Shamir, 2009; Schaible & Kaufmann, 2007). Byla doložena interindividuální variabilita a rozdílná definice konverze výsledku IGRA testu (van Zyl-Smit, Zwerling, Dheda, & Pai, 2009). Není však dostatek dat popisujících testování pacientů pro latentní tuberkulózu během anti TNF terapie a to především v dětské populaci (Papay et al., 2012; Qumseya et al., 2011).

Cílem práce bylo určení faktorů ovlivňujících výsledky IGRA testů před a během anti TNF terapie (Ondrej Hradsky, Ohem, Zarubova, et al., 2014).

#### 6.1.2. Materiály a metody

Všichni dětské pacienti léčení ve FN Motol v letech 2008-2012 pro IBD pomocí anti TNF terapie byly testovány IGRA testem před zahájením biologické léčby a následně v jejím průběhu opakovaně v intervalu cca 1 rok. Demografické a klinické charakteristiky pacientů podle Montrealské klasifikace jsou uvedeny v tabulce 19.



**Tab. 19. Demografické a klinické charakteristiky pacientů**

	CD (n=59)	UC (n=11)	IBDU (n=2)
Pohlaví, mužské/ženské	29/30	5/6	2/0
Věk v době diagnózy, roky, medián (interkvartální rozptyl)	13 (11-15)	10 (6,5-14,5)	7 (5,5-8,5)
Lokalizace (%)			
L1 (term. ileum) nebo E1 (pankolitida)	L1: 7 (12)	E1: 0	E1: 0
L2 (kolon) nebo E2 (levostranné postižení)	L2: 14 (24)	E2: 1 (9)	E2: 0
L3 (ileokolon) nebo E3 (pankolitida)	L3: 38 (64)	E3: 10 (91)	E3: 2 (100)
Horní GIT (%)	L4: 34 (58)		
Chování nemoci (%)			
B1 (nestrikturní, nepenetrující)	44 (75)		
B2 (strikturní)	9 (15)		
B3 (penetrující)	6 (10)		
P (perianální nemoc) (%)	20 (34)		
Extraintestinální manifestace (%)	10 (17)	2 (18)	1 (50)
Potřeba chirurgického zákroku (resekce, %)	4 (7)	0	0

Legenda: ATI- antibodies to infliximab/protilátky proti infliximabu, AZA- azathioprin, CD- Crohnova choroba, GIT- gastrointestinální trakt, IBDU- inflammatory bowel disease unclassified, IFX- infliximab, UC- ulcerózní kolitida,

Pacienti, u kterých začala anti TNF léčba před dubnem 2008, byli testováni na TBC pomocí PCR v krvi a moči, RTG plic, osobní anamnézy a kožního testu. Tam, kde začala terapie po uvedeném datu, byl proveden IGRA test, RTG plic, odebrána osobní anamnéza a proveden kožní test. Střední hodnota 1letého opakovaného testování byla 3 roky (1-5 let). U všech 72 pacientů byla v útlém věku provedena kalmetizace. Žádný z nich nebyl imigrant ani nebyl v kontaktu s vysoce rizikovou populací. Pacienti byli diagnostikováni na základě Porto kritérií. Aktivita nemoci byla hodnocena pomocí PCDAI a PUCAI skóre (J S Hyams et al., 1991; Turner et al., 2007) a běžných laboratorních parametrů, jejichž odběr byl proveden ve stejný den jako odběr

krve pro IGRA test. Stav výživy byl hodnocen pomocí poměru váha k výšce a výška k věku (Z skóre) při každé návštěvě. Byla zaznamenána veškerá podaná medikace. Za významnou medikaci byla považována léčba AZA (dávka nad 1mg/kg/den) nebo 6-MP (dávka nad 0,5mg/kg/den) podaná minimálně dva měsíce před IGRA testem a dále podávání kortikosteroidů v dávce 1mg/kg/den a více minimálně 1 týden před IGRA testem. Ten byl proveden u 59%, 11% a 6% pacientů na terapii imunomodulátory, kortikosteroidy a kombinací obou. Dva pacienti byli léčeni ADA a 70 IFX.

Pacienti byli testováni na oddělení mikrobiologie Nemocnice na Bulovce a národní referenční laboratoře pro mykobakteria pomocí IGRA testu QuantiFERON (QTF, Cellestis, Valencia, CA). Po odběru byly vzorky odeslány do laboratoře k vyšetření podle manuálu výrobce, podle něž byla cut-off hodnota pro pozitivitu a negativitu testu stanovena jako 0,35 IU/ml. Vyhodnocení bylo provedeno pomocí výrobcem dodaného softwaru.

Konverze IGRA testu byla definovaná jako pozitivní výsledek na anti TNF terapii po předchozím úvodním negativním výsledku a reverze IGRA testu jako negativní výsledek po předchozím pozitivním výsledku.

Statistická analýza byla provedena pomocí R-software. Bylo použito Mann-Whitney U testu pro porovnání 2 skupin. Asociace mezi léčebnými modalitami, aktivitou nemoci a neurčitým výsledkem IGRA testu byla hodnocena pomocí Fisherova testu a popsána pomocí OR s 95% CI. Lineární mix model byl proveden pomocí R-project lmer Test (verze 1.2-1). K hodnocení ovlivnění IGRA testu byly použity všechny získané hodnoty.

Projekt byl schválen etickou komisí pracoviště autora a informovaný souhlas byl podepsán rodiči každého pacienta, případně i pacientem.

### 6.1.3. Výsledky a závěr

Celkem bylo provedeno 165 IGRA testů u 72 pacientů, z toho 3% bylo pozitivních, 87% negativních a 10% neurčitých.

Žádný ze 72 pacientů neměl pozitivní RTG, osobní anamnézu nebo kožní test. Před nasazením anti TNF byl proveden IGRA test u 46 pacientů, z toho u 1 byl pozitivní, ten byl pak přeléčen izoniazidem a léčba anti TNF byla pozdržena o 2 měsíce. Nebyla nalezena žádná známka aktivní TBC. Osm pacientů mělo neurčitý výsledek před anti TNF terapií, tito pacienti

byli odesláni k dětskému pneumologovi a poté byla zahájena anti TNF terapie. Tito pacienti byli dále sledováni dětským pneumologem po dobu asi 3 měsíců.

Jako opakovaný test bylo provedeno 119 IGRA vyšetření, z toho 90% negativních, 3% pozitivní a 7% neurčitých výsledků. Konverze negativního na pozitivní test byla zaznamenána u 3% pacientů a reverze ve 4%. Všichni tito pacienti měli CD. U pacientů s pozitivním výsledkem byla přerušena anti TNF terapie. Byli přeléčeni izoniazidem a dále sledováni dětským pneumologem po dobu asi 3 měsíců. U těchto pacientů nebyly zaznamenány známky TBC na RTG plic nebo při fyzikálním vyšetření. Jeden pacient prodělal relaps choroby během vysazení anti TNF. U všech pacientů byla anti TNF terapie po přerušení znovu nasazena a poté měli všichni negativní IGRA test během dalšího sledování.

Pacienti, u nichž byl IGRA test neurčitý, měli signifikantně nižší poměr váhy k výšce ( $p=0,022$ ), vyšší počet krevních destiček ( $p=0,00017$ ) a nižší hladinu sérového albuminu ( $p=0,015$ ) ve srovnání s pacienty s pozitivním nebo negativním výsledkem. Výška k věku byla srovnatelná ve všech skupinách ( $p=0,24$ ). Výrazný rozdíl v aktivitě CD (hodnoceno pomocí PCDAI) byl nalezen mezi pacienty s neurčitým výsledkem a těmi s pozitivním nebo negativním výsledkem ( $p=0,000043$ ). U UC tento rozdíl nebyl signifikantní. V lineárním mixed modelu byl neurčitý výsledek testu asociován s léčbou kortikosteroidy ( $p=0,00028$ ), anti TNF terapií ( $p=0,0038$ ) a aktivitou onemocnění (PCDAI pod 10 nebo PUCAI pod 10,  $p=0,0014$ ). Nebyla zde však nalezena asociace s terapií imunomodulátory. V subanalýze faktorů ovlivňující neurčitý výsledek IGRA testu u pacientů s CD, byly s tímto výsledkem asociovány všechny prediktory až na imunomodulátory. V lineárním mixed modelu byly nalezeny asociace s kortikosteroidy ( $p=0,0011$ ), anti TNF terapií ( $p=0,046$ ), PCDAI ( $p=1,13 \times 10^{-7}$ ), počtem krevních destiček ( $p=0,00022$ ), albuminem ( $p=0,0012$ ) a poměrem váhy k výšce ( $p=0,018$ ). Jako jediný nezávislý rizikový faktor pro neurčitý výsledek IGRA testu bylo identifikováno PCDAI skóre ( $p=0,00037$ ).

Slabé stránky této studie byly především (oproti dospělé populaci) menší počet pacientů. Nebylo zde také možné určit faktory ovlivňující výskyt konverze a reverze výsledků. Jsou potřebné další studie s větším počtem pacientů, aby bylo možné tyto faktory identifikovat a snížit tak počet profylaktických podání izoniazidu.

Tato práce jako první popisuje rutinní využití IGRA testu u dětských pacientů s IBD na anti TNF terapii a jako první testovala prediktivní faktory neurčitého IGRA testu. Ačkoliv u dospělých pacientů jsou za hlavní faktor ovlivňující neurčitý výsledek IGRA testu považovány kortikosteroidy, v této práci byl u dětských pacientů identifikován nový důležitý ovlivňující

faktor tohoto výsledku a to aktivita nemoci. U pacientů s CD je tato aktivita vyjádřena PCDAI skóre.

## **6.2. Fekální kalprotektin jako prediktor endoskopické a histologické remise**

### 6.2.1. Úvod

U dětských pacientů se suspekci na IBD je nutné provést endoskopické vyšetření. To je spolu s celkovou anestézií, ve které se provádí, velmi invazivní výkon. Endoskopie je také důležitá k ověření zhojení sliznice, což je stěžejní cíl léčby IBD. CPT byl již v minulosti užíván jako neinvazivní marker u pacientů s IBD (Roseth, Aadland, Jahnsen, & Raknerud, 1997; van Rheenen, Van de Vijver, & Fidler, 2010). Byla publikována řada prací o použití fekálního kalprotektinu jak u dospělých tak u dětských pacientů (Limburg et al., 2000; Schoepfer, Trummler, Seeholzer, Criblez, & Seibold, 2007; Schroder, Naumann, Shastri, Povse, & Stein, 2007; Tibble, Sigthorsson, Bridger, Fagerhol, & Bjarnason, 2000). Všechny uvedené studie potvrdily asociaci mezi střevním zánětem a hladinou fekálního kalprotektinu. Byla zkoumána i asociace mezi hladinou kalprotektinu a histologickým a endoskopickým nálezem (Bunn et al., 2001; Fagerberg, Loof, Lindholm, Hansson, & Finkel, 2007; T Sipponen et al., 2008) stejně jako možnost využít kalprotektin k diagnostice IBD (Canani et al., 2006; Carroccio et al., 2003; Diamanti et al., 2010; Olafsdottir, Aksnes, Fluge, & Berstad, 2002; Quail et al., 2009; van Rheenen et al., 2010). Kalprotektin byl zkoumán také jako marker aktivity onemocnění před (Aomatsu et al., 2011; Shaoul et al., 2012), po terapii (Molander et al., 2012; Taina Sipponen & Kolho, 2010) a jako prediktor relapsu (Mao et al., 2012).

Fekální kalprotektin je cytosolický kalcium vázající protein neutrofilů s antimikrobiálními vlastnostmi (Dale, Fagerhol, & Naesgaard, 1983; Mao et al., 2012). Jeho koncentrace ve stolici je zvýšená během střevního zánětlivého onemocnění (Roseth et al., 1997) a u IBD se zdá, že jeho hladina není ovlivněna věkem ani typem zánětu (Henderson et al., 2012). Pro svoji relativní stálost při pokojové teplotě může být vzorek stolice odebrán v domácím prostředí a doručen do laboratoře během několika dní (Roseth, Fagerhol, Aadland, & Schjonsby, 1992). O tomto vyšetření se uvažuje jako o možném testu použitelném v domácím prostředí přímo pacientem a lze ho využít v celé šíři pediatrické populace. Je to rychlý test s výsledky srovnatelnými s metodou ELISA (Kolho et al., 2012; Shastri, Povse, & Stein, 2009). Použití bedside testu

zrychluje celý diagnostický proces a pravidelné kontroly kalprotektinu pomohou k efektivnější monitoraci účinku terapie.

Cílem této práce bylo zhodnotit asociaci mezi bedside vyšetřením koncentrace fekálního kalprotektinu a histologickým a endoskopickým nálezem u pacientů se suspektním chronickým střevním zánětlivým onemocněním (Ondrej Hradsky, Ohem, Mitrova, et al., 2014).

## 6.2.2. Materiály a metody

Tato práce byla koncipována jako case control observační studie s neselektovanou skupinou pacientů.

Do studie byli zavzati všichni pacienti, kteří mezi dubnem 2009 a prosincem 2010 ve fakultní nemocnici Motol podstoupili ileokoloskopii pro podezření na střevní zánětlivé onemocnění. Vzorek stolice byl odebrán před přípravou k endoskopii. Celkem bylo do studie zařazeno 41 pacientů, z toho u 17 z nich bylo diagnostikováno IBD podle Porto kritérií (10 CD, 4 UC, 3 IBDU) (Levine et al., 2014), u 6 pacientů byla diagnostikována non-IBD kolitida. U zbylých 18 pacientů bylo střevní onemocnění vyloučeno na základě negativní kultivace stolice, základního laboratorního nálezu a endoskopického a histologického nálezu. Charakteristika pacientů s konečnými diagnózami je uvedena v tabulce 20.

