

**UNIVERZITA KARLOVA**

**2. lékařská fakulta**

Autoreferát disertační práce



**Rizikové faktory vzniku a průběhu léčby zánětlivých střevních onemocnění u dětí**  
**Risk factors of manifestation and course of treatment of inflammatory bowel disease in**  
**children**

**Tereza Lerchová**

Praha, 2021

Disertační práce byla vypracována v rámci prezenčního studia doktorského studijního programu Preventivní medicína a epidemiologie na Pediatrické klinice 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy.

Školitel: doc. MUDr. Ondřej Hradský, Ph.D.

Oponenti:

Obhajoba se bude konat před komisí pro obhajoby oborové rady Preventivní medicína a epidemiologie dne ..... v ..... od ..... hod.

Předsedou komise pro obhajobu disertační práce byl jmenován:

Předseda oborové rady a garant doktorského studijního programu:

doc. MUDr. Jan Polák, Ph.D., MBA

Ústav patofyziologie 3. LF UK

Děkan fakulty: prof. MUDr. Vladimír Komárek, CSc.

Tato práce vznikla za podpory grantů: GAUK č. 364617, GAUK č. 166119

S disertační prací je možno se seznámit na Oddělení Ph.D. studia děkanátu 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, V Úvalu 84, 150 06, Praha 5 (tel. 224 435 836)

## Obsah

Abstrakt	4
Abstract	5
1. Úvod do problematiky	6
2. Hypotézy a cíle	9
3. Materiál a metody	10
4. Výsledky	12
4.1. Predikce diagnózy	12
4.2. Predikce aktivity a průběhu onemocnění	13
4.3. Predikce efektivity a komplikací léčebných postupů	14
4.4. Mezinárodní observační průzkum	20
5. Diskuze	20
5.1. Predikce diagnózy: Imunohistochemické hodnocení slizniční exprese CD30+ buněk	21
5.2. Predikce aktivity a průběhu onemocnění	21
5.2.1. Přesnost stanovení hladiny fekálního kalprotektinu pomocí domácího testu	21
5.2.2. Limitované využití tkáňového kalprotektinu pro predikci komplikovaného průběhu ulcerózní kolitidy	22
5.3. Predikce efektivity a komplikací léčebných postupů	22
5.3.1. Predikce času do relapsu u dětských pacientů s Crohnovou chorobou léčených thiopuriny	22
5.3.2. Predikce časné odpovědi na zvolený terapeutický režim pomocí fekálního kalprotektinu	24
5.3.3. Rizikové faktory rozvoje nežádoucích účinků biologické léčby	24
5.3.4. Adherence k užívání thiopurinů	25
5.3.5. Optimalizace kombinované léčby	25
5.4. Imunizační a vakcinační status u dětských pacientů s IBD	25
6. Závěr	27
7. Conclusion	28
Reference	29
Přehled publikační činnosti	38

## **Abstrakt**

### **Rizikové faktory vzniku a průběhu léčby zánětlivých střevních onemocnění u dětí**

Typická Crohnova choroba (CD), Crohnovská kolitida, atypická ulcerózní kolitida (UC) a typická UC s kontinuálně rozloženým zánětlivým postižením tlustého střeva jsou v současné době vnímány jako vzájemně se od sebe lišící formy zánětlivých střevních onemocnění (IBD). Výskyt těchto imunitně podmíněných onemocnění celosvětově narůstá v rámci dospělé i dětské populace. Ačkoliv je do jisté míry znám podíl genetického pozadí a faktorů vnějšího prostředí na vznik těchto onemocnění, přesná příčina rozvoje IBD není stále určena. Komplexní péče vyžaduje precizní a co nejlépe daty podpořený přístup vedoucí k minimalizaci rizika komplikovaného průběhu onemocnění a rozvoji s onemocněním a/nebo léčbou asociovaných komplikací.

Hlavním cílem práce je identifikace nových prediktivních faktorů zasahujících do jednotlivých oblastí péče o dětské pacienty s IBD. Spektrum klinických situací, řešených v rámci této práce, zahrnuje možnost predikce diagnózy, obecně komplikovaného průběhu onemocnění, odpovědi na konkrétní terapeutický režim, rozvoj nežádoucích účinků asociovaných se zvoleným terapeutickým postupem a adherence pacienta k léčbě. Část původních prací byla provedena v retrospektivním designu, část jako prospektivní observační studie, dvě z původních prací vznikly jako multicentrické mezinárodní projekty.

Za nejdůležitější výstup práce lze považovat vytvoření predikčního modelu k individuálnímu odhadu času do relapsu u dětských pacientů s CD na léčbě thiopuriny. Dále jsme vytvořili modely predikující hladinu metabolitů azathioprinu, která odráží vhodnost dávkování léku nebo adherence pacienta k jeho užívání. Nově byl nalezen optimální cut-off pro hladinu metabolitů azathioprinu, který predikuje dosažení žádoucích hladin infliximabu. Identifikovali jsme infliximab ve srovnání s adalimumabem, jako prediktor rozvoje kožních nežádoucích účinků u dětských pacientů s IBD. Ukázali jsme, že míra tkáňové exprese CD30+ buněk je silným prediktorem klasifikace onemocnění do jednoho z typů IBD. Naopak možnost klinického využití nebyla prokázána u stanovení hladin tkáňového kalprotektinu (CPT) a fekálního CPT časné po zahájení indukční léčby výlučnou enterální výživou. Upozornili jsme na limitované klinické využití domácích testů ke stanovení hladin fekálního CPT.

Výsledky jednotlivých studií lze shrnout jako získání souboru nových informací, na základě kterých lze předem odhadnout určitý jev, jehož včasné ovlivnění nebo lépe, jehož předejití, přispívá k lepší kontrole onemocnění u dětských pacientů s diagnózou IBD. Díky nově identifikovaným možnostem predikce konkrétních klinických otázek je odpověď na ně informovanější a lze tak předpokládat větší přesnost při rozhodování.

## **Abstract**

### **Risk factors of manifestation and course of treatment of inflammatory bowel disease in children**

Typical Crohn's disease (CD), Crohn's colitis, typical and atypical ulcerative colitis (UC) are currently perceived as different forms of inflammatory bowel disease (IBD). The incidence of IBD is increasing worldwide in both the adult and paediatric populations. Although the role of genetic background and environmental factors in the development of these diseases is known to some extent, the exact cause of IBD has still not been determined. Comprehensive care requires a precise and data-driven approach to minimize the risk of complicated disease course and the development of disease-related and/or treatment-associated complications.

The main goal of this work is to identify new predictive factors affecting individual areas of care of paediatric patients with IBD. The range of clinical situations addressed in this work includes the possibility of predicting the diagnosis, the generally complicated disease course, the response to a particular therapeutic regimen, the development of side effects associated with the therapeutic procedure and the patient's adherence to the treatment. Part of the original works was done in a retrospective design, part as prospective observational studies and two of the original works were realized as multicentre international projects.

The most important outcome of the work can be considered the creation of a predictive model of estimation of individual time to relapse in paediatric patients with CD on thiopurine treatment. We also developed models predicting the level of azathioprine metabolites, which reflect the suitability of the drug dosage or the patient's adherence to its use. An optimal cut-off of the level of azathioprine metabolites, which predicts the achievement of the effective infliximab levels, has been found. We identified infliximab, compared to adalimumab, as a predictor of the development of skin side effects in paediatric IBD patients. We have shown that the tissue expression level of CD30+ cells is a strong predictive factor of classifying the disease into one of the IBD types. In contrast, the possibility of clinical usefulness has not been demonstrated in the determination of tissue calprotectin (CPT) levels and faecal CPT levels obtained early after initiation of treatment with exclusive enteral nutrition. We indicated the limited clinical use of home tests to determine faecal CPT levels.

The results of individual studies can be summarized as the acquisition of a set of new information, on the basis of which it is possible to predict a certain phenomenon, the early influence or prevention of which, contributes to better disease control. Thanks to the newly identified possibilities of predicting specific clinical questions, the answer to them is more informed and it is possible to assume greater accuracy in decision-making process.

## 1. Úvod do problematiky

Typická Crohnova choroba (CD) s postižením tenkého střeva, Crohnovská kolitida zasahující pouze tlusté střevo, atypická ulcerózní kolitida (UC) a typická UC s kontinuálně rozloženým zánětlivým postižením tlustého střeva jsou v současné době vnímány jako makroskopicky i mikroskopicky se od sebe lišící formy zánětlivých střevních onemocnění (IBD) [1]. Kontinuita onemocnění a vnímání jednotlivých subtypů spíše s ohledem na odpověď na zvolenou terapii je stále více aktuálním tématem [2]. V případě, kdy nelze spolehlivě určit podtyp IBD, je imunitně podmíněný střevní zánět označen jako nezařaditelné zánětlivé střevní onemocnění (IBD-U) [1]. Pro samotný průběh všech typů IBD je příznačné střídání období, kdy je zánětlivá aktivita pod kontrolou, a tedy onemocnění v remisi s obdobím tzv. relapsu, tedy vzplanutí zánětlivé aktivity. Čím jsou tyto fáze častější, tím většímu riziku komplikovaného průběhu nebo rozvoji s onemocněním asociovaných komplikací je pacient vystaven. Navození a následné udržení remise má tak zásadní význam v péči o pacienta s diagnózou IBD. Dobře stanovená diagnóza a pečlivá monitorace aktivity onemocnění hraje důležitou úlohu v léčbě a další prognóze pacienta [3, 4].

Epidemiologická data indikují aktuálně narůstající trend v počtu pacientů s IBD [5, 6]. Celosvětová incidence IBD se dle recentně provedené metanalýzy pohybuje v rozmezí od 0,5 do 23 / 100 000 [7]. Mezi regiony s nejvyšší incidencí IBD patří Evropa (12,9 / 100 000) a Severní Amerika (13,9 / 100 000) [7]. Ve Spojených státech Amerických a Evropě je dle recentně provedené meta-analýzy celkový počet nemocných odhadován na více než 1,5 a přes 2 miliony pacientů [8]. Nárůst počtu pacientů diagnostikovaných s IBD se významně dotýká i dětské populace. V roce 2014 byla incidence IBD mezi dětskými pacienty uváděna v rozmezí od 2,5 do 11,4 / 100 000 s odhadovanou prevalencí 58 / 100 000 [9]. Terapie pacientů s IBD stojí v Evropě ročně 4,6 – 5,2 miliardy Euro. [10]

Přesná příčina vzniku imunitně podmíněného střevního zánětu není stále spolehlivě určena. Na rozvoji IBD je předpokládán podíl a následná kombinace více faktorů, konkrétně faktorů vnějšího prostředí a genetická predispozice pacienta. Obecně lze IBD chápat jako multifaktoriální polygenní onemocnění, s výjimkou spíše minoritní skupiny pacientů, u nichž je rozvoj klinické symptomaticky odpovídající IBD podmíněn monogenním defektem [11, 12]. Účast genetického pozadí na rozvoji IBD lze předpokládat u všech forem tohoto onemocnění, s větším podílem u pacientů s CD [13]. Prvním popsáním genem asociovaným s CD byl gen *NOD2*. Mezi nejbližší studované faktory vnějšího prostředí, i přesto s často nejasným závěrem,

ve vztahu k IBD lze jmenovat např.: vliv kouření [14-16], osobní anamnézu apendektomie [17], kojení [18, 19], otázku hygienické hypotézy [20], psychický stres [21-23], venkovské prostředí [24, 25], stravování [26, 27], antibiotickou léčbu nebo infekční onemocnění [10, 20, 28]. Významná role je přikládána také střevnímu mikrobiomu [29].

V případě klinického podezření na diagnózu IBD v dětském věku je po vyloučení infekční etiologie a provedeném laboratorním vyšetření, včetně vyšetření stolice na fekální kalprotektin (fCPT), indikováno endoskopické vyšetření. Dle aktuálních doporučení je v rámci endoskopického vyšetření nutné provést esofagogastroduodenoskopii (EGDS) a totální kolonoskopii se zobrazením terminálního ilea a adekvátním odběrem biopsických vzorků k histologickému vyšetření. Podmínkou dokončení diagnostického procesu je doplnění zobrazení tenkého střeva, nejčastěji pomocí magneticko-rezonanční enterografie (MRe) [1]. Diagnóza je definitivně stanovena po aplikaci tzv. revidovaných Portských kritérií pro diagnostiku IBD v dětském věku [1]. Ačkoliv recentně provedené práce poukazují na důležitost vnímat subtyp IBD s ohledem na pravděpodobnost odpovědi na určitý terapeutický režim [2] a tedy zohlednit atypické formy UC nebo CD, aktuálně užívaná Portská kritéria rozdělují dětské pacienty do tří tradičních fenotypů, CD, UC a IBD-U. K bližšímu určení intenzity a podrobnější klasifikaci je v rámci dětské gastroenterologie užívána tzv. Pařížská modifikace [30] Montrealské klasifikace [31]. Správné určení diagnózy a tím optimálně zvolená léčebná strategie může podstatně přispět k prevenci rozvoje opakovaných relapsů onemocnění a/nebo s IBD asociovaných komplikací [32]. Identifikace dalších parametrů umožňujících přesnější klasifikaci imunitně podmíněného střevního zánětu, a především predikci odpovědi na konkrétní terapeutický režim, má tak v péči o dětské pacienty s IBD široký význam.

Léčba IBD je téměř vždy rozdělena do dvou částečně se překrývajících fází. Jako první je zahájena indukce remise, která je časně následovaná aplikací dlouhodobé udržovací léčby s cílem navozenou remisí udržet. Volba léčebné strategie se liší jak v závislosti na diagnóze, tedy pro pacienty s CD a UC, tak i v rámci jedné diagnózy, dle rozsahu a chování onemocnění, věku, přítomnosti poruchy růstu, možných nežádoucích účinků asociovaných s léčbou a kvality života pacienta [33, 34]. Význam individualizace léčebné strategie pacientů s diagnózu IBD je v posledních letech stále více zdůrazňován [34]. U většiny dětských pacientů s nově stanovenou diagnózou CD je na základě aktuálních mezinárodních doporučení [34] volena indukce remise cestou tzv. výlučné enterální výživy (EEN), ev. kortikosteroidy při prokázané netoleranci EEN. Dalšími aktuálními možnostmi indukce remise jsou specifické dietní opatření „Crohn’s Disease

Exclusion Diet“ (CDED) [35] nebo antibiotická kombinace [36]. Žádná z metod indukční léčby neprokázala efekt na následné udržení remise, pokud není současně zahájena dlouhodobá udržovací terapie [37]. U dětských pacientů s CD jsou v tomto ohledu aplikovány na prvním místě thiopuriny [38], dále methotrexát (MTX) [39] a k léčbě nejrizikovějších pacientů jsou používány preparáty biologické léčby, v první linii anti tumor nekrotizující faktory  $\alpha$  (aTNF), infliximab (IFX) a adalimumab (ADA) [34]. Na základě dříve publikovaných prací není aktuálně možné v době stanovení diagnózy spolehlivě identifikovat jedince ve vysokém riziku, většina doporučení v tomto ohledu je založena na názorech odborníků. Dalším terapeutickým postupem, který je možné uplatnit u vybrané skupiny dětských pacientů s CD s lokalizovanou formou onemocnění, je ileocékální resekce (ICR).

U dětských pacientů s diagnózou UC je dle aktuálních mezinárodních doporučení možno volit mezi dvěma způsoby indukce remise [33]. Rozhodujícím faktorem je především míra intenzity onemocnění, která je posouzena pomocí klinického skórovacího systému „Pediatric Ulcerative Colitis Activity Index (PUCAI) [40]. Při PUCAI 10–35 bodů je doporučeno zahájení terapie 5-aminosalicyláty (5-ASA), v případě PUCAI 40–60 bodů je doporučeno vedle aplikace 5-ASA zvážit podání systémových kortikosteroidů. Pokud je hodnota PUCAI 65 a více bodů, hovoříme o stavu tzv. akutní těžké kolitidy (ASC), která může být život ohrožující situací a jejíž léčba se řídí přesně definovaným protokolem [41]. Dlouhodobá léčebná strategie u dětských pacientů s UC je dle aktuálních doporučení volena s ohledem na odpověď na indukční terapii [33]. U pacientů, u nichž je zaznamenána dobrá reakce, je vhodné pokračovat v udržovací terapii pomocí 5-ASA. V případě trvající aktivity nebo opakovaných relapsů onemocnění na takto zavedené léčbě je doporučeno zahájení aplikace thiopurinů. V případě chronicky aktivního nebo kortikodependentního zánětu, který nelze kontrolovat pomocí 5-ASA a/nebo imunomodulátoru, je indikováno zahájení biologické léčby. Pokud nedojde k dosažení a udržení remise ani za aplikace preparátů biologické léčby, je třeba zvážit provedení kolektomie [33]. Rozhodování o léčebném postupu u dětských pacientů s UC na základě změn v PUCAI je limitováno především skutečností, že prediktivní hodnota PUCAI vůči průběhu onemocnění byla testována pouze ve vztahu k ASC [42, 43].

Již při zahájení terapie pacienta s IBD by měl být jasně vymezen její cíl, jehož dosažení by mělo s co nejvyšší pravděpodobností predikovat nekomplikovaný průběh onemocnění. Identifikace terapeutického cíle se tak v rámci péče o pacienty s IBD zdá být jedním z nejdůležitějších kroků. Se záměrem určení optimálních terapeutických cílů byl navržen koncept „Treat-to-Target“, založen na kombinaci informací získaných systematickým prohledáním dříve publikovaných prací a názorů odborníků [44].



## **2. Hypotézy a cíle**

Primárním cílem disertační práce je identifikace prediktivních faktorů průběhu IBD u dětských pacientů a jejich následné využití v konkrétních klinických situacích. Spektrum klinických situací, řešených v rámci této práce, zahrnuje možnost predikce diagnózy, obecně komplikovaného průběhu onemocnění, odpovědi na konkrétní terapeutický režim, rozvoj nežádoucích účinků asociovaných se zvoleným terapeutickým postupem a posouzení adherence pacienta k léčbě.

Možnost predikovat určitý jev v klinické praxi umožňuje včasně reagovat a optimalizovat péči o pacienta, a tím předejít komplikovanému průběhu onemocnění nebo rozvoji s onemocněním asociovaných komplikací, eventuálně podávanou léčbou. V mnoha ohledech lze tak díky znalosti prediktivních faktorů významně přispět k lepší kontrole onemocnění a vyšší kvalitě života pacienta.

### 3. Materiál a metodika

Získání optimálního datového souboru k účelu identifikace prediktivních faktorů je možné a efektivní jak s využitím retrospektivního, tak prospektivního přístupu. Ačkoliv je v mnoha ohledech design kontrolované randomizované studie (RCT) jistě nejprůkaznějším, v případě identifikace nezávislých prediktivních faktorů může mít důležité limitace. RCT jsou obecně finančně nákladné, obtížně realizovatelné, a především v rámci dětské populace nemusí splnit některé důležité požadavky, jako je dostatečně dlouhá doba sledování a adekvátní množství pacientů ve sledovaném souboru. Jako zcela ideální by se jevilo identifikovat prediktivní faktor a následně pomocí RCT testovat jeho klinický dopad. Za nejpříhodnější zdroj vstupních dat pro identifikaci prediktivních faktorů lze považovat dlouhodobé, rozsáhlé, ideálně prospektivní mezinárodní registry.

Z celkem devíti původních prací, byly tři provedeny v prospektivním designu jako observační studie [45-47]. V retrospektivním designu bylo provedeno celkem pět prací [48-52]. Poslední práce byla provedena jako retrospektivní analýza prospektivně získaného souboru [53]. Dvě z těchto prací byly realizovány jako multicentrické projekty v rámci mezinárodní spolupráce [52, 53] pod záštitou pediatrické pracovní IBD skupiny „Porto group“ při Evropské společnosti pro pediatrickou gastroenterologii, hepatologii a výživu / The European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition (ESPGHAN). Jedna z těchto prací byla navržena a koordinována cestou Pediatrické kliniky 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Motol (PK 2. LF UK a FN Motol) [53]. Datové soubory pro realizaci všech projektů byly získány jednak od dětských pacientů s diagnózou IBD sledovaných na PK 2. LF UK a FN Motol, tak od pacientů sledovaných v jiných tuzemských i světových centrech specializovaných v péči o dětské pacienty s IBD. Zásadním zdrojem dat jedné ze studií [53] byl mezinárodní incidenční registr EUROKIDS [54] se sídlem v Rotterdamu, Holandsko.

V rámci metodického postupu každé práce mělo významnou roli stanovení primárního jevu, který byl cílem predikce, tedy tzv. outcome. Pro každý cíl existuje jiný soubor vhodných prediktorů, jejichž spektrum se tedy významně mění v závislosti na stanoveném outcome. V rámci osmi původních prací jsme vybrali následující cíle: určení diagnózy, předpokládaný charakter průběhu onemocnění, nutnost změny konkrétního terapeutického přístupu, trvající efekt vybrané léčebné strategie, nutnost aplikace kombinované léčby, endoskopická aktivita onemocnění, rozvoj nežádoucích účinků asociovaných s terapií a adherence pacienta k léčbě.

Pro realizaci některých projektů byly využity částečně experimentální laboratorní postupy, které nejsou aktuálně standardizovanými, plně etablovanými metodami běžné klinické

praxe [46-49]: stanovení hladiny tkáňového kalprotektinu (tCPT), imunohistochemické hodnocení exprese CD30 pozitivních (CD30+) buněk ve střevní sliznici, využití nově vyvinutého testu určeného ke kvantitativnímu stanovení hladiny fCPT v domácím prostředí a detekce metabolitů AZA.

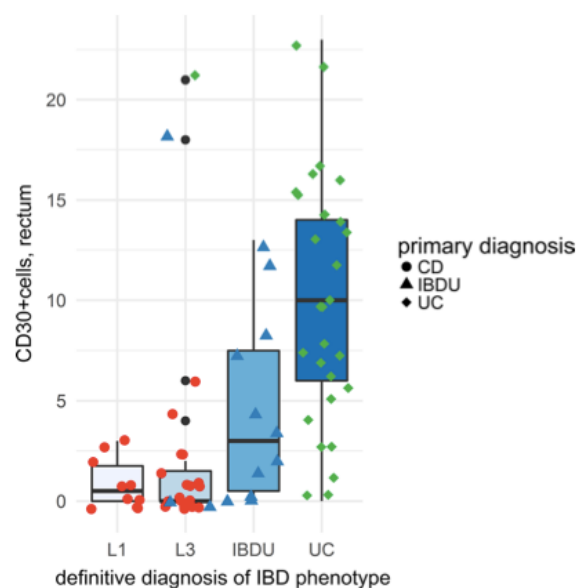
Všechna data v rámci realizovaných projektů byla analyzována pomocí statistického software R. Přesnost diagnostických metod byla srovnána pomocí DeLong testu ROC (receiver operating characteristic) křivek. V případě sledování pacientů v průběhu času byly použity survival analýzy a COX regrese. Pro opakované měření jednoho pacienta byl aplikován mix model.