**Tab. 20. Demografické charakteristiky pacientů, hladiny fekálního kalprotektinu a závěrečné diagnózy. Horní limit bedside testu byl 300 µg/g, vzorky nebyly dále ředěny.**

	CD (n=10)	UC (n=4)	IBDU (n=3)	non-IBD kolitida (n=3)	mikroskopická kolitida (n=3)	bez zánětu (n=18)
Muži/ženy	4/6	2/2	2/1	2/1	3/0	5/13
Medián věku, roky, interkvartilní rozptyl (IQR)	12,5 (4,25-6,25)	5,5 (4,25-6,25)	7,0 (4,5-10,0)	8,0 (5,5-9,0)	6,0 (3,5-7,0)	12,0 (9,25-16,75)
Medián hladiny kalprotektinu µg/g (IQR)	300 (300-300)	300 (300-300)	300 (290-300)	197 (182-249)	300 (300-300)	83 (55-131)

Legenda k tabulce 20: CD- Crohnova choroba, IBDU- inflammatory bowel disease unclassified, IQR- interkvartilové rozpětí, UC- ulcerózní kolitida

U všech pacientů byla endoskopie provedena dětským gastroenterologem. Pokud bylo podezření na IBD, byla provedena i ezofagogastroduodenoskopie (Levine et al., 2014). Endoskopické nálezy byly hodnoceny zkušeným dětským gastroenterologem, který neznal výsledky odběru stolice na fekální kalprotektin. Zhodnotil rozsah a hloubku postižení podle skórovacích systémů dříve publikovaných prací (Bunn et al., 2001; Fagerberg et al., 2007). Na základě celkového nálezu hodnotitel posoudil endoskopický nálezy jako negativní nebo pozitivní. Z každé zobrazené etáže byly odebrány biopsie. Tyto vzorky byly zhodnoceny zkušeným patologem, který neznal předešlé výsledky odběru fekálního kalprotektinu, a byly také zhodnoceny jako negativní nebo pozitivní. Za histopatologické známky zánětu se považovaly: nepravidelná architektura, bazální lymfoplazmocytoza, transmurální zánět, hluboké vředy, granulomy, mukózní vředy nebo eroze, změna architektury krypt, metaplazie Panethových buněk, transmurální zánětlivý infiltrát a submukózní fibróza. Pokud bylo podezření na zánět tenkého střeva, bylo provedeno MR vyšetření (Molander et al., 2012) nebo vyšetření endoskopickou kapslí (Roseth et al., 1997). U ostatních pacientů bylo terminální ileum vyšetřeno pomocí ultrazvuku.

Vzorky stolice byly odebrány do plastických zkumavek a analyzovány pomocí bedside Quantum Blue testu (Bühlmannlaboratories AG, Švýcarsko) podle manuálu výrobce. Výsledky byly k dispozici po provedení endoskopického vyšetření. Rozsah měření byl 30-300  $\mu\text{g/g}$  stolice. Výsledky pod 30  $\mu\text{g/g}$  byly hodnoceny jako 30  $\mu\text{g/g}$  a výsledky nad 300  $\mu\text{g/g}$  byly hodnoceny jako 300  $\mu\text{g/g}$ . Vzorky nebyly ředěny.

Všechna data byla analyzována pomocí R-software (verze 2.13.0). Porovnání hodnot kalprotektinu mezi negativním a pozitivním endoskopickým a histologickým nálezem bylo provedeno pomocí Mann Whitney testu. Korelace mezi hladinou kalprotektinu a histologickým a endoskopickým skóre byla testována neparametrickým Spearmanovým testem. ROC křivka byla vypracována pomocí R-projektu balíčku Diagnostics verze 0.2.3. Pokud nebylo pro stenózu nebo nedosažitelnost terminálního ilea endoskopem možné získat biopsické vzorky ze všech částí GIT, byl pacient vyřazen z korelačního testu, ale ne z ostatních analýz.

### 6.2.3. Výsledky a závěr

Hladina fekálního kalprotektinu a histologické a koloskopické skóre: Demografické charakteristiky a hodnoty fekálního kalprotektinu byly uvedeny v tabulce 21. Fekální kalprotektin byl zvýšený u dětí s endoskopickým nálezem zánětlivého postižení střeva ve srovnání s dětmi bez nálezu endoskopického zánětlivého postižení ( $p=0,000014$ ). Asociace mezi hladinou fekálního kalprotektinu a endoskopickým a histologickým nálezem je uvedena v tabulce 21. Nebyl nalezen rozdíl mezi hladinou fekálního kalprotektinu u pacientů s CD a UC, avšak počet pacientů v obou skupinách byl malý.

**Tab. 21. Asociace mezi hladinou fekálního kalprotektinu a endoskopickým a histologickým nálezem**

	Histologický nález		Endoskopický nález				
	Pozitivní	Negativní	Pozitivní	Negativní	Skóre rozsahu	Skóre tíže postižení	Kombinované skóre
<b>N</b>	25	16	18	23			
<b>Medián, <math>\mu\text{g/g}</math>(interkvartilní rozptyl)</b>	300 (300 - 300)	73 (50 - 117)	300 (300 - 300)	105(57 - 300)	3 (0 - 6)	1 (0 - 3)	2 (0 - 12)
<b>Hodnota Spearmanova nebo Mann Whitneyova testu</b>	48,5		91		$\rho = 0,45$	$\rho = 0,46$	$\rho = 0,47$
<b>P hodnota</b>	0,000014		0,00097		0,0035	0,0023	0,0019

Legenda: N- počet pacientů

Cut-off hodnota fekálního kalprotektinu pro mikroskopický zánět byla stanovena jako 167 $\mu\text{g/g}$  (senzitivita 96% a specifická 81%, plocha pod křivkou 0,88, 95% CI 0,83-0,93). Pro pozitivní endoskopický nálezu byla cut-off hodnota 280  $\mu\text{g/g}$  (senzitivita 83% a specifická 65%, plocha pod křivkou 0,78, 95% CI 0,70-0,86). Pokud byla použita hodnota udávaná výrobcem (50  $\mu\text{g/g}$ ), pak specifická pro mikroskopický zánět a pozitivní endoskopický nálezu byla velmi nízká – 25% a 17%. Celkem 7 pacientů mělo normální endoskopický nálezu, ale pozitivní mikroskopický nálezu. Z těchto pacientů jen jeden měl hladinu fekálního kalprotektinu pod 167  $\mu\text{g/g}$ , ostatní pacienti měli hodnotu nad tento cut-off a to 300  $\mu\text{g/g}$ .

Výsledky této práce ukazují, že bedside metoda měření fekálního kalprotektinu je dostatečně spolehlivá pro vyšetření pacientů před endoskopickým vyšetřením k potvrzení střevního zánětu. Metoda může být použita i tam, kde není přístup k rutinnímu laboratornímu stanovení. Díky této metodě jsou eliminovány chyby při transportu materiálu do laboratoře, protože pacient a lékař má nad vzorkem neustálou kontrolu. Zjevnou výhodou je zejména rychlost provedení testu oproti běžnému laboratornímu zpracování. Výsledek může být k dispozici již během několika minut. V této práci jsme potvrdili dobrou senzitivitu a specifickou fekálního kalprotektinu pro mikroskopický zánět a pozitivní endoskopický nálezu. Při diagnostice je vhodné užívat cut-off hodnoty, které se v dříve publikovaných pracích pohybují od 50 do 100  $\mu\text{g/g}$  (Kostakis et al., 2013; Licata et al., 2012). Henderson stanovil cut-off hodnotu pro aktivní zánět na 202  $\mu\text{g/g}$  (Henderson et al., 2012). Spolehlivost bedside testů byla potvrzena např. v práci Kolho, kde byla cut-off hodnota pro obě metody (bedside test a klasická ELISA) stanovena na 150  $\mu\text{g/g}$  (Kolho et al., 2012).

Slabé stránky této práce jsou malý počet pacientů, zvláště ve skupině s normálním makroskopickým a pozitivním mikroskopickým nálezem. Přednost této práce je pak neselektovaný soubor pacientů, použití endoskopického skórování a zaslepení hodnot fekálního kalprotektinu pro hodnotící lékaře.

V této studii jsme prokázali, že bedside test pro kalprotektin je použitelný pro predikci histologického nálezů zánětu u dětí a získané hodnoty korelují s endoskopickým skóre. Tato jednoduchá a spolehlivá metoda by mohla být použita na endoskopických jednotkách nebo odděleních dětské gastroenterologie a v budoucnu snad i v domácím prostředí.



## 7. ZÁVĚR

V pediatrické populaci jsme potvrdili závěry již dříve publikované na toto téma v dospělé populaci pacientů s IBD. A to především asociaci vysokých ATI s nízkými hladinami IFX a mezi vyššími hladinami IFX a nižšími hladinami zánětlivých parametrů. Také jsme ukázali na vhodnost využití CRP a hladin IFX nad 1,1 µg/ml jako markerů remise CD u dětí.

Přednost naší práce spočívá ve velikosti souborů pacientů. Ten by měl být, pokud je nám známo, zatím největším mezi studiemi na toto téma. Prospektivně jsme po dlouhou dobu sledovali pacienty a sbírali data. Mezi nedostatky naší práce patří chybní některých hodnot CPT kvůli nespolupráci pacientů. Také se nám nepodařilo stanovit asociaci mezi hladinami IFX ani ATI a dávkou AZA. Dále jsme k měření využili metodu ELISA, která nepatří mezi nejpřesnější metody v měření ATI, ačkoliv je to nejvíce používaná metoda. Zatím však nebyl stanoven zlatý standard v měření hladin IFX a ATI ani určeny cut-off hodnoty pro každou z metod (Silva-Ferreira, Afonso, Pinto-Lopes, & Magro, 2016).

Na základě našich výsledků soudíme, že asociace mezi hladinami IFX a ATI a mezi hladinami IFX a aktivitou nemoci v dětské populaci je podobná jako u dospělé. Nejlepší kombinaci senzitivity a specifity k určení aktivity onemocnění pomocí CRP pod 5mg/l má hladina IFX 1,1 µg/ml a více. Je také vhodné k interpretaci hladin IFX započítat hladinu sérového albuminu a konkomitantní terapii AZA. V naší práci jsme nenalezli asociaci mezi remisí a hladinou ATI. Naše práce potvrzuje, že měření hladin IFX a ATI je důležitým faktorem pro rozhodování o dalším postupu. V průběhu této práce byly potvrzeny všechny na počátku stanovené hypotézy, a to:

1. Sérové hladiny IFX a ATI jsou asociované s laboratorními ukazateli aktivity CD.
2. Existují prediktivní faktory sérové hladiny IFX.
3. Lze určit sérovou hladinu IFX, která odpovídá s nejlepší senzitivitou a specificitou remisí onemocnění určené jiným laboratorním ukazatelem.
4. Sérové hladiny IFX jsou nepřímo úměrné hladinám ATI.

## 8. SOUHRN

Úvod: U dospělých pacientů korelují hladiny IFX (infiximab) s aktivitou onemocnění a ATI (antibodies to infiximab/protilátky proti infiximabu) predikují selhání terapie. Cílem naší práce bylo určit asociaci hladin IFX a ATI s aktivitou onemocnění v pediatrické populaci.

Metody: Tato práce byla koncipována jako prospektivní observační studie. Prospektivně jsme odebírali krev, stolici a klinická data 65 pacientů (ve věku 10,5-15,1 let) s Crohnovou chorobou (CD) a to před aplikací dávky IFX. U těchto pacientů jsme měřili hladiny IFX a ATI a fekálního kalprotektinu (CPT). K určení prediktorů hladin IFX jsme použili mnohorozměrnou analýzu. Hladiny IFX a ATI byly měřeny metodou ELISA.

Výsledky: Nižší hladiny IFX byly asociovány s pozitivitou ATI (OR [odds ratio] 0,027, CI [konfidenční interval] 0,009–0,077). U pacientů s nižšími hladinami IFX byla nalezena vyšší hladina CRP, FW a CPT. Optimální kombinace specifity (50%) a senzitivity (74%) pro aktivitu onemocnění definovanou hladinou CPR pod 5mg/l byla nalezena pro hladinu IFX 1,1 µg/ml a více. V modelu, kde byla remise definována hladinou CPT 100 µg/g a méně, byla optimální hladina IFX stanovena jako 3,5 µg/ml. V naší práci nebyla nalezena nezávislá asociace mezi remisí a ATI. Byla nalezena nezávislá asociace mezi hladinami IFX a hladinami sérového albuminu (OR 1,364, CI 1,169–1,593,  $p < 0,001$ ).

Závěr: Asociace mezi hladinami IFX a ATI, a mezi hladinami IFX a aktivitou nemoci je v dětské populaci podobná jako u dospělé populace. Hladina IFX 1,1 µg/ml byla určena jako optimální cut-off pro aktivitu nemoci definovanou pomocí hladiny CRP.

## 9. SUMMARY

Introduction: In adults, infliximab (IFX) levels correlate with disease activity and antibodies to IFX (ATIs/antibodies to infliximab) predict treatment failure. We aimed to determine the association of IFX levels and ATIs with disease activity in a paediatric population.

Methods: This study was performed as a prospective observational study. We prospectively collected blood, stool, and clinical data from 65 patients (age 10.5-15.1 years) with Crohn's disease (CD) before IFX administration, and measured IFX trough levels, ATIs, and faecal calprotectin levels (CPT). We used multivariate analysis to identify the predictors of IFX levels. IFX and ATI levels were measured using ELISA.

Results: Lower levels of IFX were associated with ATIs positivity (OR [odds ratio] 0.027, CI [confidence interval] 0.009–0.077). Higher C-reactive protein (CRP) level, erythrocyte sedimentation rate (ESR), and CPT levels were found in patients with lower IFX levels. The optimal combination of specificity (50%) and sensitivity (74%) for disease activity was calculated for IFX levels  $\geq 1.1$   $\mu\text{g/ml}$  using CRP level  $< 5$   $\text{mg/l}$  as a marker of laboratory remission. In a model that used CPT  $\leq 100$   $\mu\text{g/g}$  as the definition of remission, the optimal IFX trough level was 3.5  $\mu\text{g/ml}$ . No independent association between remission and ATIs was found in our study population. However, we found an independent association between IFX levels and serum albumin levels (OR 1.364, CI 1.169–1.593),  $p < 0.001$ .

Conclusions: The paediatric population is similar to adult population in terms of the association between IFX and ATIs as well as between IFX and disease activity. IFX level 1,1  $\mu\text{g/ml}$  was determined to be optimal cut-off value for disease activity defined with CRP level.

## 10. POUŽITÁ LITERATURA

- Abramson, O., Durant, M., Mow, W., Finley, A., Kodali, P., Wong, A., ... Herrinton, L. J. (2010). Incidence, prevalence, and time trends of pediatric inflammatory bowel disease in Northern California, 1996 to 2006. *Journal of Pediatrics*, 157(2), 233-239.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2010.02.024>
- Afif, W., Loftus, E. V. J., Faubion, W. A., Kane, S. V., Bruining, D. H., Hanson, K. A., & Sandborn, W. J. (2010). Clinical utility of measuring infliximab and human anti-chimeric antibody concentrations in patients with inflammatory bowel disease. *The American Journal of Gastroenterology*, 105(5), 1133–1139. <https://doi.org/10.1038/ajg.2010.9>
- Akshay, K., Vidyut, B., & Sibal, A. (2013). Pediatric Inflammatory Bowel Disease. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5061-0>
- Aloi, M., & Cucchiara, S. (2015). Predicting the Durability of Biological Therapy in Pediatric Crohn's Disease: Do the Immunomodulators Matter? *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 13(10), 1757–1759. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2015.06.007>
- Amil-Dias, J., Kolacek, S., Turner, D., Pærregaard, A., Rintala, R., Afzal, N. A., ... Kolho, K. L. (2017). Surgical Management of Crohn Disease in Children: Guidelines from the Paediatric IBD Porto Group of ESPGHAN. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 64(5), 818–835. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000001562>
- Aomatsu, T., Yoden, A., Matsumoto, K., Kimura, E., Inoue, K., Andoh, A., & Tamai, H. (2011). Fecal calprotectin is a useful marker for disease activity in pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Digestive Diseases and Sciences*, 56(8), 2372–2377. <https://doi.org/10.1007/s10620-011-1633-y>
- Ardizzone, S., & Bianchi Porro, G. (2002). Inflammatory bowel disease: new insights into pathogenesis and treatment. *Journal of Internal Medicine*, 252(6), 475–496.
- Assa, A., Matar, M., Turner, D., Broide, E., Weiss, B., Ledder, O., ... Shamir, R. (2019). Proactive Monitoring of Adalimumab Trough Concentration Associated With Increased Clinical Remission in Children with Crohn's Disease Compared With Reactive Monitoring. *Gastroenterology*. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.06.003>
- Baert, F., Noman, M., Vermeire, S., Van Assche, G., D'Haens, G., Carbonez, A., & Rutgeerts, P. (2003). Influence of immunogenicity on the long-term efficacy of infliximab in Crohn's disease. *The New England Journal of Medicine*, 348(7), 601–608. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa020888>
- Baldassano, R., Braegger, C. P., Escher, J. C., DeWoody, K., Hendricks, D. F., Keenan, G. F., & Winter, H. S. (2003). Infliximab (REMICADE) therapy in the treatment of pediatric Crohn's disease. *The American Journal of Gastroenterology*, 98(4), 833–838. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2003.07343.x>
- Baldwin, K. R., & Kaplan, J. L. (2017). Medical management of pediatric inflammatory bowel disease. *Seminars in Pediatric Surgery*, 26(6), 360–366. <https://doi.org/10.1053/j.sempedsurg.2017.10.005>
- Bandzar, S., Gupta, S., & Platt, M. O. (2013). Crohn's disease : A review of treatment options and current research. *CELLULAR IMMUNOLOGY*, 286(1–2), 45–52. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2013.11.003>
- Bar-Yoseph, H., Levhar, N., Selinger, L., Manor, U., Yavzori, M., Picard, O., ... Ungar, B. (2018). Early drug and anti-infliximab antibody levels for prediction of primary nonresponse to infliximab therapy. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 47(2), 212–218. <https://doi.org/10.1111/apt.14410>
- Barrett, J. S., Mondick, J. T., Narayan, M., Vijayakumar, K., & Vijayakumar, S. (2008). Integration of modeling and simulation into hospital-based decision support systems guiding pediatric pharmacotherapy. *BMC Medical Informatics and Decision Making*, 8, 6. <https://doi.org/10.1186/1472-6947-8-6>
- Bartyzalová, M. (2014). Biologická léčba u pacientů s nespecifickými střevními záněty.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., & Walker, S. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software; Vol 1, Issue 1 (2015)* . Retrieved from

<https://www.jstatsoft.org/v067/i01>

- Ben-Horin, S., Waterman, M., Kopylov, U., Yavzori, M., Picard, O., Fudim, E., ... Chowers, Y. (2013). Addition of an immunomodulator to infliximab therapy eliminates antidrug antibodies in serum and restores clinical response of patients with inflammatory bowel disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology : The Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association*, 11(4), 444–447. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2012.10.020>
- Benchimol, E. I., Bernstein, C. N., Bitton, A., Carroll, M. W., Singh, H., Otley, A. R., ... Kaplan, G. G. (2017). Trends in Epidemiology of Pediatric Inflammatory Bowel Disease in Canada: Distributed Network Analysis of Multiple Population-Based Provincial Health Administrative Databases. *The American Journal of Gastroenterology*, 112(7), 1120–1134. <https://doi.org/10.1038/ajg.2017.97>
- Benchimol, E. I., Fortinsky, K. J., Gozdyra, P., Van Den Heuvel, M., Van Limbergen, J., & Griffiths, A. M. (2011). Epidemiology of pediatric inflammatory bowel disease: A systematic review of international trends. *Inflammatory Bowel Diseases*, 17(1), 423–439. <https://doi.org/10.1002/ibd.21349>
- Bjarnason, I. (2017). The Use of Fecal Calprotectin in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology & Hepatology*, 13(1), 53–56.
- Bodini, G., Giannini, E. G., Savarino, V., Del, L., Lo, S., Brunacci, M., ... Tolone, S. (2018). Infliximab trough levels and persistent vs transient antibodies measured early after induction predict long-term clinical remission in patients with inflammatory bowel disease. *Digestive and Liver Disease*, 50(5), 452–456. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2017.11.008>
- Bolia, R., Rosenbaum, J., Schildkraut, V., Hardikar, W., Oliver, M., Cameron, D., & Alex, G. (2018). Secondary Loss of Response to Infliximab in Pediatric Crohn Disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 66(4), 637–640. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000001742>
- Borja-Cacho, D., & Matthews, J. (2008). Health Supervision in the Management of Children and Adolescents With IBD: NASPGHAN Recommendations. *Nano*, 6(9), 2166–2171. <https://doi.org/10.1021/nl061786n.Core-Shell>
- Borrelli, O., Cordischi, L., Cirulli, M., Paganelli, M., Labalestra, V., Uccini, S., ... Cucchiara, S. (2006). Polymeric diet alone versus corticosteroids in the treatment of active pediatric Crohn's disease: a randomized controlled open-label trial. *Clinical Gastroenterology and Hepatology : The Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association*, 4(6), 744–753. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2006.03.010>
- Bortlik, M., Duricova, D., Malickova, K., Machkova, N., Bouzkova, E., Hrdlicka, L., ... Lukas, M. (2013). Infliximab trough levels may predict sustained response to infliximab in patients with Crohn's disease. *Journal of Crohn's & Colitis*, 7(9), 736–743. <https://doi.org/10.1016/j.crohns.2012.10.019>
- Bortlik, M., Koh, P., Kone, M., Ko, J., Novotn, A., Zbo, V., ... Mat, P. (2016). Doporučení pro podávání biologické terapie u idiopatických střevních zánětů : třetí , aktualizované vydání Guidelines for the administration of biological therapy in patients with inflammatory bowel diseases : third , updated edition, 70(1), 11–27. <https://doi.org/10.14735/amgh201611>
- Boushey, H. A. J. (2001). Experiences with monoclonal antibody therapy for allergic asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 108(2 Suppl), S77-83.
- Bronský, J., Beránková, K., Černá, Z., Čopová, I., Ďuricová, D., Durilová, M., ... Ťuková, J. (2017). Doporučení Pracovní skupiny dětské gastroenterologie a výživy ČPS pro diagnostiku a léčbu idiopatických střevních zánětů u dětí - doplněk k 1. vydání. *Gastroenterologie a Hepatologie*, 71(1), 11–18. <https://doi.org/10.14735/amgh201711>
- Bronský, J., Beránková, K., Ěrná, Z., Copová, I., Ĥuricová, D., Durilová, M., ... Tuková, J. (2012). Doporučení Pracovní skupiny dětské gastroenterologie a výživy ČPS pro diagnostiku a léčbu idiopatických střevních zánátů u dětí - doplněk k 1. vydání. *Gastroenterologie a Hepatologie*, 71(1), 11–18. <https://doi.org/10.14735/amgh201711>
- Bunn, S. K., Bisset, W. M., Main, M. J., Gray, E. S., Olson, S., & Golden, B. E. (2001). Fecal calprotectin: validation as a noninvasive measure of bowel inflammation in childhood inflammatory bowel disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 33(1), 14–22.
- Burgess, C. J., Reilly, C., Steward-Harrison, L., Balouch, F., & Lewindon, P. J. (2018). Utility of proactive infliximab levels in paediatric Crohn's disease. *Archives of Disease in Childhood*.

- <https://doi.org/10.1136/archdischild-2018-315100>
- Burisch, J., & Munkholm, P. (2013). Inflammatory bowel disease epidemiology. *Current Opinion in Gastroenterology*, 29(4), 357–362. <https://doi.org/10.1097/MOG.0b013e32836229fb>
- Canani, R. B., de Horatio, L. T., Terrin, G., Romano, M. T., Miele, E., Staiano, A., ... Troncone, R. (2006). Combined use of noninvasive tests is useful in the initial diagnostic approach to a child with suspected inflammatory bowel disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 42(1), 9–15.
- Carlsen, A., Omdal, R., Leitao, K. Ø., Isaksen, K., Hetta, A. K., Karlsen, L. N., ... Grimstad, T. (2018). Subtherapeutic concentrations of infliximab and adalimumab are associated with increased disease activity in Crohn's disease, 1–11. <https://doi.org/10.1177/https>
- Carman, N., Mack, D. R., & Benchimol, E. I. (2018). Therapeutic Drug Monitoring in Pediatric Inflammatory Bowel Disease. <https://doi.org/10.1097/mpg.0000000000000455>.
- Carroccio, A., Iacono, G., Cottone, M., Di Prima, L., Cartabellotta, F., Cavataio, F., ... Aversa, M. R. (2003). Diagnostic accuracy of fecal calprotectin assay in distinguishing organic causes of chronic diarrhea from irritable bowel syndrome: a prospective study in adults and children. *Clinical Chemistry*, 49(6 Pt 1), 861–867.
- Castele, N Vande, Buurman, D. J., Sturkenboom, M. G. G., Kleibeuker, J. H., Vermeire, S., & Rispens, T. (2012). Detection of infliximab levels and anti-infliximab antibodies : a comparison of three different assays. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, (July), 765–771. <https://doi.org/10.1111/apt.12030>
- Castele, Niels Vande, Compennolle, G., Ballet, V., Van Assche, G., Gils, A., Vermeire, S., & Rutgeerts, P. J. (2012). Results on the Optimisation Phase of the Prospective Controlled Trough Level Adapted Infliximab Treatment (TAXIT) Trial. *Gastroenterology*, 142(5), S-211-S-212. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(12\)60792-6](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(12)60792-6)
- Castele, Niels Vande, Khanna, R., Levesque, B. G., Stitt, L., Zou, G. Y., Singh, S., ... Feagan, B. G. (2015). The relationship between infliximab concentrations, antibodies to infliximab and disease activity in Crohn's disease. *Gut*, 64(10), 1539–1545. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2014-307883>
- Catto-Smith, A., & Kansal, S. (2014). Pediatric Crohn's disease: epidemiology and emerging treatment options. *Pediatric Health, Medicine and Therapeutics*, Volume 5, 59. <https://doi.org/10.2147/PHMT.S45509>
- Chanchlani, N., Mortier, K., Williams, L. J., Muhammed, R., Auth, M. K. H., Cosgrove, M., ... Russell, R. K. (2018). Use of Infliximab Biosimilar Versus Originator in a Pediatric United Kingdom Inflammatory Bowel Disease Induction Cohort. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 67(4), 513–519. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000002011>
- Chaparro, M., & Gisbert, J. P. (2014). How safe is infliximab therapy during pregnancy and lactation in inflammatory bowel disease? *Expert Opinion on Drug Safety*, 13(12), 1749–1762. <https://doi.org/10.1517/14740338.2014.959489>
- Cheng, J., Hamilton, Z., Smyth, M., Barker, C., Israel, D., & Jacobson, K. (2017). Concomitant Therapy with Immunomodulator Enhances Infliximab Durability in Pediatric Inflammatory Bowel Disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 23(10), 1762–1773. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000001212>
- Choi, S. Y., Kang, B., Lee, J. H., & Choe, Y. H. (2017). Clinical Use of Measuring Trough Levels and Antibodies against Infliximab in Patients with Pediatric Inflammatory Bowel Disease, 11(1), 55–61.
- Church, P. C., Guan, J., Walters, T. D., Frost, K., Assa, A., Muise, A. M., & Griffiths, A. M. (2014). Infliximab maintains durable response and facilitates catch-up growth in luminal pediatric Crohn's disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 20(7), 1177–1186. <https://doi.org/10.1097/MIB.000000000000083>
- Cleynen, I., & Vermeire, S. (2012). Paradoxical inflammation induced by anti-TNF agents in patients with IBD. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*, 9(9), 496–503. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2012.125>
- Cohen, L. B., Nanau, R. M., Delzor, F., & Neuman, M. G. (2014). Biologic therapies in inflammatory bowel disease. *Translational Research*, 163(6), 533–556. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2014.01.002>
- Cornillie, F., Hanauer, S. B., Diamond, R. H., Wang, J., Tang, K. L., Xu, Z., ... Vermeire, S. (2014).