## 4. Výsledky

Obecně lze výsledky jednotlivých studií shrnout jako získání souboru nových informací, na základě kterých lze předem odhadnout určitý jev, jehož včasné ovlivnění nebo lépe, jehož předejití vede ke zlepšení péče o dětské pacienty s diagnózou IBD. Prediktory byly vždy hledány ve vztahu ke konkrétní klinické situaci, jako je diagnóza, komplikovaný průběh onemocnění, volba léčebné strategie, odhad jejího efektu nebo bezpečnosti, a tím jsou velmi dobře aplikovatelné v běžné klinické praxi.

### 4.1. Predikce diagnózy

S cílem zpřesnit diagnostický proces a umožnit predikci další diferenciaci zánětlivého střevního onemocnění, které není v době provedení první endoskopie jednoznačně zařaditelné, byla provedena imunohistochemická analýza CD30+ buněk v bioptických vzorcích střevní sliznice [48]. Míra exprese CD30+ buněk byla mezi pacienty s diagnózou CD a UC statisticky významně odlišná při srovnání mediánů, průměrů i maximálních hodnot jak absolutních počtů CD30+ buněk v celé střevní sliznici, tak při hodnocení jednotlivých střevních segmentů (terminální ileum, kolon transversum, kolon descendens a rektum). Nejnápadnější rozdíl v tomto ohledu byl zachycen při srovnání počtů CD30+ buněk ve střevní sliznici z rekta (obrázek 1). Rozlišení mezi pacienty s CD a UC pomocí exprese CD30+ nebylo v naší práci nezávislé na intenzitě střevního zánětu. Na základě nově zjištěných údajů lze tak imunohistochemické barvení bioptických vzorků střevní sliznice na CD30+ buněk považovat za spolehlivou a jednoduchou metodu, která může, jako podpůrný parametr, významně přispět k diferenciální diagnostice mezi jednotlivými subtypy IBD u dětských pacientů naivních k léčbě [48].

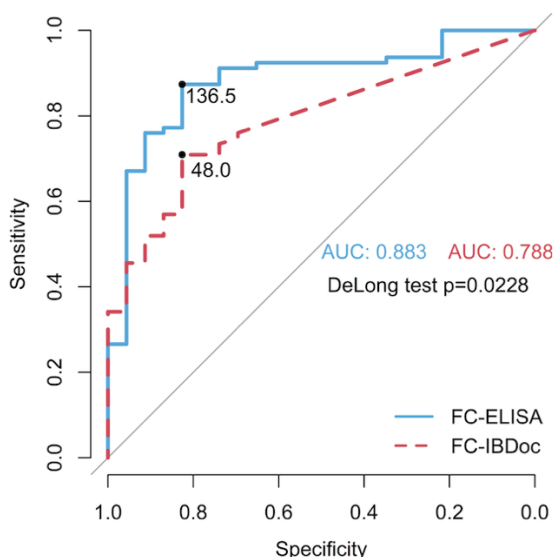


Obrázek 1.

Boxplot porovnávající počty buněk CD30+ v rektu u pacientů s Crohnovu chorobu, ulcerózní kolitidu a nezařaditelným zánětlivým střevním onemocněním.

## 4.2. Predikce aktivity a průběhu onemocnění

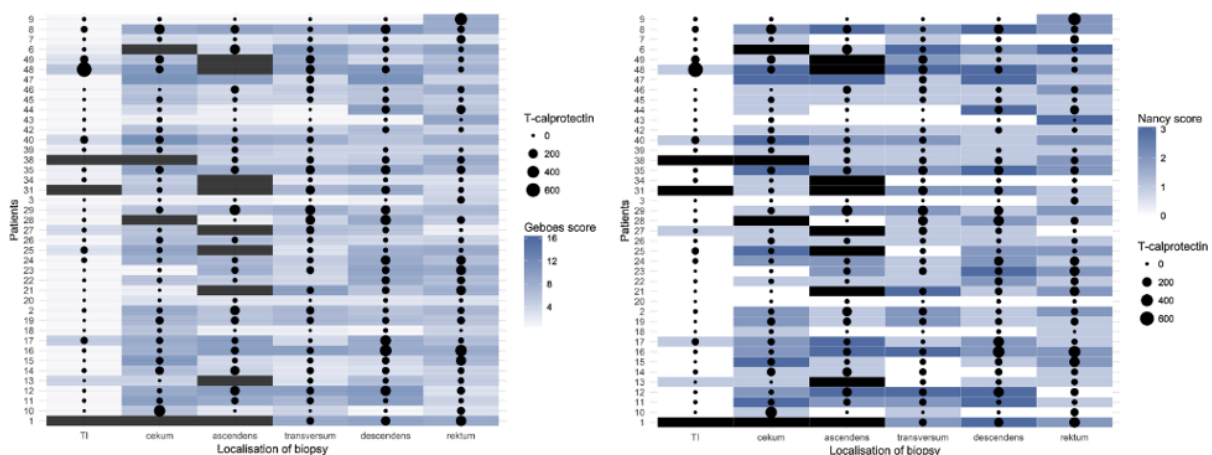
Cílem další práce bylo rozšířit spektrum spolehlivých možností k určení aktivity onemocnění. K tomuto účelu jsme se rozhodli ověřit, zda lze bezpečně používat u lůžka provedené, telefonem snímané vyšetření fCPT, který je v rámci sledování pacientů s IBD nejdůležitějším laboratorním parametrem. Hladiny fCPT získané pomocí testu navrženého pro domácí použití byly srovnány s hladinami získanými cestou standardizované laboratorní metody ELISA (enzyme-linked immuno sorbent assay). Jako zlatý standard, ke kterému bylo toto srovnání vztaženo, byla zvolena endoskopická aktivita, definovaná pomocí endoskopických skórovacích systémů. [46]. Statisticky významná asociace s endoskopicky určenou mírou slizničního hojení byla nalezena v obou případech, tedy jak při srovnání s výsledky hladin fCPT získaných metodou ELISA, tak naměřených hodnot pomocí domácího testu. Při srovnání obou metod ke stanovení fCPT byla signifikantně spolehlivějším prediktorem slizničního hojení hladina fCPT získaná pomocí metody ELISA (obrázek 2). Domácí test by tak na základě výsledků této práce neměl nahradit rutinní sledování aktivity onemocnění pomocí laboratorně získané hladiny fCPT, s výhodou může být využit pro získání orientačního výsledku v rámci tzv. self-monitoring onemocnění a urychlit tak zjištění o narůstající aktivitě střevního zánětu.



Obrázek 2. Porovnání přesnosti predikce slizničního hojení mezi hladinami fekálního kalprotektinu získanými standardní laboratorní metodou ELISA (FC-ELISA) a testem pro domácí použití (FC-IBDoc).

V další práci jsme se zabývali predikcí obecně komplikovaného průběhu UC. Hlavním cílem bylo posoudit užitečnost imunohistochemicky hodnoceného kalprotektinu získaného ze střevní sliznice (tCPT) [49]. K takovému účelu nebyl dle dostupných informací tCPT nikdy dříve využit. Korelace mezi tCPT a histopatologickými skórovacími systémy byla hodnocena

jako dobrá (obrázek 3), korelace tCPT s fCPT, PUCAI a UCEIS jako mírná. Hladina tCPT nebyla stejně jako endoskopická aktivita onemocnění (definovaná pomocí UCEIS) nebo histopatologické skórovací systémy (Geboes a Nancy skóre) prokázána jako faktor predikující komplikovaný průběh UC v době stanovení diagnózy. Je tedy třeba shrnout, že význam imunohistopatologického vyšetření v predikci komplikovaného průběhu onemocnění u dětských pacientů s UC zůstává nejistý. Přestože se nám nepodařilo prokázat, že by tCPT predikoval komplikovaný průběh UC, našli jsme významnou prediktivní hodnotu vůči rozvoji komplikovaného průběhu onemocnění u hladiny fCPT a aktivity onemocnění definované pomocí indexu PUCAI získaných v době diagnózy.



Obrázek 3. Heat-map (mapa intenzity jevu) odrážející distribuci hodnot histopatologických skóre Geboes a Nancy a počtu buněk pozitivních na kalprotektin ve všech střevních segmentech.

### 4.3. Predikce efektivity a komplikací léčebných postupů

Možnost individuální predikce časného selhání léčby thiopuriny u dětských pacientů s diagnózou CD v době stanovení diagnózy byla cílem velkého mezinárodního projektu, na jehož realizaci se podílelo třináct evropských center a byl koordinován na PK 2. LF UK a FN Motol [53]. Podařilo se nám identifikovat šest nezávislých prediktivních faktorů časného selhání: BMI Z-skóre v době diagnózy, lokalizace onemocnění v době diagnózy (abnormální nález na zobrazovacích metodách v oblasti kolon sigmoideum, abnormální endoskopický nález jícnu a ileokolické postižení), hladina CRP v době diagnózy a interakce věku a dávky AZA/6-MP. Kombinací těchto nově zjištěných parametrů byl vytvořen predikční model umožňující stanovit individuální odhad doby do relapsu dětského pacienta s nově stanovenou diagnózou CD při léčbě AZA/6-MP (tabulka 1, obrázek 4). Za účelem jednoduchého převedení

predikčního modelu do klinické praxe jsme vytvořili webovou aplikaci, která po zadání jednotlivých parametrů z doby před zahájením léčby vyčíslí individuální riziko časného selhání a pomocí křivky přežití graficky znázorní pravděpodobnost udržení remise při léčbě AZA/6-MP: [https://gastroped.shinyapps.io/AZA\\_time\\_to\\_relapse/](https://gastroped.shinyapps.io/AZA_time_to_relapse/) (obrázek 5). S ohledem na další výstup této práce, který prokázal trvajících remisi onemocnění při léčbě AZA/6-MP i po 2 letech u 50,3 % pacientů, lze thiopuriny považovat za stále vhodnou léčebnou strategii pro pediatrické pacienty s diagnózou CD, jejichž efektivní aplikaci lze předpokládat především u skupiny CD pacientů vybraných na základě nově vyvinutého predikčního modelu.