- Postinduction serum infliximab trough level and decrease of C-reactive protein level are associated with durable sustained response to infliximab: A retrospective analysis of the ACCENT I trial. *Gut*, 63(11), 1721–1727. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-304094>
- Corstjens, P. L. A. M., Fidler, H. H., Wiesmeijer, K. C., Dood, C. J. De, Rispens, T., Wolbink, G., ... Tanke, H. J. (2013). A rapid assay for on-site monitoring of infliximab trough levels : a feasibility study, 7367–7375. <https://doi.org/10.1007/s00216-013-7154-0>
- Crandall, W V, & Mackner, L. M. (2003). Infusion reactions to infliximab in children and adolescents: frequency, outcome and a predictive model. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 17(1), 75–84.
- Crandall, Wallace, Hyams, J., Kugathasan, S., Griffiths, A., Zrubek, J., Olson, A., ... Baldassano, R. N. (2009). Infliximab therapy in children with concurrent perianal Crohn disease: observations from REACH. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 49(2), 183–190. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e3181a70f21>
- Cunningham-Rundles, S., McNeeley, D. F., & Moon, A. (2005). Mechanisms of nutrient modulation of the immune response. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 115(6), 1119–1128; quiz 1129. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2005.04.036>
- Däbritz, J., Gerner, P., Enninger, A., Claßen, M., & Radke, M. (2017). Inflammatory Bowel Disease in Childhood and Adolescence. *Deutsches Aerzteblatt Online*. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2017.0331>
- Dale, I., Fagerhol, M. K., & Naesgaard, I. (1983). Purification and partial characterization of a highly immunogenic human leukocyte protein, the L1 antigen. *European Journal of Biochemistry*, 134(1), 1–6.
- Day, A. S., Ledder, O., Leach, S. T., Lemberg, D. A., Day, A. S., Ledder, O., & Lemberg, D. A. (2012). Crohn's and colitis in children and adolescents, 18(41), 5862–5869. <https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i41.5862>
- de Bie, C. I., Escher, J. C., & de Ridder, L. (2012). Antitumor necrosis factor treatment for pediatric inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 18(5), 985–1002. <https://doi.org/10.1002/ibd.21871>
- de Bie, C. I., Paerregaard, A., Kolacek, S., Ruemmele, F. M., Koletzko, S., Fell, J. M. E., & Escher, J. C. (2013). Disease phenotype at diagnosis in pediatric Crohn's disease: 5-year analyses of the EUROKIDS Registry. *Inflammatory Bowel Diseases*, 19(2), 378–385. <https://doi.org/10.1002/ibd.23008>
- de Ridder, L., Turner, D., Wilson, D. C., Koletzko, S., Martin-de-Carpi, J., Fagerberg, U. L., ... Levine, A. (2014). Malignancy and mortality in pediatric patients with inflammatory bowel disease: a multinational study from the porto pediatric IBD group. *Inflammatory Bowel Diseases*, 20(2), 291–300. <https://doi.org/10.1097/01.MIB.0000439066.69340.3c>
- de Zoeten, E., & Mamula, P. (2008). What are the guidelines for using biologics in pediatric patients? *Inflammatory Bowel Diseases*, 14, S259–S261. <https://doi.org/10.1002/ibd.20653>
- Defilippis, E. M., Sockolow, R., & Barfi, E. (2016). Health Care Maintenance for the Pediatric Patient With Inflammatory Bowel Disease, 138(3). <https://doi.org/10.1542/peds.2015-1971>
- Deora, V., Kozak, J., El-Kalla, M., Huynh, H. Q., & El-Matary, W. (2017). Therapeutic drug monitoring was helpful in guiding the decision-making process for children receiving infliximab for inflammatory bowel disease. *Acta Paediatrica (Oslo, Norway : 1992)*, 106(11), 1863–1867. <https://doi.org/10.1111/apa.14008>
- Diamanti, A., Panetta, F., Basso, M. S., Forgione, A., Colistro, F., Bracci, F., ... Castro, M. (2010). Diagnostic work-up of inflammatory bowel disease in children: the role of calprotectin assay. *Inflammatory Bowel Diseases*, 16(11), 1926–1930. <https://doi.org/10.1002/ibd.21257>
- Dolinsek, J., Riznik, P., Sabath, L., & Micetic-Turk, D. (2016). Fecal calprotectin as a marker of the severity of mucosal inflammation in children with inflammatory bowel disease. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 128(7–8), 253–259. <https://doi.org/10.1007/s00508-015-0915-3>
- Dotan, I., Ron, Y., Yanai, H., Becker, S., & Fishman, S. (2014). Patient Factors That Increase In fl iximab Clearance and Shorten Half-life in In fl ammatory Bowel Disease : A Population Pharmacokinetic

- Study, 20(12), 24–26. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000212>
- Drobne, D., Bossuyt, P., Breynaert, C., Cattaert, T., Vande Casteele, N., Compernelle, G., ... Van Assche, G. (2015). Withdrawal of immunomodulators after co-treatment does not reduce trough level of infliximab in patients with Crohn's disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology : The Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association*, 13(3), 514-521.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2014.07.027>
- Dubinsky, M. C., Mei, L., Friedman, M., Dhere, T., Haritunians, T., Hakonarson, H., ... Rotter, J. I. (2010). Genome wide association (GWA) predictors of anti-TNFalpha therapeutic responsiveness in pediatric inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 16(8), 1357–1366. <https://doi.org/10.1002/ibd.21174>
- Dubinsky, M. C., Phan, B. L., Singh, N., Rabizadeh, S., & Mould, D. R. (2017). Pharmacokinetic Dashboard-Recommended Dosing Is Different than Standard of Care Dosing in In fl iximab-Treated Pediatric IBD Patients. *The AAPS Journal*, 19(1). <https://doi.org/10.1208/s12248-016-9994-y>
- Dulai, P. S., Thompson, K. D., Blunt, H. B., Dubinsky, M. C., & Siegel, C. A. (2014). Risks of serious infection or lymphoma with anti-tumor necrosis factor therapy for pediatric inflammatory bowel disease: a systematic review. *Clinical Gastroenterology and Hepatology : The Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association*, 12(9), 1443–1449. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2014.01.021>
- Duricova, D., Pedersen, N., Lenicek, M., Hradsky, O., Bronsky, J., Adamcova, M., ... Munkholm, P. (2009). Infliximab dependency in children with Crohn's disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 29(7), 792–799. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2009.03926.x>
- Duricova, Dana, Dvorakova, E., Hradsky, O., Mitrova, K., Durilova, M., Kozeluhova, J., ... Lukas, M. (2019). Safety of anti-Tnf-Alpha therapy during pregnancy on long-Term outcome of exposed children: A controlled, multicenter observation. *Inflammatory Bowel Diseases*, 25(4), 789–796. <https://doi.org/10.1093/ibd/izy294>
- Edwards, J. C. W., Szczepanski, L., Szechinski, J., Filipowicz-Sosnowska, A., Emery, P., Close, D. R., ... Shaw, T. (2004). Efficacy of B-cell-targeted therapy with rituximab in patients with rheumatoid arthritis. *The New England Journal of Medicine*, 350(25), 2572–2581. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa032534>
- Escher, J. C., Taminau, J. A. J. M., Nieuwenhuis, E. E. S., Büller, H. A., & Grand, R. J. (2003). Treatment of Inflammatory Bowel Disease in Childhood: Best Available Evidence. *Inflammatory Bowel Diseases*, 9(1), 34–58. <https://doi.org/10.1097/00054725-200301000-00006>
- F.M., R., G., V. V., K.L., K., A., G., A., L., J.C., E., ... Turner, D. (2014). Consensus guidelines of ECCO/ESPGHAN on the medical management of pediatric Crohn's disease. *Journal of Crohn's and Colitis*, 8(10), 1179–1207. <https://doi.org/10.1016/j.crohns.2014.04.005>
- Fabian, O., Hradsky, O., Potuznikova, K., Kalfusova, A., Krskova, L., Hornofova, L., ... Bronsky, J. (2017). Pathology – Research and Practice Low predictive value of histopathological scoring system for complications development in children with Crohn ' s disease. *Pathology -- Research and Practice*, 213(4), 353–358. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2017.01.009>
- Fagerberg, U. L., Loof, L., Lindholm, J., Hansson, L.-O., & Finkel, Y. (2007). Fecal calprotectin: a quantitative marker of colonic inflammation in children with inflammatory bowel disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 45(4), 414–420. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e31810e75a9>
- Feagan, B. G., Singh, S., Lockton, S., Hauenstein, S., Ohrmund, L., Croner, L. J., ... Vermeire, S. (2012). Novel Infliximab (IFX) and Antibody-to-Infliximab (ATI) Assays are Predictive of Disease Activity in Patients With Crohn's Disease (CD). *Gastroenterology*, 142(5), S-114. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(12\)60430-2](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(12)60430-2)
- Feldman, T. L., & Rosh, J. R. (2009). In fl iximab in the treatment of pediatric Crohn ' s disease, 15–22.
- Feuerstein, J. D., Nguyen, G. C., Kupfer, S. S., & Falck-ytter, Y. (2017). American Gastroenterological Association Institute Guideline on, 827–834. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.07.032>
- Fidder, H., Schnitzler, F., Ferrante, M., Noman, M., Katsanos, K., Segaert, S., ... Rutgeerts, P. (2009). Long-term safety of infliximab for the treatment of inflammatory bowel disease : a single-centre cohort



- study, 501–508. <https://doi.org/10.1136/gut.2008.163642>
- Frederiksen, M. T., Ainsworth, M. A., Brynskov, J., Thomsen, O. O., Bendtzen, K., & Steenholdt, C. (2014). Antibodies against infliximab are associated with de novo development of antibodies to adalimumab and therapeutic failure in infliximab-to-adalimumab switchers with IBD. *Inflammatory Bowel Diseases*, 20(10), 1714–1721. <https://doi.org/10.1097/MIB.000000000000138>
- Frymoyer, A., Piester, T. L., & Park, K. T. (2016). Infliximab Dosing Strategies and Predicted Trough Exposure in Children With Crohn Disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 62(5), 723–727. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000001123>
- Ghosh, S., Goldin, E., Gordon, F. H., Malchow, H. A., Rask-Madsen, J., Rutgeerts, P., ... Donoghue, S. (2003). Natalizumab for active Crohn's disease. *The New England Journal of Medicine*, 348(1), 24–32. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa020732>
- Gionchetti, P., Dignass, A., Danese, S., Dias, F. J. M., Rogler, G., Lakatos, P. L., ... Aldis, P. (2017). 3rd European evidence-based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease 2016: Part 2: Surgical management and special situations. *Journal of Crohn's and Colitis*, 11(2), 135–149. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjw169>
- Gisbert, J. P., & Domenech, E. (2015). [Vedolizumab in the treatment of Crohn's disease]. *Gastroenterologia y hepatologia*, 38(5), 338–348. <https://doi.org/10.1016/j.gastrohep.2014.12.003>
- Gomez-Reino, J. J., Carmona, L., & Angel Descalzo, M. (2007). Risk of tuberculosis in patients treated with tumor necrosis factor antagonists due to incomplete prevention of reactivation of latent infection. *Arthritis and Rheumatism*, 57(5), 756–761. <https://doi.org/10.1002/art.22768>
- Gomollón, F., Dignass, A., Annese, V., Tilg, H., Assche, G. Van, Lindsay, J. O., ... Gionchetti, P. (2018). ECCO Guideline / Consensus Paper 3rd European Evidence-based Consensus on the Diagnosis and Management of Crohn's Disease 2016 : Part 1 : Diagnosis and Medical Management, (September), 3–25. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjw168>
- Gomollón, F., Dignass, A., Annese, V., Tilg, H., Van Assche, G., Lindsay, J. O., ... Irving, P. (2017). 3rd European evidence-based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease 2016: Part 1: Diagnosis and medical management. *Journal of Crohn's and Colitis*, 11(1), 3–25. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjw168>
- Gouldthorpe, O., Catto-Smith, A. G., & Alex, G. (2011). Biologics in paediatric Crohn's disease. *Gastroenterology Research and Practice*, 2011. <https://doi.org/10.1155/2011/287574>
- Greener, T., Boland, K., Steinhart, A. H., & Silverberg, M. S. (2018). The Unfinished Symphony: Golimumab Therapy for Anti-Tumour Necrosis Factor Refractory Crohn's Disease. *Journal of Crohn's & Colitis*, 12(4), 458–464. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjx176>
- Grossi, V., Lerer, T., Griffiths, A., LeLeiko, N., Cabrera, J., Otle, A., ... Hyams, J. S. (2015). Concomitant Use of Immunomodulators Affects the Durability of Infliximab Therapy in Children With Crohn's Disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology : The Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association*, 13(10), 1748–1756. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2015.04.010>
- Guariso, G., & Gasparetto, M. (2017). Treating children with inflammatory bowel disease: Current and new perspectives. *World Journal of Gastroenterology*, 23(30), 5469–5485. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i30.5469>
- Guiotto, C., Daperno, M., Frigerio, F., Vizzini, M., Cerruti, R., Ercole, E., ... Rocca, R. (2016). Clinical relevance and inter-test reliability of anti-infliximab antibodies and infliximab trough levels in patients with inflammatory bowel disease. *Digestive and Liver Disease : Official Journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*, 48(2), 138–143. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2015.10.023>
- Guo, Y., Lu, N., & Bai, A. (2013). Clinical use and mechanisms of infliximab treatment on inflammatory bowel disease: a recent update., 2013.
- Haens, G. D., Vermeire, S., Lambrecht, G., Baert, F., Bossuyt, P., Pariente, B., ... Louis, E. (2018). Increasing Infliximab Dose Based on Symptoms, Biomarkers, and Serum Drug Concentrations Does Not Increase Clinical, Endoscopic, and Corticosteroid-Free Remission in Patients With Active Luminal Crohn's Disease, 1343–1351. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.01.004>