**Tabulka 1.** Parametry konečného predikčního modelu

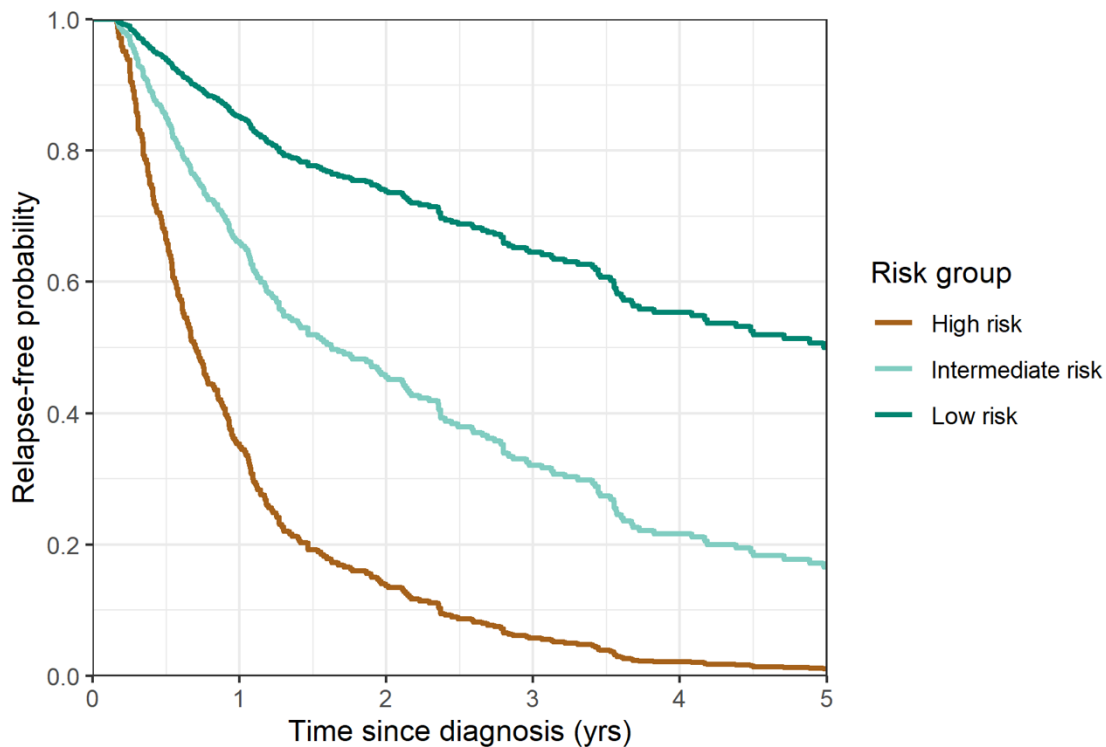
**Tabulka 1 a.** Hlavní efekt neinteragujících faktorů

	HR	95 % CI pro HR	p hodnota
Centrum	NA	NA	0.0003*
C-reaktivní protein (100 mg/L)	1.396	1.019 - 1.912	0.0377
Body mass index Z-skóre > 0.8	0.533	0.360 - 0.789	0.0016
Ileokolické postižení (L3 klasifikace) [30]	1.396	1.048 - 1.860	0.0226
Pozitivní nález při zobrazení esovitého tračnicku	1.503	1.021 - 2.212	0.0388
Pozitivní endoskopický nález jícnu	1.712	1.176 - 2.490	0.0050

**Tabulka 1 b.** Odhadovaný efekt thiopurinů na relaps v různých věkových skupinách

	HR	95 % CI pro HR	p hodnota
Účinek jednotky dávky thiopurinů ve věkové skupině 0-7 let	1.667	0.593 - 4.680	0.3323
Účinek jednotky dávky thiopurinů ve věkové skupině 8-11 let	0.441	0.223 - 0.870	0.0183
Účinek jednotky dávky thiopurinů ve věkové skupině 12-14 let	1.285	0.795 - 2.078	0.3065
Účinek jednotky dávky thiopurinů ve věkové skupině 15-18 let	0.722	0.387 - 1.347	0.3056

HR: hazard ratio (poměr rizik), CI: konfidenční interval, \*p hodnota pro všechna centra

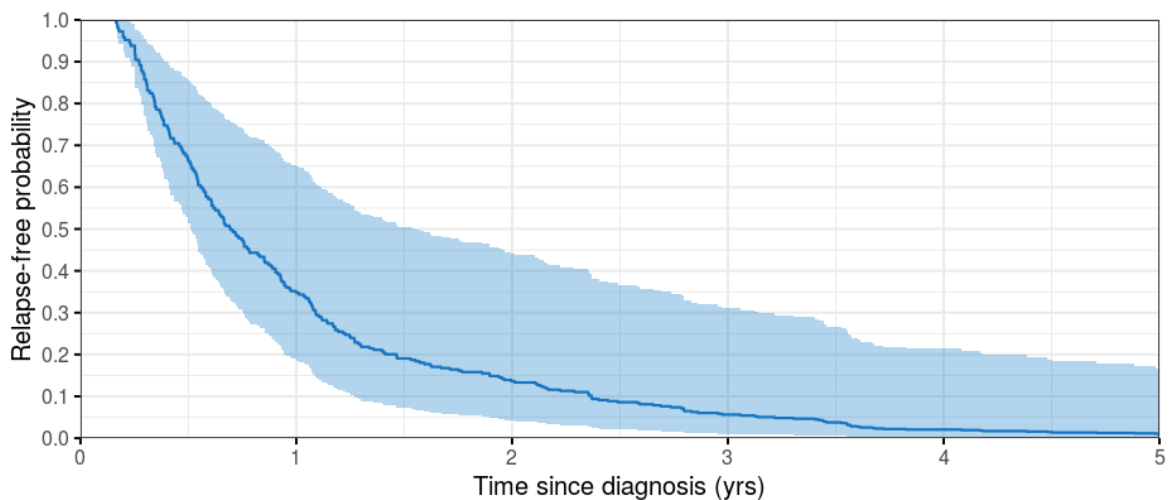


Obrázek 4.

Porovnání rizikových skupin: modrá: skupina s nízkým rizikem (HR=1), medián doby do relapsu 4,98 roku, pravděpodobnost bez relapsu po 2 letech 0,738; zelená: skupina se středním rizikem (HR=2,59), medián času do relapsu 1,63 roku, pravděpodobnost bez relapsu po 2 letech 0,455; červená: skupina s vysokým rizikem (HR = 6,54), medián času do relapsu 0,70 roku, pravděpodobnost bez relapsu po 2 letech 0,137.

Poznámka: tyto výsledky se zaměřují na klinické charakteristiky a nezohledňují rozdíly centry v riziku relapsu, všechny se počítají pro pacienta umístěného v největším centru z hlediska zúčastněných pacientů se středním rizikem mezi všemi centry. HR: hazard ratio (poměr rizik)

[1] "Median time to relapse: 0.695 years, 95% CI 0.512 - 1.552"

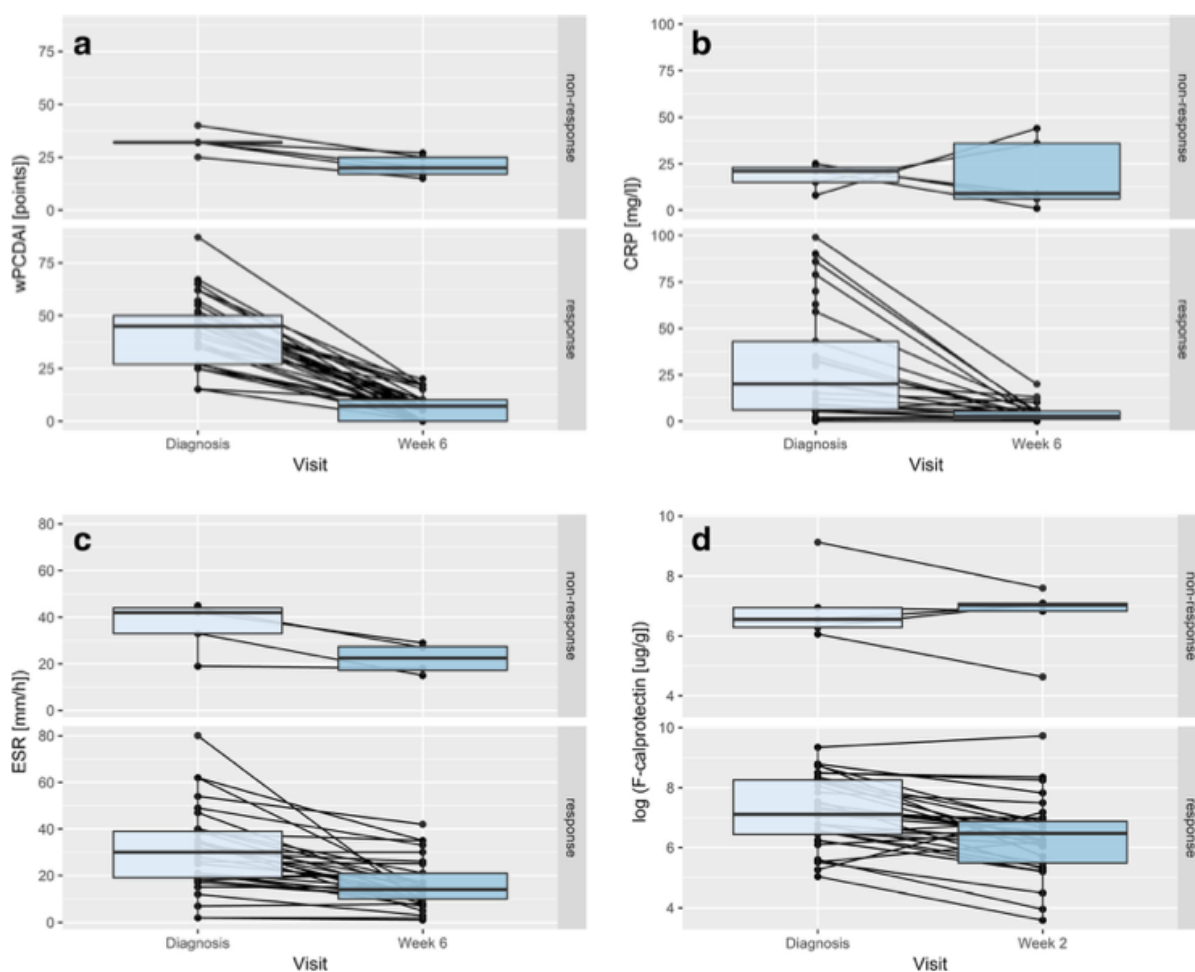


Obrázek 5.

Webová aplikace znázorňující individuální riziko časného relapsu při léčbě thiopuriny.



Otázkou, kterou si kladla další práce, bylo, zda je možné pomocí jednoduše dostupného laboratorního parametru, který reflektuje slizniční hojení, fCPT, predikovat trvalý efekt konkrétního léčebného postupu, tedy indukce remise pomocí EEN. Nepodařilo se nám prokázat, že by změna koncentrace fCPT ve druhém týdnu od zahájení EEN (týden 0) predikovala pacienty, kteří nedosáhnou odpovědi na EEN v 6. týdnu. Vývoj jednotlivých parametrů aktivity onemocnění v čase je znázorněn na obrázku 6. Časně získanou hladinu fCPT po zahájení EEN u dětských pacientů s nově diagnostikovanou CD tedy není možné považovat, za dostatečný parametr umožňující selekci pacientů, kteří neodpoví na EEN ani na jejím konci a tím na základě této informace indukční léčbu změnit [55].



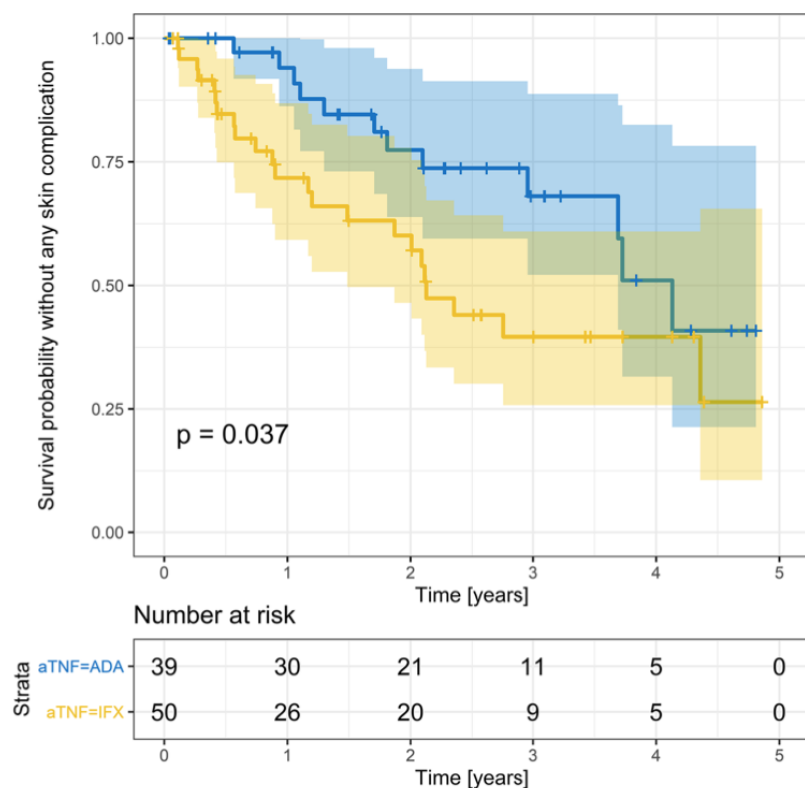
Obrázek 6.

Vývoj parametrů aktivity zánětu v průběhu indukce remise výlučnou enterální výživou (týden 0 až 6).

Limitujícím faktorem úspěšnosti medikace je vedle jejího přímého efektu i riziko rozvoje nežádoucích účinků, jejichž přítomnost může do jisté míry ovlivnit i compliance / adherenci pacienta k podávané léčbě. V kohortě dětských pacientů s diagnózou CD léčených

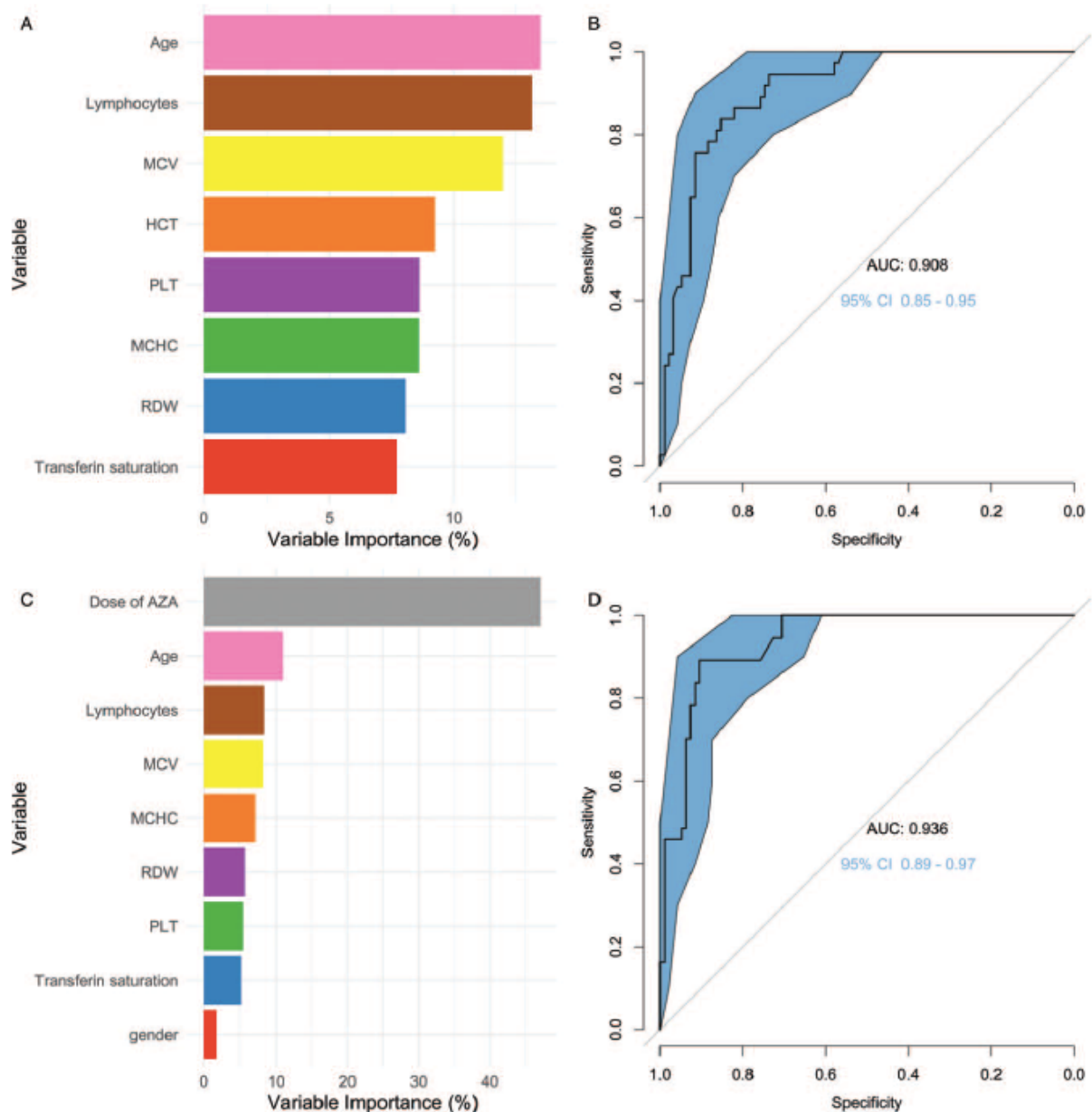
aTNF preparátem jsme hledali prediktivní faktory, které by nám pomohly identifikovat pacienty, kteří mají častěji kožní nežádoucí účinky. Zjistili jsme, že takovým faktorem je léčba IFX (ve srovnání s ADA), a to jak pro jakoukoliv neinfekční kožní lézi, tak pro atopickou dermatitidu (obrázek 7). Z klinického pohledu je třeba počítat až s dvojnásobným rizikem rozvoje kožního nežádoucího účinku aTNF při volbě IFX a až šesti násobným zvýšením rizika rozvoje atopické dermatitidy. Dalším zajímavým zjištěním byla asociace kožních nežádoucích účinků s nízkými CRP, která vypovídá o dobré kompenzaci CD. Lze shrnout, že v porovnání s adalimumabem lze IFX považovat za prediktor rozvoje kožních nežádoucích účinků aTNF terapie [50].

Obrázek 7.  
Rozdíl v kumulativním výskytu dermatologických komplikací u dětských pacientů s Crohnovou chorobou léčených adalimumabem nebo infliximabem



Za využití jednoduše přístupných biochemických a hematologických parametrů (střední objem erytrocytu, šíře distribuce erytrocytu, střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu, hematokrit, počet trombocytů, sérová hladina albuminu, železa a saturace transferinu), věku a pohlaví byly vytvořeny modely umožňující predikovat pacienty s nízkou hladinou metabolitů AZA ( $6\text{-TGN} < 125\text{pmol}/8 \times 10^8$  v erytrocytu a  $6\text{-MMP} < 5700\text{pmol}/8 \times 10^8$  v erytrocytu), kteří budou pravděpodobně profitovat z eskalace medikace, a pacienty s nedetekovatelnou hladinou 6-TGN a hladinou 6-MMP  $< 240\text{pmol}/8 \times 10^8$  v erytrocytu, tedy velmi pravděpodobně non-adherentní k terapii AZA [51] (obrázek 8). S cílem zjednodušit přístup k nově získaným

informacím v běžné klinické praxi, byly vytvořeny webové aplikace: [https://hradskyo.shinyapps.io/6TG\\_prediction/](https://hradskyo.shinyapps.io/6TG_prediction/) a [https://hradskyo.shinyapps.io/Non\\_adherence/](https://hradskyo.shinyapps.io/Non_adherence/)).



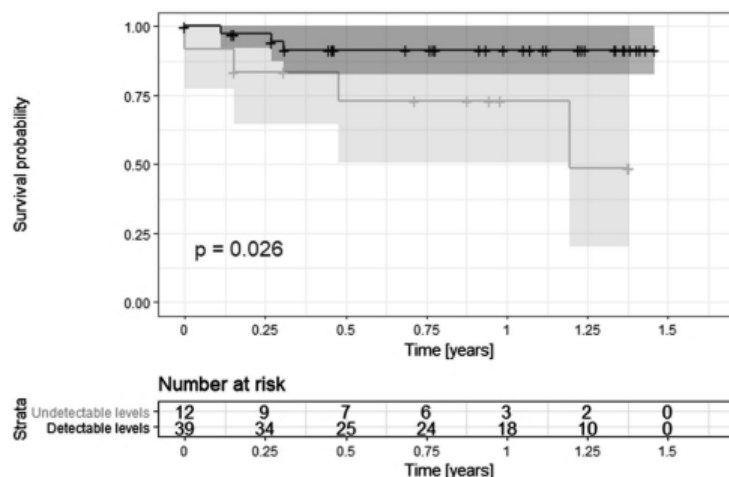
Obrázek 8.

Sloupcové grafy ukazující relativní důležitost prediktorů v modelu, který byl konstruován pomocí tréninkového datového souboru (A, C) a ROC (receiver operation characteristic) křivky pro finální model vytvořený na testovacím datovém souboru pro predikci potřeby eskalace azathioprinu a non-adherence k léčbě (B, D).

Cílem další práce bylo posouzení užitečnosti monitorovat hladiny metabolitů AZA u pacientů na kombinované terapii (AZA a aTNF). Zjistili jsme, že dostatečné hladiny 6-TGN

v erythrocytu jsou asociovány se sérovými hladinami aTNF. Hodnota 6-TGN v erythrocytu nad 278 pmol/8 x 10<sup>8</sup> se jeví jako optimální k dosažení cílové sérové koncentrace infliximabu nad 5 µg/ml. Signifikantně vyšší míra ztráty odpovědi k aTNF byla zaznamenána v případech nedetekovatelných hladin 6-TGN (obrázek 9). Na základě nově získaných informací lze monitoraci metabolitů AZA považovat za užitečnou při optimalizaci kombinované terapie u dětských pacientů s diagnózou CD [47].

Obrázek 9  
Křivka přežití ukazující riziko ztráty odpovědi k infliximabu v závislosti na hladinách 6-thioguanin nukleotidu.



#### 4.4. Mezinárodní observační průzkum

Výsledkem mezinárodní spolupráce je přehled vakcinačního a imunizačního stavu dětských pacientů s diagnózou IBD [56]. Přestože studie svým primárním zaměřením necílí na identifikaci prediktivních faktorů, upozorňuje na důležitý aspekt preventivní péče o dětské pacienty s diagnózou IBD. Analýza souboru 430 dětí prokázala nedostatečnou míru serologické odpovědi proti virovým infekcím u dětských pacientů s IBD, který nebyl následován přiměřenou vakcinací. Doporučená vakcinace byla kompletní u 8,8 % sledovaných pacientů. Doporučované rutinní prověření přítomnosti nebo prodělání infekce virem Epstein-Barrové (EBV) před zahájením aplikace imunosupresivní léčby a vyloučení latentní formy tuberkulózy před první aplikací biologické léčby nebylo dle aktuálních doporučení ESPGHAN možné na základě získaných dat hodnotit jako adekvátní.

## 5. Diskuze

Ačkoliv, s výjimkou jedné, všechny původní práce spojuje primární záměr přispět ke zlepšení péče o dětské pacienty s IBD díky nově identifikovaným možnostem predikce konkrétního klinického jevu, jednotlivé zvolené klinické situace se od sebe mírně liší a bude tak vhodnější diskutovat výsledky práce postupně.