- Hämäläinen, A., Sipponen, T., & Kolho, K. L. (2013). Serum infliximab concentrations in pediatric inflammatory bowel disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, *48*(1), 35–41. <https://doi.org/10.3109/00365521.2012.741619>
- Hansen, L. F., Jakobsen, C., Paerregaard, A., Qvist, N., & Wewer, V. (2015). Surgery and postoperative recurrence in children with Crohn disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, *60*(3), 347–351. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000000616>
- Harbord, M., Eliakim, R., Bettenworth, D., Karmiris, K., Katsanos, K., Kopylov, U., ... Carbonnel, F. (2017). Corrigendum: Third European Evidence-based Consensus on Diagnosis and Management of Ulcerative Colitis. Part 2: Current Management. *Journal of Crohn's & Colitis*, *11*(12), 1512. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjx105>
- Hartman, C., Eliakim, R., & Shamir, R. (2009). Nutritional status and nutritional therapy in inflammatory bowel diseases. *World Journal of Gastroenterology*, *15*(21), 2570–2578.
- Helwig, U., Muller, M., Hedderich, J., & Schreiber, S. (2012). Corticosteroids and immunosuppressive therapy influence the result of QuantiFERON TB Gold testing in inflammatory bowel disease patients. *Journal of Crohn's & Colitis*, *6*(4), 419–424. <https://doi.org/10.1016/j.crohns.2011.09.011>
- Henderson, P., Casey, A., Lawrence, S. J., Kennedy, N. A., Kingstone, K., Rogers, P., ... Wilson, D. C. (2012). The diagnostic accuracy of fecal calprotectin during the investigation of suspected pediatric inflammatory bowel disease. *The American Journal of Gastroenterology*, *107*(6), 941–949. <https://doi.org/10.1038/ajg.2012.33>
- Hernández, D., Lara, F., Inmaculada, V., Torre, D., Carlos, J., Martínez, L., ... Carreño, L. (2015). Comparison of two ELISA versions for infliximab serum levels in patients diagnosed with ankylosing spondylitis Diana. *Rheumatology International*, 1021–1025. <https://doi.org/10.1007/s00296-014-3180-2>
- Hiremath, G., Duffy, L., & Leibowitz, I. (2011). Infliximab-induced psoriasis in children with inflammatory bowel disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, *52*(2), 230–232. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e3181f3d9ab>
- Hoekman, D. R., Brandse, J. F., de Meij, T. G., Hummel, T. Z., Lowenberg, M., Benninga, M. A., ... Kindermann, A. (2015). The association of infliximab trough levels with disease activity in pediatric inflammatory bowel disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, *50*(9), 1110–1117. <https://doi.org/10.3109/00365521.2015.1027264>
- Hoeve, K. Van, Dreesen, E., Hoffman, I., Assche, G. Van, Ferrante, M., & Gils, A. (2018). Higher Infliximab Trough Levels Are Associated With Better Outcome in Paediatric Patients With Inflammatory Bowel Disease, 1–10. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjy111>
- Hofmekler, T., Bertha, M., McCracken, C., Martineau, B., McKinnon, E., Schoen, B. T., ... Sauer, C. G. (2017). Infliximab Optimization Based on Therapeutic Drug Monitoring in Pediatric Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, *64*(4), 580–585. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000001302>
- Hradsky, O., Lenicek, M., Dusatkova, P., Bronsky, J., Nevorál, J., Valtrova, V., ... Cinek, O. (2008). Variants of CARD15, TNFA and PTPN22 and susceptibility to Crohn's disease in the Czech population: high frequency of the CARD15 1007fs. *Tissue Antigens*, *71*(6), 538–547. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2008.01047.x>
- Hradsky, Ondrej, Copova, I., Zarubova, K., Nevorál, J., & Bronsky, J. (2016). Time to Relapse in Children with Crohn's Disease Treated with Azathioprine and Nutritional Therapy or Corticosteroids. *Digestive Diseases and Sciences*, *61*(7), 2041–2050. <https://doi.org/10.1007/s10620-016-4103-8>
- Hradsky, Ondrej, Dusatkova, P., Lenicek, M., Bronsky, J., Duricova, D., Nevorál, J., ... Cinek, O. (2011). Two independent genetic factors responsible for the associations of the IBD5 locus with Crohn's disease in the Czech population. *Inflammatory Bowel Diseases*, *17*(7), 1523–1529. <https://doi.org/10.1002/ibd.21532>
- Hradsky, Ondrej, Ohem, J., Mitrova, K., Durilova, M., Kotalova, R. A., Nevorál, J., ... Bronsky, J. (2014). Fecal calprotectin levels in children is more tightly associated with histological than with macroscopic endoscopy findings. *Clinical Laboratory*, *60*(12), 1993–2000. <https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2014.140203>

- Hradsky, Ondrej, Ohem, J., Zarubova, K., Mitrova, K., Durilova, M., Kotalova, R., ... Bronsky, J. (2014). Disease activity is an important factor for indeterminate interferon- $\gamma$  release assay results in children with inflammatory bowel disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 58(3), 320–324. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000000205>
- Humira. (2018). Humira, summary of product characteristics. Retrieved from [http://www.ema.europa.eu/docs/cs\\_CZ/document\\_library/EPAR\\_-\\_Product\\_Information/human/000481/WC500050870.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/cs_CZ/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000481/WC500050870.pdf)
- Hyams, J., Crandall, W., Kugathasan, S., Griffiths, A., Olson, A., Johanns, J., ... Baldassano, R. (2007). Induction and Maintenance Infliximab Therapy for the Treatment of Moderate-to-Severe Crohn's Disease in Children, 863–873. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2006.12.003>
- Hyams, J., Markowitz, J., Otley, A., Rosh, J., Mack, D., Bousvaros, A., ... Griffiths, A. (2005). Evaluation of the Pediatric Crohn Disease Activity Index : A Prospective Multicenter Experience, (October), 416–421.
- Hyams, J S, Ferry, G. D., Mandel, F. S., Gryboski, J. D., Kibort, P. M., Kirschner, B. S., ... Boyle, J. T. (1991). Development and validation of a pediatric Crohn's disease activity index. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 12(4), 439–447.
- Hyams, Jeffrey S, Griffiths, A., Markowitz, J., Baldassano, R. N., Faubion, W. A. J., Colletti, R. B., ... Lazar, A. (2012). Safety and efficacy of adalimumab for moderate to severe Crohn's disease in children. *Gastroenterology*, 143(2), 365-74.e2. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.04.046>
- Hyams, Jeffrey S, Lerer, T., Griffiths, A., Pfefferkorn, M., Kugathasan, S., Evans, J., ... Markowitz, J. (2009). Long-term outcome of maintenance infliximab therapy in children with Crohn's disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 15(6), 816–822. <https://doi.org/10.1002/ibd.20845>
- Ideström, M., Rubio, C. A., Onelöv, E., Henter, J., Ulrika, L., Finkel, Y., ... Henter, J. (2014). Pediatric Crohn's disease from onset to adulthood : granulomas are associated with an early need for immunomodulation, 5521(May). <https://doi.org/10.3109/00365521.2014.920911>
- Imaeda, H., Bamba, S., Takahashi, K., Fujimoto, T., Ban, H., Tsujikawa, T., ... Andoh, A. (2014). Relationship between serum infliximab trough levels and endoscopic activities in patients with Crohn's disease under scheduled maintenance treatment. *Journal of Gastroenterology*, 49(4), 674–682. <https://doi.org/10.1007/s00535-013-0829-7>
- Inflammatory bowel disease in children and adolescents: recommendations for diagnosis--the Porto criteria. (2005). *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 41(1), 1–7.
- Jacobstein, D. A., Markowitz, J. E., Kirschner, B. S., Ferry, G., Cohen, S. A., Gold, B. D., ... Baldassano, R. N. (2005). Premedication and infusion reactions with infliximab: results from a pediatric inflammatory bowel disease consortium. *Inflammatory Bowel Diseases*, 11(5), 442–446.
- Jarkovský, J., Benešová, K., Hejduk, K., Dušek, L., & Lukáš, M. (2017). Epidemiology, hospitalization and migration of patients with IBD under specialized care in the Czech Republic. *Gastroenterologie a Hepatologie*, 71(6), 501–509. <https://doi.org/10.14735/amgh2017501>
- Jauregui-Amezaga, A., Somers, M., De Schepper, H., & Macken, E. (2017). Next generation of biologics for the treatment of Crohn's disease: an evidence-based review on ustekinumab. *Clinical and Experimental Gastroenterology*, Volume 10, 293–301. <https://doi.org/10.2147/CEG.S110546>
- Jenkins, J. (2009). BY NASPGHAN AND CDHNF A Case-Based Monograph Focusing on Pediatric IBD.
- Josse, M. E., Samsom, J. N., van der Woude, C. J., Escher, J. C., & van Gelder, T. (2015). The Role of Therapeutic Drug Monitoring of Anti-Tumor Necrosis Factor Alpha Agents in Children and Adolescents with Inflammatory Bowel Disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 21(9), 2214–2221. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000420>
- Jurgens, M., Mahachie John, J. M., Cleynen, I., Schnitzler, F., Fidler, H., van Moerkercke, W., ... Vermeire, S. (2011). Levels of C-reactive protein are associated with response to infliximab therapy in patients with Crohn's disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology : The Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association*, 9(5), 421-7.e1. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2011.02.008>
- K.T., T., E.V., L. J., & W.J., S. (2008). An update on the epidemiology of inflammatory bowel disease in Asia. *American Journal of Gastroenterology*, 103(12), 3167–3182. Retrieved from

<http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed11&NEWS=N&AN=354059902>

- Kandiel, A., Fraser, A. G., Korelitz, B. I., Brensinger, C., & Lewis, J. D. (2005). Increased risk of lymphoma among inflammatory bowel disease patients treated with azathioprine and 6-mercaptopurine. *Gut*, *54*(8), 1121–1125. <https://doi.org/10.1136/gut.2004.049460>
- Kane, S. V, Horst, S., Sandborn, W. J., Becker, B., Neis, B., Moschandrew, M., ... Loftus, E. V. (2012). Natalizumab for moderate to severe Crohn's disease in clinical practice: the Mayo Clinic Rochester experience. *Inflammatory Bowel Diseases*, *18*(12), 2203–2208. <https://doi.org/10.1002/ibd.22943>
- Kang, B., & Choe, Y. H. (2018). Early Biologic Treatment in Pediatric Crohn's Disease: Catching the Therapeutic Window of Opportunity in Early Disease by Treat-to-Target. *Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition*, *21*(1), 1. <https://doi.org/10.5223/pghn.2018.21.1.1>
- Kang, B., Choi, S. Y., Kim, H. S., Kim, K., Lee, Y. M., & Choe, Y. H. (2016). Mucosal Healing in Paediatric Patients with Moderate-to-Severe Luminal Crohn's Disease Under Combined Immunosuppression: Escalation versus Early Treatment. *Journal of Crohn's & Colitis*, *10*(11), 1279–1286. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjw086>
- Kang, B., Choi, Y., Choi, O., & Kim, M. (2018). Subtherapeutic Infliximab Trough Levels and Complete Mucosal Healing Are Associated With Sustained Clinical Remission After Infliximab Cessation in Paediatric-onset Crohn's Disease Patients Treated With Combined Immunosuppressive Therapy, 644–652. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjy021>
- Kansal, S., Wagner, J., Kirkwood, C. D., & Catto-Smith, A. G. (2013). Enteral nutrition in Crohn's disease: An underused therapy. *Gastroenterology Research and Practice*, *2013*. <https://doi.org/10.1155/2013/482108>
- Kansen, H. M., van Rheeën, P. F., Houwen, R. H. J., Tjon A Ten, W., Damen, G. M., Kindermann, A., ... Wolters, V. M. (2017). Less Anti-infliximab Antibody Formation in Paediatric Crohn Patients on Concomitant Immunomodulators. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, *65*(4), 425–429. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000001551>
- Kappelman, M. D., Moore, K. R., Allen, J. K., & Cook, S. F. (2013). Recent trends in the prevalence of Crohn's disease and ulcerative colitis in a commercially insured US population. *Digestive Diseases and Sciences*, *58*(2), 519–525. <https://doi.org/10.1007/s10620-012-2371-5>
- Karmiris, K., Paintaud, G., Noman, M., Magdelaine-Beuzelin, C., Ferrante, M., Degenne, D., ... Rutgeerts, P. (2009). Influence of trough serum levels and immunogenicity on long-term outcome of adalimumab therapy in Crohn's disease. *Gastroenterology*, *137*(5), 1628–1640. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.07.062>
- Katz, L., Gisbert, J. P., Manoogian, B., Lin, K., Steenholdt, C., Mantzaris, G. J., ... Ben-Horin, S. (2012). Doubling the infliximab dose versus halving the infusion intervals in Crohn's disease patients with loss of response. *Inflammatory Bowel Diseases*, *18*(11), 2026–2033. <https://doi.org/10.1002/ibd.22902>
- Keane, J., Gershon, S., Wise, R. P., Mirabile-Levens, E., Kasznica, J., Schwieterman, W. D., ... Braun, M. M. (2001). Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha-neutralizing agent. *The New England Journal of Medicine*, *345*(15), 1098–1104. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa011110>
- Kelsen, J. R., Grossman, A. B., Pauly-Hubbard, H., Gupta, K., Baldassano, R. N., & Mamula, P. (2014). Infliximab therapy in pediatric patients 7 years of age and younger. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, *59*(6), 758–762. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000000533>
- Kestens, C., van Oijen, M. G. H., Mulder, C. L. J., van Bodegraven, A. A., Dijkstra, G., de Jong, D., ... Oldenburg, B. (2013). Adalimumab and infliximab are equally effective for Crohn's disease in patients not previously treated with anti-tumor necrosis factor-alpha agents. *Clinical Gastroenterology and Hepatology : The Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association*, *11*(7), 826–831. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2013.01.012>
- Khan, N., Asim, H., & Lichtenstein, G. R. (2014). Safety of anti-TNF therapy in inflammatory bowel disease during pregnancy. *Expert Opinion on Drug Safety*, *13*(12), 1699–1708. <https://doi.org/10.1517/14740338.2014.973399>