### 5.1. Predikace diagnózy: Imunohistochemické hodnocení slizniční exprese CD30+ buněk

Role CD30 antigenu u pacientů s diagnózou IBD nebyla dosud spolehlivě určena. S cílem ověření užitečnosti tohoto parametru v diagnostice IBD byla dosud provedena pouze jedna práce [57]. V rámci studie byla srovnána míra exprese CD30+ ve sliznici nejvíce postižených úseků střeva u dospělých pacientů s CD a UC. Stejně jako v námi provedené práci [48], byl i v této studii prokázán statisticky signifikantní rozdíl v počtech zachycených CD30+ lymfocytů u pacientů s CD a UC. Nicméně rektální lokalizace a absolutní počet CD30+ v rámci celého kolon byly v námi provedené práci [48] prokázány jako lepší rozlišující faktor mezi CD a UC ve srovnání se vzorky odebranými z nejvíce postiženým úsekem střeva [57].

Další diskutovanou otázkou plynoucí z výsledků námi provedené studie může být využití CD30+ tkáňové exprese pro lepší klasifikaci pacientů s diagnózou IBD-U. Ačkoliv, jak již bylo zmíněno výše, aktuální kritéria [1] pro diagnostiku IBD v dětském věku se kloní k tradičnímu rozdělení pacientů na CD a UC s pojetím IBD-U jako spíše přechodné diagnózy, recentně publikovaná práce [2] naznačuje, že IBD-U může být samostatným subtypem IBD s vlastní charakteristikou a dokonce genetickým profilem. Při srovnání počtů slizničních CD30+ buněk mezi pacienty s IBD-U a CD nebyl prokázán rozdíl, naopak statisticky významný rozdíl byl popsán při porovnání míry exprese slizniční CD30+ u pacientů s IBD-U a UC. Toto zjištění naznačuje možnou větší blízkost diagnózy IBD-U s CD než UC, a liší se tak od aktuálních doporučení, na základě kterých je léčba IBD-U shodná s léčbou UC.

### 5.2. Predikce aktivity a průběhu onemocnění

#### 5.2.1. Přesnost stanovení hladiny fekálního kalprotektinu pomocí domácího testu

Různá úroveň korelace mezi hladinami fCPT získanými pomocí jednoho z aktuálně tří dostupných testů pro domácí použití a standardní laboratorní metody ELISA byla prokázána ve více dříve provedených pracích realizovaných v rámci dospělé i dětské populace [58-62]. Žádná s těchto studií nicméně nezohledňuje klinická data, ale pouze porovnává jednu metodu vůči druhé. S ohledem na chybějící zlatý standard pro určení skutečné klinické aktivity, je tak

obtížné na základě provedených prací hodnotit, která z metod je přesnější. Ze stejného důvodu nebylo možné v rámci dříve provedených prací určit optimální cut-off hladiny fCPT, která by predikovala slizniční hojení. Hodnoty jednotlivých cut-off spočítané v naší práci pro obě metody měření se od sebe statisticky významně liší, a je tak třeba upozornit, že výsledky získané jednou metodou nelze volně srovnat s výsledky druhé metody. V rámci rozsáhlé meta-analýzy byla optimální hladina cut-off predikující slizniční hojení stanovena na 250 ug/g za využití standardní laboratorní metody ELISA [63]. Cut-off 136 ug/g zjištěný v naší provedené práci lze považovat za blízký se této hodnotě [46]. Hladina cut-off zjištěná pro domácí testy se pohybovala v rozmezí od 50 do 150 ug/g [58, 59, 62], v žádné z prací však nebyla počítána ve vztahu k endoskopickému skóre, ale pouze s ohledem na výši fCPT získanou metodou ELISA. Vzhledem k tomu, že v naší práci byla hodnota cut-off hledána ve vztahu k endoskopickému skóre, lze ji považovat za nejlépe určenou a v klinické praxi ji doporučujeme používat (fCPT 48 ug/g) [46].

### **5.2.2. Limitované využití tkáňového kalprotektinu pro predikci komplikovaného průběhu ulcerózní kolitidy**

S přihlédnutím k limitacím, jako jsou velmi nízká specifita, vysoká intraindividuální variabilita nebo přirozeně vyšší hodnoty v nejmladším věku [64-68] jinak spolehlivě zavedeného neinvazivního parametru intenzity střevního postižení, fCPT [69], byla provedena první studie ověřující možnost využití tCPT v péči o dětské pacienty s diagnózou IBD.

Aktuálně jsou k dispozici pouze dvě práce, obě provedené na dospělých pacientech, které se v jistém ohledu zabývaly tCPT. V jedné z těchto prací byla prokázána pouze asociace nízké hladiny tCPT s klinickou, endoskopickou i mikroskopickou remisí u pacientů s UC, a naopak vyšší hladina tCPT byla asociována s horším klinickým průběhem onemocnění [70]. Ve druhé práci byla popsána pouze zvýšená hladina tCPT zachycená u pacientů s IBD [71].

Stejně jako v předchozí studii [70] jsme v naší provedené práci prokázali asociaci mezi hladinou tCPT a histopatologickými skórovacími systémy odrážejícími mikroskopickou aktivitu onemocnění, nicméně prokázat prediktivní hodnotu tCPT vůči komplikovanému průběhu onemocnění u dětských pacientů s diagnózou UC se nepodařilo [49].

## **5.3. Predikce efektivity a komplikací léčebných postupů**

### **5.3.1. Predikce času do relapsu u dětských pacientů s Crohnovou chorobou léčených thiopuriny**

Jedním z výstupů této multicentrické, mezinárodní práce byla observace prvního klinického relapsu onemocnění do dvou let od zahájení terapie thiopuriny u 49,7 % dětských pacientů s CD, u nichž byla dosažena remise po indukční léčbě EEN nebo kortikosteroidy [53]. Ačkoliv tato data nejsou natolik optimistická jako výsledek jediné RCT provedené na dětských pacientech s IBD, v rámci které byla remise popsána u 90 % sledované populace po dvou letech užívání thiopurinů [38], jsou téměř shodná s menšími retrospektivními pracemi [37, 72], ukazujícími přibližně 50 % úspěšnost léčby thiopuriny po dvou letech.

Ačkoliv se dle recentně provedené RCT [73] jeví aplikace intenzivního terapeutického režimu, biologické léčby, časně po stanovení diagnózy, jako velmi efektivní způsob dosažení a udržení remise u dětských pacientů s CD, má tento postup své limity. Mezi tato omezení patří např. vysoká cena léku, limitovaná doba účinku nebo zvýšené riziko komplikovaných a oportunních infekcí [74-79]. Mimo to velmi pravděpodobně existuje skupina dětských pacientů s CD, kteří nevyžadují zahájení intenzivního terapeutického přístupu časně po stanovení diagnózy a pro kterou jsou thiopuriny vhodnou volbou k udržení remise onemocnění. Nicméně na základě dosud publikovaných dat nebylo možné spolehlivě tyto pacienty určit.

Práce, které byly zaměřeny na identifikaci prediktorů obecně komplikovaného průběhu CD v dětském věku [80-85], se od sebe liší v mnoha ohledech, jako je např. definice outcome, zahrnutá populace nebo výběr sledovaných proměnných. Žádná z těchto provedených studií se nezaměřila na posouzení odpovědi na konkrétní terapeutický režim.

Ačkoliv lze do jisté míry využít prediktory obecného průběhu onemocnění, znalost prediktivních faktorů časného selhání specifického terapeutického režimu se zdá být vhodnější. S primárním cílem identifikace prediktorů časného selhání thiopurinů u dětských pacientů s CD byla provedena pouze jedna retrospektivní práce [72], v rámci které nebyl ze studovaných parametrů (věk, pohlaví, lokalizace a chování onemocnění, přítomnost perianálního fistulujícího onemocnění a extraintestinální manifestace v době diagnózy) nalezen žádný prokazatelný prediktivní faktor. Menší retrospektivní práce, jejímž primárním cílem bylo srovnání indukčních terapeutických režimů (EEN, kortikosteroidy, biologická a chirurgická léčba) u dětských pacientů s CD, popsala věk pod 16 let a postižení horního gastrointestinálního traktu v době diagnózy jako prediktivní vůči časnému selhání thiopurinů, dalšími sledovanými parametry bylo Z-skóre BMI v době diagnózy a elevace trombocytů v době remise [37]. Další práce, primárně zaměřená na prediktivní hodnotu histopatologických skórovacích systémů, popsala SES-CD nad 16 bodů v době stanovení diagnózy jako prediktor rozvoje komplikovaného průběhu onemocnění [80]. Nicméně žádný stanovený prediktor nebyl

dostatečně silný, aby mohl být spolehlivě využit v klinické praxi. Vhodnou cestou se tak zdá být kombinace více slabších prediktorů.

V rámci dospělé populace pacientů s IBD bylo již několik predikčních modelů odhadující individuální riziko relapsu onemocnění vyvinuto [86, 87]. Avšak srovnání těchto modelů s námi vyvinutým prvním predikčním modelem pro dětské pacienty s CD je s ohledem na odlišnost v mnoha aspektech významně limitováno. Ani jedna z prací nezohledňuje zvolený terapeutický režim u zařazených pacientů, liší se ve studované populaci i stanovených outcome.

### **5.3.2. Predikce časně odpovědi na zvolený terapeutický režim pomocí fekálního kalprotektinu**

Jak již bylo ve výsledcích uvedeno, nepodařilo se nám prokázat, že by hladina fCPT ve druhém týdnu od zahájení EEN byla klinicky užitečným prediktorem trvající odpovědi v době jejího ukončení. Nabízí se tedy otázka, kdy je k hodnocení odpovědi na indukční terapii cestou EEN pomocí fCPT vhodná doba. Jiná studie, která sledovala pokles sérologických parametrů zánětu a fCPT po dobu trvání indukční terapie EEN ukazuje, že zvolený dvoutýdenní interval je možná až příliš krátký, aby během něj mohlo dojít ke změnám takto citlivého parametru [88]. Reakce fCPT byla v této studii prokazatelně nejpomalejší ve srovnání s ostatními sledovanými proměnnými. Další práce prokázala hladinu fCPT získanou až třicátý den od zahájení EEN jako prediktivní faktor trvající odpovědi na konci intervalu EEN [89]. Pro klinické použití je takový časový interval již příliš dlouhý a lépe než odhadovat, zda pacient dosáhne remise např. ve 4. týdnu, se zdá racionálnější počkat do konce EEN, tedy týdne 6. Další práce naopak neprokázala změnu v naměřené hladině fCPT od zahájení EEN do čtvrtého a ani dvanáctého týdne jako prediktor trvající remise po ukončení EEN [90].

Původní otázku, na kterou nelze na základě dosud publikovaných dat zatím spolehlivě odpovědět, podporuje i naše zjištění, že středně zvýšená hladina fCPT v časně fázi aplikace EEN nevyklučuje její pokles v době ukončení této indukční terapie [45].

### **5.3.3. Rizikové faktory rozvoje nežádoucích účinků biologické léčby**

Stejně jako v námi provedené práci byl i v jediné studii realizované v rámci dětské populace zahrnující oba aTNF preparáty první linie, IFX ve srovnání s ADA prokázán jako rizikový faktor rozvoje kožních psoriasiformních lézí [91]. Naopak, toto zvýšené riziko rozvoje kožních komplikací nebylo opakovaně potvrzeno v rozsáhlých studiích provedených na dospělých pacientech s IBD [92-94], u kterých se obecně incidenci kožních komplikací asociovaných s aTNF zdá být nižší [93]. S ohledem na fakt, že v rámci naší práce byla



prokázána silná asociace IFX i k zvýšenému riziku rozvoje atopické dermatitidy, a to i nezávisle na rodinné anamnéze atopie, lze uvažovat o otázce, zda při volbě aTNF v péči o dětské pacienty s IBD nepreferovat ADA, u kterého byla zaznamenána mírně nižší frekvence nežádoucích účinků kožního typu a jehož bezpečnost a účinnost je srovnatelná s IFX [50]. S přihlédnutím k limitacím a síle datového souboru naší práce není na jejím podkladě možné takto pevný závěr učinit, nicméně v rámci personalizace přístupu lze uvažovat např. o favorizaci ADA u dětských pacientů s rodinnou anamnézou atopie.

#### **5.3.4. Adherence k užívání thiopurinů**

Stanovení hladin metabolitů AZA je ideální způsob, jak odhadnout pacienty, u nichž je dávka léku příliš nízká, nebo kteří neužívají léčbu adekvátně. Problematická může být dostupnost tohoto vyšetření v řadě center specializujících se v péči o dětské pacienty s diagnózou IBD. Námi vytvořený model umožňuje predikovat tyto hladiny na základě snadno dostupných laboratorních parametrů. Asociace nízkých hladin 6-MMP nebo 6-TGN a námi identifikovaných faktorů byla zjištěna i dříve [95-100], nicméně nejpravděpodobněji v důsledku častého využití jen jednoho faktoru jako testovaného prediktoru nízkých hladin metabolitů AZA, nedosahovaly tyto studie dostatečné síly. Dostatečně silný model kombinující více prediktivních faktorů non-adherence k AZA byl představen v jedné z dříve provedených prací [101]. Mírně nižší přesnost, kterou tento model dosahoval ve srovnání s námi vyvinutým modelem, může být vysvětlena např. větší heterogenitou populace, nebo nezohledněním některých důležitých aspektů, jako je např. TPMT genotypizace.

S cílem usnadnění dostupnosti nově vytvořeného modelu, byla vyvinuta jednoduchá webová aplikace. Nicméně nelze opomenout, že stanovení hladin metabolitů AZA by mělo být vnímáno jako pouze jeden z více faktorů hodnotících neadekvátní adherenci k medikaci.

#### **5.3.5. Optimalizace kombinované léčby**

V rámci námi provedené práce byla poprvé navržena optimální hodnota pro cut-off hladiny 6-TGN predikující dosažení dostatečné hladiny IFX u dětských pacientů s CD. Její srovnání je tak možné pouze s jedinou prací, která byla s tímto cílem provedena u dospělé populace pacientů s IBD [102]. Autoři této studie uvádí jako hladinu pro výše zmíněné cut-off  $125 \text{ pmol}/8 \times 10^8$  6-TGN v erytrocytu, tedy významně nižší hladinu než námi zjištěnou hodnotu  $278 \text{ pmol}/8 \times 10^8$  6-TGN v erytrocytu. Z aktuálně dostupných dat není možné spolehlivě vysvětlit, proč se v dětském věku zdá být efektivní hladina 6-TGN vyšší než u dospělých pacientů.

Pokud bychom o pacientech s nedetekovatelnými hladinami 6-TGN uvažovali jako o pacientech, kteří jsou vlastně léčeni pouze IFX, je popsána asociace mezi nulovými hladinami 6-TGN a zvýšenou mírou ztráty odpovědi k IFX ve shodě s dříve publikovanými pracemi, které prokazují významně vyšší pravděpodobnost udržení remise na IFX při současné aplikaci imunomodulátoru než při podávání IFX v monoterapii [103, 104].

#### **5.4. Imunizační a vakcinační status u dětských pacientů s IBD**

Menší pozornost, věnovaná vakcinačnímu serologickému profilu u dětských pacientů s IBD, zjištěná v recentně provedené multicentrické mezinárodní studii, neodporuje výsledkům dalších prací provedených na toto téma. Dle rozsáhlé americké studie otázku týkající se provedených očkování pokládá svým pacientům pouze polovina ze 178 zúčastněných dětských gastroenterologů. Záznam do dokumentace pak provedlo jen 31 % z nich a jen 9 % vyžadovalo specifické sérologické vyšetření [105].

Z recentní práce vyplývá, že nejčastějším důvodem nepodání očkování bylo odmítnutí rodičů nebo cena vakcíny. Nutnost akutního podání imunosupresivní terapie jako důvod pro neočkování byla zaznamenána u 27,8 % pacientů. Toto zjištění otevírá myšlenku možného vlivu informovanosti rodičů pacientů a široké veřejnosti. Signifikantní nárůst podaných vakcín byl zaznamenán u 92 dětí s IBD po proběhlé informační akci na téma rizik infekčních onemocnění u dětských pacientů s IBD [106].

I přes doporučení Evropské organizace pro Crohnovu chorobu a ulcerózní kolitidu / The European Society for Crohn's and colitis (ECCO) vydané v roce 2014 [107] provést vyšetření na přítomnosti EBV protilátek u všech pacientů s diagnózou IBD před zahájením aplikace thiopurinů, bylo u sledovaných pacientů provedeno pouze u 21,9 %.

Dalším zjištěním původní práce byl rozpor mezi aktuálním doporučením vydaným ECCO [108] a reálně uplatňovanou strategií testování latentní formy tuberkulózy před zahájením aplikace aTNF.

## 6. Závěr

Za jeden z nevýznamnějších výstupů práce lze považovat vybudování predikčního modelu odhadujícího individuální riziko selhání konkrétního terapeutického postupu u dětských pacientů s CD. Díky vytvoření webové aplikace je model snadno dostupný pro běžnou klinickou praxi. Jde o první systematicky vytvořený nástroj, který umožňuje již v době diagnózy odhadnout míru rizika časně ztráty odpovědi ke standardnímu terapeutickému režimu a tím významně přispívá k žádané personalizaci péče o dětské pacienty s CD.

Na základě dalších dvou predikčních modelů, které byly vytvořeny, lze jednoduše získat velmi dobrý odhad dosažené hladiny metabolitů AZA. Díky této informaci, která není standardně dostupnou současně běžných laboratorních vyšetření, lze získat představu o nevhodném dávkování podávaného léku nebo o non-adherenci pacienta k jeho užívání. Taková znalost může značně přispět k rozhodnutí o individuální volbě léčebné strategie.

Identifikace IFX jako rizikového faktoru rozvoje nežádoucích kožních účinků ve srovnání s ADA může mít význam pro pečlivé uvážení aplikace tohoto léku u rizikové populace dětských pacientů s ohledem na osobní a rodinnou anamnézu kožních onemocnění.

Díky nově zjištěnému optimálnímu cut-off metabolitů AZA, které predikuje dosažení vhodné hladiny IFX, byl přiblížen vztah mezi těmito dvěma léky. Výsledek může poskytnout lepší informační základ při rozhodování o individuálním dávkování obou léků v kombinaci.

Nakonec i v rámci diagnostiky dětských IBD práce přináší identifikaci nového parametru, slizniční exprese CD30+, který může být užitečným pomocným faktorem k přesnějšímu určení diagnózy, to nemusí být v některých situacích zcela jednoznačné.

Nebyla potvrzena užitečnost fCPT získaného časně po zahájení léčby jako vhodného parametru pro identifikaci jedinců, kteří na léčbu neodpoví vůbec. Na základě výsledků této práce se při posuzování efektu EEN o fCPT v časných fázích neopíráme a spoléháme jen na klinickou odpověď. Domácího testování fCPT lze využít, ale dle našich poznatků víme, že ELISA vyšetření je třeba považovat za přesnější. Spíše vyvrácena byla i teorie o možném využití tCPT pro predikci dalšího průběhu onemocnění u dětských pacientů s UC.

Nová zjištění plynoucí z této práce přinášejí celou řadu cenných informací s klinickým dopadem v oblasti péče o dětské pacienty s IBD. Díky nově identifikovaným možnostem predikce konkrétních klinických otázek je odpověď na ně informovanější, a lze tak předpokládat větší přesnost při rozhodování. Jistě ne všechny námi kladené otázky jsou plně zodpovězeny a teprve po ověření těchto prediktorů, např. ověřením modelů na externích kohortách nebo ještě lépe porovnání přístupů za pomoci námi vyvinutých modelů, ukáže definitivní správnost těchto předpovědí.

## 7. Conclusion

One of the most important outputs of the work can be considered the construction of a predictive model estimating the individual risk of failure of a particular therapeutic procedure in pediatric patients with CD. Thanks to the creation of a web application the model is easily accessible for clinical practice. It is the first systematically developed tool that allows to estimate the degree of risk of early loss of response to thiopurines at the time of diagnosis and thus significantly contributes to the personalization of care of pediatric patients with CD.

Based on the other two predictive models that have been developed, a very good estimate of the achieved level of AZA metabolites can be easily obtained. Thanks to this information, which is not available in routine laboratory tests, it is possible to get an idea of the inappropriate dosage or the patient 's non-adherence.

The identification of IFX as a risk factor for the development of skin side effects compared to ADA may be important for careful consideration of the use of this drug in at-risk populations of pediatric patients with respect to personal and family history of skin diseases.

Thanks to the newly discovered optimal cut-off of AZA metabolites, which predicts the achievement of an appropriate level of IFX, the relationship between the two drugs was approximated. The result can provide a better information base when deciding on the individual dosage of both drugs in combination.

Finally, within the diagnostics of pediatric IBD, the work identifies a new parameter, mucosal expression of CD30+, which may be a useful additional factor in more accurate diagnosis determination, which may not be entirely clear in some situations.

The usefulness of fCPT obtained early after initiation of treatment as a suitable parameter for identifying individuals, who do not respond to the treatment at all, was not confirmed. Based on the results of this work, we cannot rely on fCPT when evaluating the effect of EEN in the early stages. Home testing of fCPT can be used, but ELISA testing should be considered more accurate. The theory of the possible use of tCPT levels to predict the further course of the disease in pediatric patients with UC was refuted.

The new findings of this work provide a wealth of valuable information with a clinical impact in the care of pediatric patients with IBD. Thanks to the newly identified possibilities of predicting specific clinical questions, the answer to them is more informed and it is possible to assume greater accuracy in decision-making process. Certainly not all of the questions we asked, were fully answered and only after verifying these predictors, such as verifying models on external cohorts or even better, comparing approaches using the models we developed, we can assess the definitive correctness of these predictions.