- Kierkuś, J., Iwańczak, B., Wegner, A., Dadalski, M., Grzybowska-Chlebowczyk, U., Łazowska, I., ... Śladek, M. (2015). Monotherapy with infliximab versus combination therapy in the maintenance of clinical remission in children with moderate to severe Crohn disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 60(5), 580–585. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000000684>
- Kim, S. (2017). Surgery in Pediatric Crohn's Disease: Indications, Timing and Post-Operative Management. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr March*, 20114(201), 2234–864614. <https://doi.org/10.5223/pghn.2017.20.1.14>
- Klotz, U., Teml, A., & Schwab, M. (2007). Clinical Pharmacokinetics and Use of Infliximab, 46(8), 645–660.
- Koczula, K. M., & Gallotta, A. (2016). Lateral flow assays, (June), 111–120. <https://doi.org/10.1042/EBC20150012>
- Koga, A., Matsui, T., Takatsu, N., Takada, Y., Kishi, M., Yano, Y., ... Hisabe, T. (2018). Trough level of infliximab is useful for assessing mucosal healing in Crohn's disease : a prospective cohort study, 16(2), 223–232.
- Kolek, A., Janout, V., Tichy, M., & Grepl, M. (2004, March). The incidence of inflammatory bowel disease is increasing among children 15 years old and younger in the Czech Republic. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. United States. <https://doi.org/10.1097/00005176-200403000-00028>
- Kolho, K. L., Turner, D., Veereman-Wauters, G., Sladek, M., de Ridder, L., Shaoul, R., ... Veres, G. (2012). Rapid test for fecal calprotectin levels in children with Crohn disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 55(4), 436–439. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e318253cff1>
- Kon, O. M., Sihra, B. S., Compton, C. H., Leonard, T. B., Kay, A. B., & Barnes, N. C. (1998). Randomised, dose-ranging, placebo-controlled study of chimeric antibody to CD4 (keliximab) in chronic severe asthma. *Lancet (London, England)*, 352(9134), 1109–1113. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(97\)12261-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(97)12261-9)
- Kopylov, U., Mantzaris, G. J., Katsanos, K. H., Reenaers, C., Ellul, P., Rahier, J. F., ... Ben-Horin, S. (2011). The efficacy of shortening the dosing interval to once every six weeks in Crohn's patients losing response to maintenance dose of infliximab. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 33(3), 349–357. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2010.04523.x>
- Kostakis, I. D., Cholidou, K. G., Vaiopoulos, A. G., Vlachos, I. S., Perrea, D., & Vaos, G. (2013). Fecal calprotectin in pediatric inflammatory bowel disease: a systematic review. *Digestive Diseases and Sciences*, 58(2), 309–319. <https://doi.org/10.1007/s10620-012-2347-5>
- Kremer, J. M., Westhovens, R., Leon, M., Di Giorgio, E., Alten, R., Steinfeld, S., ... Moreland, L. W. (2003). Treatment of rheumatoid arthritis by selective inhibition of T-cell activation with fusion protein CTLA4lg. *The New England Journal of Medicine*, 349(20), 1907–1915. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa035075>
- Kumar, A., Auron, M., Aneja, A., Mohr, F., Jain, A., & Shen, B. (2011). Inflammatory bowel disease: perioperative pharmacological considerations. *Mayo Clinic Proceedings*, 86(8), 748–757. <https://doi.org/10.4065/mcp.2011.0074>
- Kuznetsova, A., Brockhoff, P. B., & Christensen, R. H. B. (2017). ImerTest Package: Tests in Linear Mixed Effects Models. *Journal of Statistical Software; Vol 1, Issue 13 (2017)* . Retrieved from <https://www.jstatsoft.org/v082/i13>
- Lahad, A. (2015). Current therapy of pediatric Crohn's disease. *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*, 6(2), 33. <https://doi.org/10.4291/wjgp.v6.i2.33>
- Lahdenne, P., Wikstrom, A. M., Aalto, K., & Kolho, K. L. (2010). Prevention of acute adverse events related to infliximab infusions in pediatric patients. *Arthritis Care & Research*, 62(6), 785–790. <https://doi.org/10.1002/acr.20246>
- Lebl J., Janda J., Stary J., P. P. (2014). *Klinická pediatrie*. Prague: Grada.
- Leckie, M. J., ten Brinke, A., Khan, J., Diamant, Z., O'Connor, B. J., Walls, C. M., ... Barnes, P. J. (2000). Effects of an interleukin-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hyper-responsiveness, and the late asthmatic response. *Lancet (London, England)*, 356(9248), 2144–2148.

- LeDell, E., Petersen, M., & van der Laan, M. (2015). Computationally efficient confidence intervals for cross-validated area under the ROC curve estimates. *Electronic Journal of Statistics*, 9(1), 1583–1607. <https://doi.org/10.1214/15-EJS1035>
- Lega, S., Bramuzzo, M., & Dubinsky, M. C. (2018). Therapeutic Drug Monitoring in Pediatric IBD: Current Application and Future Perspectives, 2840–2854. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170911163021>
- Lerchova, T., Hradsky, O., Copova, I., Potuznikova, K., Gonsorcikova, L., & Bronsky, J. (2019). The Accuracy of a Home-performed Faecal Calprotectin Bowel Disease, 69(1), 75–81. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000002331>
- Levine, A., Griffiths, A., Markowitz, J., Wilson, D. C., Turner, D., Russell, R. K., ... Hyams, J. S. (2011). Pediatric modification of the Montreal classification for inflammatory bowel disease: the Paris classification. *Inflammatory Bowel Diseases*, 17(6), 1314–1321. <https://doi.org/10.1002/ibd.21493>
- Levine, A., Koletzko, S., Turner, D., Escher, J. C., Cucchiara, S., de Ridder, L., ... Wilson, D. C. (2014). ESPGHAN revised porto criteria for the diagnosis of inflammatory bowel disease in children and adolescents. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 58(6), 795–806. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000000239>
- Levine, A., Wine, E., Assa, A., Sigall Boneh, R., Shaoul, R., Kori, M., ... Van Limbergen, J. (2019). Crohn's Disease Exclusion Diet Plus Partial Enteral Nutrition Induces Sustained Remission in a Randomized Controlled Trial. *Gastroenterology*, 157(2), 440-450.e8. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.04.021>
- Licata, A., Randazzo, C., Cappello, M., Calvaruso, V., Butera, G., Florena, A. M., ... Craxi, A. (2012). Faecal calprotectin in clinical practice: a noninvasive screening tool for patients with chronic diarrhea. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 46(6), 504–508. <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e318248f289>
- Limburg, P. J., Ahlquist, D. A., Sandborn, W. J., Mahoney, D. W., Devens, M. E., Harrington, J. J., & Zinsmeister, A. R. (2000). Faecal calprotectin levels predict colorectal inflammation among patients with chronic diarrhea referred for colonoscopy. *The American Journal of Gastroenterology*, 95(10), 2831–2837. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2000.03194.x>
- Lin, Z., Bai, Y., & Zheng, P. (2011). Meta-analysis: efficacy and safety of combination therapy of infliximab and immunosuppressives for Crohn's disease. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 23(12), 1100–1110. <https://doi.org/10.1097/MEG.0b013e32834b9544>
- Liou, S.-N. C., & Tsokos, G. C. (2005). Monoclonal antibodies and fusion proteins in medicine. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 116(4), 721–729; quiz 730. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2005.06.035>
- Ludvigsson, J. F., Büsch, K., Olén, O., Askling, J., Smedby, K. E., Ekblom, A., ... Neovius, M. (2017). Prevalence of paediatric inflammatory bowel disease in Sweden: A nationwide population-based register study. *BMC Gastroenterology*, 17(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12876-017-0578-9>
- Lukáš, M., Ďuricová, D., Bortlík, M., Kohout, P., Konečný, M., Koželuhová, J., ... Drastich, P. (2013). Biologická terapie idiopatických střevních zánětů., 1–7.
- Luo, Y., Yu, J., Lou, J., Fang, Y., & Chen, J. (2017). Exclusive Enteral Nutrition versus Infliximab in Inducing Therapy of Pediatric Crohn's Disease. *Gastroenterology Research and Practice*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/6595048>
- Maaser, C., Langholz, E., Gordon, H., Burisch, J., Ellul, P., Ramirez, V. H., ... Annesse, V. (2017). European Crohn's and Colitis Organisation Topical Review on Environmental Factors in IBD. *Journal of Crohn's & Colitis*, 11(8), 905–920. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjw223>
- Magro, F., Gionchetti, P., Eliakim, R., Ardizzone, S., Armuzzi, A., Barreiro-de Acosta, M., ... Rieder, F. (2017). Third European evidence-based consensus on diagnosis and management of ulcerative colitis. Part 1: Definitions, diagnosis, extra-intestinal manifestations, pregnancy, cancer surveillance, surgery, and ileo-anal pouch disorders. *Journal of Crohn's and Colitis*, 11(6), 649–670. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjx008>
- Maini, R. N., Taylor, P. C., Paleolog, E., Charles, P., Ballara, S., Brennan, F. M., & Feldmann, M. (1999). Anti-tumour necrosis factor specific antibody (infliximab) treatment provides insights into the

- pathophysiology of rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 58 Suppl 1, I56-60.
- Maličková, K. (2017). Terapeutické monoklonální protilátky v klinické laboratoři. *Klin. Biochem. Metab*, 25(3), 101–107.
- Mao, R., Xiao, Y., Gao, X., Chen, B., He, Y., Yang, L., ... Chen, M. (2012). Fecal calprotectin in predicting relapse of inflammatory bowel diseases: a meta-analysis of prospective studies. *Inflammatory Bowel Diseases*, 18(10), 1894–1899. <https://doi.org/10.1002/ibd.22861>
- Maser, E. A., Vilella, R., Silverberg, M. S., & Greenberg, G. R. (2006). Association of trough serum infliximab to clinical outcome after scheduled maintenance treatment for Crohn's disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology : The Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association*, 4(10), 1248–1254. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2006.06.025>
- Merras-Salmio, L., & Kolho, K.-L. (2017). Clinical Use of Infliximab Trough Levels and Antibodies to Infliximab in Pediatric Patients With Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 64(2), 272–278. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000001258>
- Miele, E., Markowitz, J. E., Mamula, P., & Baldassano, R. N. (2004). Human Antichimeric Antibody in Children and Young Adults with Inflammatory Bowel Disease Receiving Infliximab. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 38(5), 502–508. <https://doi.org/10.1097/00005176-200405000-00008>
- Minar, P., Saeed, S. A., Afreen, M., Kim, M.-O., & Denson, L. A. (2016). Practical Use of Infliximab Concentration Monitoring in Pediatric Crohn Disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 62(5), 715–722. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000001029>
- Molander, P., af Bjorkesten, C.-G., Mustonen, H., Haapamaki, J., Vauhkonen, M., Kolho, K.-L., ... Sipponen, T. (2012). Fecal calprotectin concentration predicts outcome in inflammatory bowel disease after induction therapy with TNFalpha blocking agents. *Inflammatory Bowel Diseases*, 18(11), 2011–2017. <https://doi.org/10.1002/ibd.22863>
- Molodecky, N. A., Soon, I. S., Rabi, D. M., Ghali, W. A., Ferris, M., Chernoff, G., ... Kaplan, G. G. (2012). Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology*, 142(1), 46-54.e42; quiz e30. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.10.001>
- Nanda, K. S., Cheifetz, A. S., & Moss, A. C. (2013). Impact of antibodies to infliximab on clinical outcomes and serum infliximab levels in patients with inflammatory bowel disease (IBD): a meta-analysis. *The American Journal of Gastroenterology*, 108(1), 40–47; quiz 48. <https://doi.org/10.1038/ajg.2012.363>
- Naviglio, S., Lacorte, D., Lucafo, M., Cifu, A., Favretto, D., Cuzzoni, E., ... Martelossi, S. (2018). Causes of Treatment Failure In Children With Inflammatory Bowel Disease Treated With Infliximab: A Pharmacokinetic Study. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000002112>
- Neef, H. C., Riebschleger, M. P., & Adler, J. (2013). Meta-analysis: rapid infliximab infusions are safe. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 38(4), 365–376. <https://doi.org/10.1111/apt.12389>
- Nevoral, J. (2013). *Praktická pediatriká gastroenterologie, hepatologie a výživa*. Praha: Mladá Fronta.
- Nuti, F., Viola, F., Civitelli, F., Alessandri, C., Aloï, M., Dilillo, A., ... Cucchiara, S. (2014). Biological therapy in a pediatric crohn disease population at a referral center. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 58(5), 582–587. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000000276>
- Ohem, J., Hradsky, O., Zarubova, K., Copova, I., Bukovska, P., Prusa, R., ... Bronsky, J. (2017). Evaluation of Infliximab Therapy in Children with Crohn's Disease Using Trough Levels Predictors. *Digestive Diseases*, 36(1), 40–48. <https://doi.org/10.1159/000477962>
- Olafsdottir, E., Aksnes, L., Fluge, G., & Berstad, A. (2002). Faecal calprotectin levels in infants with infantile colic, healthy infants, children with inflammatory bowel disease, children with recurrent abdominal pain and healthy children. *Acta Paediatrica (Oslo, Norway : 1992)*, 91(1), 45–50.
- Oliva, S., Thomson, M., De Ridder, L., Martín-De-Carpi, J., Van Biervliet, S., Braegger, C., ... Cucchiara, S. (2018). Endoscopy in Pediatric Inflammatory Bowel Disease: A Position paper, 67(3), 414–430. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000002092>
- Oliveira, S. B., & Monteiro, I. M. (2017). Diagnosis and management of inflammatory bowel disease in

- children. *Bmj*, j2083. <https://doi.org/10.1136/bmj.j2083>
- Papagoras, C., Voulgari, P. V., & Drosos, A. A. (2015). Golimumab, the newest TNF-alpha blocker, comes of age. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 33(4), 570–577.
- Papay, P., Primas, C., Eser, A., Novacek, G., Winkler, S., Frantal, S., ... Reinisch, W. (2012). Retesting for latent tuberculosis in patients with inflammatory bowel disease treated with TNF-alpha inhibitors. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 36(9), 858–865. <https://doi.org/10.1111/apt.12037>
- Pariente, B., Pineton de Chambrun, G., Krzysiek, R., Desroches, M., Louis, G., De Cassan, C., ... Allez, M. (2012). Trough levels and antibodies to infliximab may not predict response to intensification of infliximab therapy in patients with inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 18(7), 1199–1206. <https://doi.org/10.1002/ibd.21839>
- Paul, S., Del Tedesco, E., Marotte, H., Rinaudo-Gaujous, M., Moreau, A., Phelip, J.-M., ... Roblin, X. (2013). Therapeutic drug monitoring of infliximab and mucosal healing in inflammatory bowel disease: a prospective study. *Inflammatory Bowel Diseases*, 19(12), 2568–2576. <https://doi.org/10.1097/MIB.0b013e3182a77b41>
- Persic, M. (2013). [Anti-TNF therapy in inflammatory bowel diseases during pregnancy and breast-feeding]. *Acta medica Croatica : casopis Hrvatske akademije medicinskih znanosti*, 67(2), 157–164.
- Pouillon, L., Vermeire, S., & Bossuyt, P. (2019). Vedolizumab trough level monitoring in inflammatory bowel disease : a state-of-the- art overview, 1–8.
- Pozler, O., Maly, J., Bonova, L., Dedek, P., Fruhauf, P., Havlicokova, A., ... Zeniskova, I. (2006). Incidence of Crohn Disease in the Czech Republic in the years 1990-2001 and assessment of the pediatric population with inflammatory bowel disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 42(February), 186–189.
- Quail, M. A., Russell, R. K., Van Limbergen, J. E., Rogers, P., Drummond, H. E., Wilson, D. C., & Gillett, P. M. (2009). Fecal calprotectin complements routine laboratory investigations in diagnosing childhood inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 15(5), 756–759. <https://doi.org/10.1002/ibd.20820>
- Qumseya, B. J., Ananthakrishnan, A. N., Skaros, S., Bonner, M., Issa, M., Zadvornova, Y., ... Binion, D. G. (2011). QuantiFERON TB gold testing for tuberculosis screening in an inflammatory bowel disease cohort in the United States. *Inflammatory Bowel Diseases*, 17(1), 77–83. <https://doi.org/10.1002/ibd.21329>
- R Core Team: R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2013. (n.d.). Retrieved from [www.R-project.org](http://www.R-project.org)
- Rehlaender, B. N., & Cho, M. J. (1998). Antibodies as carrier proteins. *Pharmaceutical Research*, 15(11), 1652–1656.
- Remicade. (n.d.). Souhrn údajů o přípravku. Retrieved from [http://www.ema.europa.eu/docs/cs\\_CZ/document\\_library/EPAR\\_-\\_Product\\_Information/human/000240/WC500050888.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/cs_CZ/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000240/WC500050888.pdf)
- Remicade, I. (2017). Instructions for Use SHIKARI® Q-INFLIXI, (August).
- Renna, S., Cottone, M., & Orlando, A. (2014). Optimization of the treatment with immunosuppressants and biologics in inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology*, 20(29), 9675–9690. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i29.9675>
- Robin, X., Turck, N., Hainard, A., Tiberti, N., Lisacek, F., Sanchez, J.-C., & Muller, M. (2011). pROC: an open-source package for R and S+ to analyze and compare ROC curves. *BMC Bioinformatics*, 12, 77. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-77>
- Roblin, X., & Flamant, M. (2018). DIAMOND study: an additional evidence of the interest of being proactive in IBD. *Annals of Translational Medicine*, 6(13), 279–279. <https://doi.org/10.21037/atm.2018.06.30>
- Roda, G., Jharap, B., Neeraj, N., & Colombel, J. F. (2016). Loss of Response to Anti-TNFs: Definition, Epidemiology, and Management. *Clinical and Translational Gastroenterology*, 7(1), e135-5. <https://doi.org/10.1038/ctg.2015.63>
- Rolandsdotter, H., Marits, P., Sundin, U., Wikstrom, A.-C., Fagerberg, U. L., Finkel, Y., & Eberhardson, M.



- (2017). Serum-Infliximab Trough Levels in 45 Children with Inflammatory Bowel Disease on Maintenance Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(3).  
<https://doi.org/10.3390/ijms18030575>
- Rosen, M. J., Dhawan, A., Saeed, S. A., & Bowel, S. I. (2016). Inflammatory Bowel Disease in Children and Adolescents. *Journal of Gastroenterology and Nutrition*, 169(11), 1053–1060.  
<https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2015.1982>
- Roseth, A. G., Aadland, E., Jahnsen, J., & Raknerud, N. (1997). Assessment of disease activity in ulcerative colitis by faecal calprotectin, a novel granulocyte marker protein. *Digestion*, 58(2), 176–180. <https://doi.org/10.1159/000201441>
- Roseth, A. G., Fagerhol, M. K., Aadland, E., & Schjonsby, H. (1992). Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. A methodologic study. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 27(9), 793–798.
- Rosh, J. R., Gross, T., Mamula, P., Griffiths, A., & Hyams, J. (2007). Hepatosplenic T-cell lymphoma in adolescents and young adults with Crohn's disease: a cautionary tale? *Inflammatory Bowel Diseases*, 13(8), 1024–1030. <https://doi.org/10.1002/ibd.20169>
- Ruemmele, F. M., Lachaux, A., Cezard, J.-P., Morali, A., Maurage, C., Ginies, J.-L., ... Sarles, J. (2009). Efficacy of infliximab in pediatric Crohn's disease: a randomized multicenter open-label trial comparing scheduled to on demand maintenance therapy. *Inflammatory Bowel Diseases*, 15(3), 388–394. <https://doi.org/10.1002/ibd.20788>
- Russell, R. K., Wilson, M. L., Loganathan, S., Bourke, B., Kiparissi, F., Mahdi, G., ... Wilson, D. C. (2011). A British Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition survey of the effectiveness and safety of adalimumab in children with inflammatory bowel disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 33(8), 946–953. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2011.04603.x>
- Rutgeerts, P., Geboes, K., Vantrappen, G., Beyls, J., Kerremans, R., & Hiele, M. (1990). Predictability of the postoperative course of Crohn's disease. *Gastroenterology*, 99(4), 956–963.
- S.Rabizadeh, & M.Dubinsky. (2013). Update in Pediatric Inflammatory Bowel Disease. *Nano*, 6(9), 2166–2171. <https://doi.org/10.1021/nl061786n>
- Sandborn, W. J., Colombel, J. F., Enns, R., Feagan, B. G., Hanauer, S. B., Lawrance, I. C., ... Rutgeerts, P. (2005). Natalizumab induction and maintenance therapy for Crohn's disease. *The New England Journal of Medicine*, 353(18), 1912–1925. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa043335>
- Sands, B. E. (1997). Biologic therapy for inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 3(2), 95–113.
- Schaible, U. E., & Kaufmann, S. H. E. (2007). Malnutrition and infection: complex mechanisms and global impacts. *PLoS Medicine*, 4(5), e115. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0040115>
- Schoepfer, A. M., Trummel, M., Seeholzer, P., Criblez, D. H., & Seibold, F. (2007). Accuracy of four fecal assays in the diagnosis of colitis. *Diseases of the Colon and Rectum*, 50(10), 1697–1706.  
<https://doi.org/10.1007/s10350-007-0303-9>
- Schroder, O., Naumann, M., Shastri, Y., Povse, N., & Stein, J. (2007). Prospective evaluation of faecal neutrophil-derived proteins in identifying intestinal inflammation: combination of parameters does not improve diagnostic accuracy of calprotectin. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 26(7), 1035–1042. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03457.x>
- Schwarz, J. (2017). Inflammatory bowel disease incidence in Czech children: A regional prospective study, 2000-2015, 9358(5), 72–79. <https://doi.org/10.20959/wjpr2016-6447>
- Seow, N. V. C. C. H., Connor, J. M. A. S. J., Corte, C., Toong, C., Barclay, G. T. M. M., Bryant, J. B. R., ... Organisation, I. B. D. S. (2017). Review article : consensus statements on therapeutic drug monitoring of anti-tumour necrosis factor therapy in inflammatory bowel diseases, (August).  
<https://doi.org/10.1111/apt.14368>
- Shale, M. J., Seow, C. H., Coffin, C. S., Kaplan, G. G., Panaccione, R., & Ghosh, S. (2010). Review article: chronic viral infection in the anti-tumour necrosis factor therapy era in inflammatory bowel disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 31(1), 20–34. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2009.04112.x>
- Shanahan, F., & Bernstein, C. N. (2009). The evolving epidemiology of inflammatory bowel disease.

- Current Opinion in Gastroenterology*, 25(4), 301–305.  
<https://doi.org/10.1097/MOG.0b013e32832b12ef>
- Shaoul, R., Sladek, M., Turner, D., Paeregaard, A., Veres, G., Wauters, G. V., ... Levine, A. (2012). Limitations of fecal calprotectin at diagnosis in untreated pediatric Crohn's disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 18(8), 1493–1497. <https://doi.org/10.1002/ibd.21875>
- Shastri, Y., Povse, N., & Stein, J. (2009). A prospective comparative study for new rapid bedside fecal calprotectin test with an established ELISA to assess intestinal inflammation. *Clinical Laboratory*, 55(1–2), 53–55.
- Shivananda, S., Lennard-Jones, J., Logan, R., Fear, N., Price, A., Carpenter, L., & Van Blankenstein, M. (1996). Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: Is there a difference between north and south? Results of the European collaborative study on inflammatory bowel disease (EC-IBD). *Gut*, 39(5), 690–697. <https://doi.org/10.1136/gut.39.5.690>
- Silva-Ferreira, F., Afonso, J., Pinto-Lopes, P., & Magro, F. (2016). A Systematic Review on Infliximab and Adalimumab Drug Monitoring: Levels, Clinical Outcomes and Assays. *Inflammatory Bowel Diseases*, 22(9), 2289–2301. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000855>
- Singh, H., Grewal, N., Arora, E., Kumar, H., & Kakkar, A. K. (2016). Vedolizumab: A novel anti-integrin drug for treatment of inflammatory bowel disease. *Journal of Natural Science, Biology, and Medicine*, 7(1), 4–9. <https://doi.org/10.4103/0976-9668.175016>
- Singh, N., Rosenthal, C. J., Melmed, G. Y., Mirocha, J., Farrior, S., Callejas, S., ... Dubinsky, M. C. (2014). Early infliximab trough levels are associated with persistent remission in pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 20(10), 1708–1713. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000137>
- Sinitsky, D. M., Lemberg, D. A., Leach, S. T., Bohane, T. D., Jackson, R., & Day, A. S. (2010). Infliximab improves inflammation and anthropometric measures in pediatric Crohn's disease. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*, 25(4), 810–816. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2009.06195.x>
- Sipponen, T., Karkkainen, P., Savilahti, E., Kolho, K.-L., Nuutinen, H., Turunen, U., & Farkkila, M. (2008). Correlation of faecal calprotectin and lactoferrin with an endoscopic score for Crohn's disease and histological findings. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 28(10), 1221–1229. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2008.03835.x>
- Sipponen, Taina, & Kolho, K.-L. (2010). Faecal calprotectin in children with clinically quiescent inflammatory bowel disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 45(7–8), 872–877. <https://doi.org/10.3109/00365521003782389>
- Sitarenios, GM.; Kovacs, M. (1999). Use of the Children's Depression Inventory. In *Psychological Testing for Treatment Planning and Outcomes Assessment*. 2. Mahwah, NJ: Lawrence Erlbaum Associates; (pp. 267–298).
- Solovic, I., Sester, M., Gomez-Reino, J. J., Rieder, H. L., Ehlers, S., Milburn, H. J., ... Lange, C. (2010). The risk of tuberculosis related to tumour necrosis factor antagonist therapies: a TBNET consensus statement. *The European Respiratory Journal*, 36(5), 1185–1206. <https://doi.org/10.1183/09031936.00028510>
- Springer, T. A. (2002). César Milstein, the father of modern immunology, 3(6), 501–504.
- St-Pierre, J., & Chadee, K. (2014). How the discovery of TNF-alpha has advanced gastrointestinal diseases and treatment regimes. *Digestive Diseases and Sciences*, 59(4), 712–715. <https://doi.org/10.1007/s10620-014-3042-5>
- Steenholdt, C, Palarasah, Y., Bendtzen, K., Teisner, A., Brynskov, J., Teisner, B., & Nielsen, C. H. (2013). Pre-existing IgG antibodies cross-reacting with the Fab region of infliximab predict efficacy and safety of infliximab therapy in inflammatory bowel disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 37(12), 1172–1183. <https://doi.org/10.1111/apt.12330>
- Steenholdt, Casper. (2013). Use of infliximab and anti-infliximab antibody measurements to evaluate and optimize efficacy and safety of infliximab maintenance therapy in Crohn's disease. *Danish Medical Journal*, 60(4), B4616.
- Steenholdt, Casper, Bendtzen, K., Brynskov, J., Thomsen, O. O., & Ainsworth, M. A. (2011). Cut-off levels

- and diagnostic accuracy of infliximab trough levels and anti-infliximab antibodies in Crohn's disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 46(3), 310–318.  
<https://doi.org/10.3109/00365521.2010.536254>
- Steenholdt, Casper, Brynskov, J., Thomsen, O. Ø., Munck, L. K., Fallingborg, J., Christensen, L. A., ... Ainsworth, M. A. (2014). Individualised therapy is more cost-effective than dose intensification in patients with Crohn's disease who lose response to anti-TNF treatment: A randomised, controlled trial. *Gut*, 63(6), 919–927. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2013-305279>
- Stein, R., Lee, D., Leonard, M. B., Thayu, M., Denson, L. A., Chuang, E., ... Baldassano, R. N. (2016). Serum Infliximab, Antidrug Antibodies, and Tumor Necrosis Factor Predict Sustained Response in Pediatric Crohn's Disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 22(6), 1370–1377.  
<https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000769>
- STROBE Statement — checklist of items that should be included in reports of observational studies. (n.d.). Retrieved from [https://www.strobe-statement.org/fileadmin/Strobe/uploads/checklists/STROBE\\_checklist\\_v4\\_combined\\_PlosMedicine.pdf](https://www.strobe-statement.org/fileadmin/Strobe/uploads/checklists/STROBE_checklist_v4_combined_PlosMedicine.pdf)
- The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1984. (n.d.). Retrieved September 13, 2018, from <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1984/summary/>
- Tibble, J. A., Sigthorsson, G., Bridger, S., Fagerhol, M. K., & Bjarnason, I. (2000). Surrogate markers of intestinal inflammation are predictive of relapse in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 119(1), 15–22.
- Travis, S. P. L., Stange, E. F., Lemann, M., Oresland, T., Chowers, Y., Forbes, A., ... Mortensen, N. J. (2006). European evidence based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: current management. *Gut*, 55 Suppl 1, i16-35. <https://doi.org/10.1136/gut.2005.081950b>
- Tsianos, E. V., Katsanos, K. H., & Tsianos, V. E. (2012). Role of genetics in the diagnosis and prognosis of Crohn's disease. *Gut*, 61(2), 105–118. <https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i2.105>
- Turner, D., Levine, A., Walters, T. D., Focht, A. G., Otley, A., Lo, N., ... Griffiths, A. M. (2017). Which PCDAI Version Best Reflects Intestinal Inflammation. *Gut*, 64(2), 254–260. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000001227>
- Turner, D., Otley, A. R., Mack, D., Hyams, J., de Bruijne, J., Uusoue, K., ... Griffiths, A. M. (2007). Development, validation, and evaluation of a pediatric ulcerative colitis activity index: a prospective multicenter study. *Gastroenterology*, 133(2), 423–432.  
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.05.029>
- Uchida, K., Yoshiyama, S., Inoue, M., Koike, Y., Yasuda, H., Fujikawa, H., & Okita, Y. (2012). Double balloon enteroscopy for pediatric inflammatory bowel disease. *Gut*, 61(5), 806–809.  
<https://doi.org/10.1111/j.1442-200X.2012.03661.x>
- Ungar, B., Chowers, Y., Yavzori, M., Picard, O., Fudim, E., Har-Noy, O., ... Ben-Horin, S. (2014). The temporal evolution of antidrug antibodies in patients with inflammatory bowel disease treated with infliximab. *Gut*, 63(8), 1258–1264. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2013-305259>
- Ungar, B., Glidai, Y., Yavzori, M., Picard, O., Fudim, E., Lahad, A., ... Weiss, B. (2018). Association Between Infliximab Drug and Antibody Levels. *Gut*, 67(4), 507–512.  
<https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000002051>
- Vahabnezhad, E., Rabizadeh, S., & Dubinsky, M. C. (2014). A 10-year, single tertiary care center experience on the durability of infliximab in pediatric inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 20(4), 606–613. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000003>
- van Buuren, S., & Groothuis-Oudshoorn, K. (2011). mice: Multivariate Imputation by Chained Equations in R. *Journal of Statistical Software*; Vol 1, Issue 3 (2011) . Retrieved from <https://www.jstatsoft.org/v045/i03>
- Van Limbergen, J., Haskett, J., Griffiths, A. M., Critch, J., Huynh, H., Ahmed, N., ... Otley, A. R. (2015). Toward enteral nutrition in the treatment of pediatric Crohn disease in Canada: A workshop to identify barriers and enablers. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 29(7), 351–356. <https://doi.org/10.1155/2015/509497>
- van Rheenen, P. F., Van de Vijver, E., & Fidler, V. (2010). Faecal calprotectin for screening of patients with suspected inflammatory bowel disease: diagnostic meta-analysis. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 341, c3917. <https://doi.org/10.1136/bmj.c3917>

- 341, c3369. <https://doi.org/10.1136/bmj.c3369>
- Van Stappen, T., Vande Casteele, N., Van Assche, G., Ferrante, M., Vermeire, S., & Gils, A. (2018). Clinical relevance of detecting anti-infliximab antibodies with a drug-tolerant assay: post hoc analysis of the TAXIT trial. *Gut*, *67*(5), 818–826. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2016-313071>
- van Zyl-Smit, R. N., Zwerling, A., Dheda, K., & Pai, M. (2009). Within-subject variability of interferon-gamma assay results for tuberculosis and boosting effect of tuberculin skin testing: a systematic review. *PLoS One*, *4*(12), e8517. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008517>
- Vande Casteele, Niels, Ferrante, M., Van Assche, G., Ballet, V., Compernelle, G., Van Steen, K., ... Vermeire, S. (2015). Trough concentrations of infliximab guide dosing for patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, *148*(7), 1320-9.e3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.02.031>
- Vande Casteele, Niels, Gils, A., Singh, S., Ohrmund, L., Hauenstein, S., Rutgeerts, P., & Vermeire, S. (2013). Antibody response to infliximab and its impact on pharmacokinetics can be transient. *The American Journal of Gastroenterology*, *108*(6), 962–971. <https://doi.org/10.1038/ajg.2013.12>
- Vaughn, B. P., Martinez-Vazquez, M., Patwardhan, V. R., Moss, A. C., Sandborn, W. J., & Cheifetz, A. S. (2014). Proactive therapeutic concentration monitoring of infliximab may improve outcomes for patients with inflammatory bowel disease: results from a pilot observational study. *Inflammatory Bowel Diseases*, *20*(11), 1996–2003. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000156>
- Velayos, F. S., Kahn, J. G., Sandborn, W. J., & Feagan, B. G. (2013). A test-based strategy is more cost effective than empiric dose escalation for patients with Crohn's disease who lose responsiveness to infliximab. *Clinical Gastroenterology and Hepatology : The Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association*, *11*(6), 654–666. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2012.12.035>
- Verstockt, B., Ferrante, M., Vermeire, S., & Van Assche, G. (2018). New treatment options for inflammatory bowel diseases. *Journal of Gastroenterology*, *53*(5), 585–590. <https://doi.org/10.1007/s00535-018-1449-z>
- Wang, S.-L., Ohrmund, L., Hauenstein, S., Salbato, J., Reddy, R., Monk, P., ... Singh, S. (2012). Development and validation of a homogeneous mobility shift assay for the measurement of infliximab and antibodies-to-infliximab levels in patient serum. *Journal of Immunological Methods*, *382*(1–2), 177–188. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2012.06.002>
- Wanty, C., Stephenne, X., Sokal, E., & Smets, F. (2011). [Long-term outcome of infliximab therapy in pediatric Crohn disease]. *Archives de pediatrie : organe officiel de la Societe francaise de pediatrie*, *18*(8), 863–869. <https://doi.org/10.1016/j.arcped.2011.05.022>
- Ward, M. G., Irving, P. M., Unsworth, B. W. N., Brownclarke, S. C. C., Parkes, S. S. M., Arkir, J. D. S. Z., & Gibson, J. R. P. R. (2018). Infliximab and adalimumab drug levels in Crohn's disease : contrasting associations with disease activity and influencing factors, (January 2017), 150–161. <https://doi.org/10.1111/apt.14124>
- Weber-Schoendorfer, C., Oppermann, M., Wacker, E., Bernard, N., Beghin, D., Cuppers-Maarschalkerweerd, B., ... Schaefer, C. (2015). Pregnancy outcome after TNF-alpha inhibitor therapy during the first trimester: a prospective multicentre cohort study. *British Journal of Clinical Pharmacology*, *80*(4), 727–739. <https://doi.org/10.1111/bcp.12642>
- Weimers, P., & Munkholm, P. (2018). The Natural History of IBD: Lessons Learned. *Current Treatment Options in Gastroenterology*. <https://doi.org/10.1007/s11938-018-0173-3>
- Weise, M., Bielsky, M.-C., De Smet, K., Ehmann, F., Ekman, N., Narayanan, G., ... Schneider, C. K. (2011, August). Biosimilars-why terminology matters. *Nature Biotechnology*. United States. <https://doi.org/10.1038/nbt.1936>
- WHO. (2017). Revised monoclonal antibody ( mAb ) nomenclature scheme Programme on International Nonproprietary Names ( INN ), 1–2.
- Williams, C. J. M., Peyrin-Biroulet, L., & Ford, A. C. (2014). Systematic review with meta-analysis: malignancies with anti-tumour necrosis factor-alpha therapy in inflammatory bowel disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, *39*(5), 447–458. <https://doi.org/10.1111/apt.12624>
- Woude, C. J. Van Der, Ardizzone, S., Bengtson, M. B., Fiorino, G., Fraser, G., Katsanos, K., ... Zelinkova, Z.

- (2015). ECCO Guidelines / Consensus Paper The Second European Evidenced-Based Consensus on Reproduction and Pregnancy in Inflammatory Bowel Disease, 107–124.  
<https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jju006>
- Yang, L. S., Alex, G., & Catto-Smith, A. G. (2012). The use of biologic agents in pediatric inflammatory bowel disease. *Current Opinion in Pediatrics*, 24(5), 609–614.  
<https://doi.org/10.1097/MOP.0b013e3283574154>
- Yokoyama, K., Yano, T., Kumagai, H., Mizuta, K., Ono, S., Imagawa, T., ... Yamagata, T. (2016). Double-balloon Enteroscopy for Pediatric Patients ;, 63(1), 34–40.  
<https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000001048>
- Yu, Y., Chen, K. C., & Chen, J. (2019). Exclusive enteral nutrition versus corticosteroids for treatment of pediatric Crohn's disease: a meta-analysis. *World Journal of Pediatrics*, 15(1), 26–36.  
<https://doi.org/10.1007/s12519-018-0204-0>
- Zarubova, K., Hradsky, O., Copova, I., Rouskova, B., Pos, L., Skaba, R., & Bronsky, J. (2017). Endoscopic Recurrence 6 Months after Ileocecal Resection in Children with Crohn Disease Treated with Azathioprine. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 65(2), 207–211.  
<https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000001470>
- Zbořil, V. (2012). *Biologická terapie v léčbě idiopatických střevních zánětů*. Praha: Mladá Fronta.
- Zeisler, B. (2015). Difficult-to-treat-pediatric Crohn ' s disease : focus on adalimumab, 33–40.
- Zella, G. C., Weinblatt, M. E., & Winter, H. S. (2009). Drug-induced lupus associated with infliximab and adalimumab in an adolescent with Crohn disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 49(3), 355–358. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e3181837289>
- Zitomersky, N. L., Atkinson, B. J., Fournier, K., Mitchell, P. D., Stern, J. B., Butler, M. C., ... Bousvaros, A. (2015). Antibodies to infliximab are associated with lower infliximab levels and increased likelihood of surgery in pediatric IBD. *Inflammatory Bowel Diseases*, 21(2), 307–314.  
<https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000284>

## 11. SEZNAM PUBLIKACÍ

### 11.1. Původní práce a přehledné články v časopisech s definovaným impakt faktorem

Ohem, J.; Hradsky, O.; Zarubova, K.; et al.: Evaluation of Infliximab Therapy in Children with Crohn's Disease Using Trough Levels Predictors. *Dig Dis* **36**:1, 40–48 (2017). IF = 2,203

Hradsky, O.; Ohem, J.; Zarubova, K.; et al.: Disease activity is an important factor for indeterminate interferon- $\gamma$  release assay results in children with inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* **58**:3, 320–324 (2014). IF = 2,799

Hradsky, O.; Ohem, J.; Mitrova, K.; et al.: Fecal calprotectin levels in children is more tightly associated with histological than with macroscopic findings. *ClinLab* **60**:12, 1993–2000 (2014). IF = 1,03

### 11.2. Ostatní přednášky, spoluautorství a postery

Nevoral, J.: *Praktická pediatrická gastroenterologie, hepatologie a výživa*. Spoluautorství kapitoly „Protilátky“. Praha: Mladá Fronta, 2013.

Ohem J., Hradský O., Bronský J.: *Nejčastější příčina „chronického průjmu?“*. Přednáška. Seminář pro primáře dětských oddělení, FN Motol, 2013.

Ohem J., Bronský J.: *Mission to diagnosis-eosinofilní syndrom*. Přednáška. Festival dětských IBD kazuistik, Kurdějov, 2014.

Ohem J., Bronský J.: *Enteral nutrition in induction of remission of crohn's disease in children. A single center experience*. Přednáška. ESPGHAN Summer School on Nutrition, Praha, 2014.

Ohem J., Zárubová K., Dědič T., Hradský O., Bronský J.: *Optimization of biologic therapy in children with inflammatory bowel disease (IBD) using modern biomarkers*. Přednáška. Setkání postgraduálních studentů, ES-PCR, Maribor, 2014.

Ohem J., Hradský O., Bronský J.: *Nejčastější příčina „chronického průjmu?“*. Přednáška. Festival dětských kazuistik, Luhačovice, 2014.

Ohem J., Zárubová K., Hradský O., Průša R., Bukovská P., Malíčková K., Bronský J.: *Optimalizace biologické terapie IBD u dětí s využitím moderních biomarkerů*. Poster. Studentská vědecká konference 2. LF UK Praha, 2014

Ohem, J., Bronský J.: *Použití infliximabu v dětské gastroenterologii*. Přednáška. Seminář Ústavu lékařské chemie a klinické biochemie 2.LF UK a FN Motol Praha, 2017.

Ohem, J.: *Pacient, který byl bez obtíží*. Přednáška. Seminář Dětského oddělení Klauδιánovy nemocnice, Mladá Boleslav, 2018.

Ohem, J.: *Case from Czech republic*. Prezentace kazuistiky v rámci Salzburských pediatrických seminářů. Salzburg, 2018.

Ohem, J.: *Polyvalentní alergie*. Přednáška. Seminář Dětského oddělení Klauδιánovy nemocnice, Mladá Boleslav, 2018.

## 12. PŘÍLOHY

Seznam příloh:

**Příloha č. 1:** Informovaný souhlas s účastí ve studii



## Informovaný souhlas:

Vážená paní/slečno/pane,

děkujeme Vám, že jste projevil/a zájem pomoci klinické studii, jejíž výsledky by měly přispět k vylepšení léčby nemocných s nespecifickými střevními onemocněními. Dříve, než vyslovíte souhlas s účastí Vašeho dítěte ve studii, je důležité, abyste si přečetli následující informace o tom, co pro něj zapojení do studie obnáší a porozuměli tomu. V první řadě Vás musíme upozornit, že účast v této studii je zcela dobrovolná, máte právo účast odmítnout a nebudou z toho plynout pro Vás ani Vaše dítě žádné následky. Odmítnutí účasti ve studii jej v žádném případě nezabavuje práva na lékařskou péči, kterou bude jako pacient potřebovat. Bližší informace můžete získat od našich pracovníků, kteří se problematikou zabývají (doc. MUDr. Jiří Bronský, Ph.D, linka 2062, MUDr. Jan Ohem., linka 2293).

V současné době je plánována studie, která je zaměřena na stadium léku, který využíváme v terapii Crohnovy choroby a Ulcerózní kolitidy. V klinické studii podstoupí Vaše dítě odběr několika ml žilní krve navíc při odběru krve v rámci pravidelných ambulantních kontrol. Krev bude použita na stanovení hladiny toho léku a na stanovení protilátek, které se proti tomuto léku mohou tvořit. Vzorky krve nebudou uchovávány pro jiné studie. Při publikování nebo jiném uveřejnění výsledků nebude zveřejněna totožnost Vašeho dítěte. K rizikům spojeným s odběrem krve patří bolest a podlitina v místě vpichu, případně krátkodobé zarudnutí.

### Prohlášení:

Přečetl (a) jsem si všechny výše uvedené informace a dostalo se mi příležitosti zeptat se na vše, co jsem potřeboval(a) pro pochopení toho, co účast ve studii pro mé dítě představuje. Dobrovolně dávám souhlas k účasti svého dítěte ve studii. Studie a všechna s ní související vyšetření mi byly dostatečně vysvětleny.

V Praze dne:.....

Podpis vyšetřovaného:.....

Podpis osoby, která souhlas získala:.....

**Tato studie byla schválena etickou komisí FN Motol.**