## Reference

1. Levine, A., et al., *ESPGHAN revised porto criteria for the diagnosis of inflammatory bowel disease in children and adolescents*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2014. **58**(6): p. 795-806.
2. Cleynen, I., et al., *Inherited determinants of Crohn's disease and ulcerative colitis phenotypes: a genetic association study*. Lancet, 2016. **387**(10014): p. 156-67.
3. Moniuszko, A., A. Wisniewska, and G. Rydzewska, *Biomarkers in management of inflammatory bowel disease*. Prz Gastroenterol, 2013. **8**(5): p. 275-83.
4. Pariente, B., et al., *Development of the Crohn's disease digestive damage score, the Lemann score*. Inflamm Bowel Dis, 2011. **17**(6): p. 1415-22.
5. Kaplan, G.G. and S.C. Ng, *Understanding and Preventing the Global Increase of Inflammatory Bowel Disease*. Gastroenterology, 2017. **152**(2): p. 313-321 e2.
6. Kappelman, M.D., et al., *The prevalence and geographic distribution of Crohn's disease and ulcerative colitis in the United States*. Clin Gastroenterol Hepatol, 2007. **5**(12): p. 1424-9.
7. Sykora, J., et al., *Current global trends in the incidence of pediatric-onset inflammatory bowel disease*. World J Gastroenterol, 2018. **24**(25): p. 2741-2763.
8. Ng, S.C., et al., *Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies*. Lancet, 2017. **390**(10114): p. 2769-2778.
9. Ruemmele, F.M., et al., *Consensus guidelines of ECCO/ESPGHAN on the medical management of pediatric Crohn's disease*. J Crohns Colitis, 2014. **8**(10): p. 1179-207.
10. Burisch, J., et al., *The burden of inflammatory bowel disease in Europe*. J Crohns Colitis, 2013. **7**(4): p. 322-37.
11. Glocker, E.O., et al., *Inflammatory bowel disease and mutations affecting the interleukin-10 receptor*. N Engl J Med, 2009. **361**(21): p. 2033-45.
12. Kotlarz, D., et al., *Loss of interleukin-10 signaling and infantile inflammatory bowel disease: implications for diagnosis and therapy*. Gastroenterology, 2012. **143**(2): p. 347-55.
13. Spehlmann, M.E., et al., *Epidemiology of inflammatory bowel disease in a German twin cohort: results of a nationwide study*. Inflamm Bowel Dis, 2008. **14**(7): p. 968-76.
14. Higuchi, L.M., et al., *A prospective study of cigarette smoking and the risk of inflammatory bowel disease in women*. Am J Gastroenterol, 2012. **107**(9): p. 1399-406.

15. Lakatos, P.L., et al., *Is current smoking still an important environmental factor in inflammatory bowel diseases? Results from a population-based incident cohort.* *Inflamm Bowel Dis*, 2013. **19**(5): p. 1010-7.
16. Mahid, S.S., et al., *Smoking and inflammatory bowel disease: a meta-analysis.* *Mayo Clin Proc*, 2006. **81**(11): p. 1462-71.
17. Kaplan, G.G., et al., *The risk of developing Crohn's disease after an appendectomy: a meta-analysis.* *Am J Gastroenterol*, 2008. **103**(11): p. 2925-31.
18. Barclay, A.R., et al., *Systematic review: the role of breastfeeding in the development of pediatric inflammatory bowel disease.* *J Pediatr*, 2009. **155**(3): p. 421-6.
19. Klement, E., et al., *Breastfeeding and risk of inflammatory bowel disease: a systematic review with meta-analysis.* *Am J Clin Nutr*, 2004. **80**(5): p. 1342-52.
20. Aujnarain, A., D.R. Mack, and E.I. Benchimol, *The role of the environment in the development of pediatric inflammatory bowel disease.* *Curr Gastroenterol Rep*, 2013. **15**(6): p. 326.
21. Jakobsen, C., et al., *Environmental factors and risk of developing paediatric inflammatory bowel disease -- a population based study 2007-2009.* *J Crohns Colitis*, 2013. **7**(1): p. 79-88.
22. Lerebours, E., et al., *Stressful life events as a risk factor for inflammatory bowel disease onset: A population-based case-control study.* *Am J Gastroenterol*, 2007. **102**(1): p. 122-31.
23. Li, J., et al., *Psychological stress and inflammatory bowel disease: a follow-up study in parents who lost a child in Denmark.* *Am J Gastroenterol*, 2004. **99**(6): p. 1129-33.
24. Soon, I.S., et al., *The relationship between urban environment and the inflammatory bowel diseases: a systematic review and meta-analysis.* *BMC Gastroenterol*, 2012. **12**: p. 51.
25. Timm, S., et al., *Place of upbringing in early childhood as related to inflammatory bowel diseases in adulthood: a population-based cohort study in Northern Europe.* *Eur J Epidemiol*, 2014. **29**(6): p. 429-37.
26. Hou, J.K., B. Abraham, and H. El-Serag, *Dietary intake and risk of developing inflammatory bowel disease: a systematic review of the literature.* *Am J Gastroenterol*, 2011. **106**(4): p. 563-73.
27. Owczarek, D., et al., *Diet and nutritional factors in inflammatory bowel diseases.* *World J Gastroenterol*, 2016. **22**(3): p. 895-905.

28. Shaw, S.Y., J.F. Blanchard, and C.N. Bernstein, *Association between the use of antibiotics in the first year of life and pediatric inflammatory bowel disease*. Am J Gastroenterol, 2010. **105**(12): p. 2687-92.
29. Kolho, K.L., et al., *Fecal Microbiota in Pediatric Inflammatory Bowel Disease and Its Relation to Inflammation*. Am J Gastroenterol, 2015. **110**(6): p. 921-30.
30. Levine, A., et al., *Pediatric modification of the Montreal classification for inflammatory bowel disease: the Paris classification*. Inflamm Bowel Dis, 2011. **17**(6): p. 1314-21.
31. Silverberg, M.S., et al., *Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology*. Can J Gastroenterol, 2005. **19 Suppl A**: p. 5A-36A.
32. Torres, J., et al., *Predicting Outcomes to Optimize Disease Management in Inflammatory Bowel Diseases*. J Crohns Colitis, 2016. **10**(12): p. 1385-1394.
33. Turner, D., et al., *Management of Paediatric Ulcerative Colitis, Part 1: Ambulatory Care-An Evidence-based Guideline From European Crohn's and Colitis Organization and European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2018. **67**(2): p. 257-291.
34. van Rheezen, P.F., et al., *The Medical Management of Paediatric Crohn's Disease: an ECCO-ESPGHAN Guideline Update*. J Crohns Colitis, 2020.
35. Levine, A., et al., *Crohn's Disease Exclusion Diet Plus Partial Enteral Nutrition Induces Sustained Remission in a Randomized Controlled Trial*. Gastroenterology, 2019. **157**(2): p. 440-450 e8.
36. Levine, A. and D. Turner, *Combined azithromycin and metronidazole therapy is effective in inducing remission in pediatric Crohn's disease*. J Crohns Colitis, 2011. **5**(3): p. 222-6.
37. Hradsky, O., et al., *Time to Relapse in Children with Crohn's Disease Treated with Azathioprine and Nutritional Therapy or Corticosteroids*. Dig Dis Sci, 2016. **61**(7): p. 2041-50.
38. Markowitz, J., et al., *A multicenter trial of 6-mercaptopurine and prednisone in children with newly diagnosed Crohn's disease*. Gastroenterology, 2000. **119**(4): p. 895-902.
39. Patel, V., et al., *Methotrexate for maintenance of remission in Crohn's disease*. Cochrane Database Syst Rev, 2014(8): p. CD006884.

40. Turner, D., et al., *Development, validation, and evaluation of a pediatric ulcerative colitis activity index: a prospective multicenter study*. *Gastroenterology*, 2007. **133**(2): p. 423-32.
41. Turner, D., et al., *Management of Paediatric Ulcerative Colitis, Part 2: Acute Severe Colitis-An Evidence-based Consensus Guideline From the European Crohn's and Colitis Organization and the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2018. **67**(2): p. 292-310.
42. Turner, D., et al., *Faecal calprotectin, lactoferrin, M2-pyruvate kinase and S100A12 in severe ulcerative colitis: a prospective multicentre comparison of predicting outcomes and monitoring response*. *Gut*, 2010. **59**(9): p. 1207-12.
43. Turner, D., et al., *Severe pediatric ulcerative colitis: a prospective multicenter study of outcomes and predictors of response*. *Gastroenterology*, 2010. **138**(7): p. 2282-91.
44. Peyrin-Biroulet, L., et al., *Selecting Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Disease (STRIDE): Determining Therapeutic Goals for Treat-to-Target*. *Am J Gastroenterol*, 2015. **110**(9): p. 1324-38.
45. Copova, I., et al., *Fecal calprotectin is not a clinically useful marker for the prediction of the early nonresponse to exclusive enteral nutrition in pediatric patients with Crohn disease*. *Eur J Pediatr*, 2018. **177**(11): p. 1685-1693.
46. Lerchova, T., et al., *The Accuracy of a Home-performed Faecal Calprotectin Test in Paediatric Patients With Inflammatory Bowel Disease*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2019. **69**(1): p. 75-81.
47. Pospisilova, K., et al., *Is It Useful to Monitor Thiopurine Metabolites in Pediatric Patients with Crohn's Disease on Combination Therapy? A Multicenter Prospective Observational Study*. *Paediatr Drugs*, 2021. **23**(2): p. 183-194.
48. Fabian, O., et al., *Immunohistochemical Assessment of CD30+ Lymphocytes in the Intestinal Mucosa Facilitates Diagnosis of Pediatric Ulcerative Colitis*. *Dig Dis Sci*, 2018. **63**(7): p. 1811-1818.
49. Fabian, O., et al., *Limited clinical significance of tissue calprotectin levels in bowel mucosa for the prediction of complicated course of the disease in children with ulcerative colitis*. *Pathol Res Pract*, 2019. **215**(12): p. 152689.
50. Hradsky, O., et al., *Risk factors for dermatological complications of anti-TNF therapy in a cohort of children with Crohn's disease*. *Eur J Pediatr*, 2021.



51. Hradsky, O., et al., *Prediction of Thiopurine Metabolite Levels Based on Haematological and Biochemical Parameters*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2019. **69**(4): p. e105-e110.
52. Martinelli, M., et al., *Vaccinations and Immunization Status in Pediatric Inflammatory Bowel Disease: A Multicenter Study From the Pediatric IBD Porto Group of the ESPGHAN*. Inflamm Bowel Dis, 2020. **26**(9): p. 1407-1414.
53. Lerchova, T., et al., *Prediction of time to relapse in pediatric patients with Crohn's disease on thiopurine treatment: a multicenter study of the Pediatric IBD Porto group of ESPGHAN*. odesláno do recenzního řízení.
54. de Bie, C.I., et al., *Disease phenotype at diagnosis in pediatric Crohn's disease: 5-year analyses of the EUROKIDS Registry*. Inflamm Bowel Dis, 2013. **19**(2): p. 378-85.
55. De Cruz, P., et al., *Crohn's disease management after intestinal resection: a randomised trial*. Lancet, 2015. **385**(9976): p. 1406-17.
56. Morgan, X.C., et al., *Dysfunction of the intestinal microbiome in inflammatory bowel disease and treatment*. Genome Biol, 2012. **13**(9): p. R79.
57. Flores, C., C.F. Francesconi, and L. Meurer, *Quantitative assessment of CD30+ lymphocytes and eosinophils for the histopathological differential diagnosis of inflammatory bowel disease*. J Crohns Colitis, 2015. **9**(9): p. 763-8.
58. Elkjaer, M., et al., *A new rapid home test for faecal calprotectin in ulcerative colitis*. Aliment Pharmacol Ther, 2010. **31**(2): p. 323-30.
59. Heida, A., et al., *Agreement Between Home-Based Measurement of Stool Calprotectin and ELISA Results for Monitoring Inflammatory Bowel Disease Activity*. Clin Gastroenterol Hepatol, 2017. **15**(11): p. 1742-1749 e2.
60. Hessels, J., et al., *Evaluation of Prevent ID and Quantum Blue rapid tests for fecal calprotectin*. Clin Chem Lab Med, 2012. **50**(6): p. 1079-82.
61. van der Sluijs Veer, G., et al., *Time-resolved fluorimetric immunoassay of calprotectin: technical and clinical aspects in diagnosis of inflammatory bowel diseases*. Clin Chem Lab Med, 2006. **44**(3): p. 292-8.
62. Vinding, K.K., et al., *Fecal Calprotectin Measured By Patients at Home Using Smartphones--A New Clinical Tool in Monitoring Patients with Inflammatory Bowel Disease*. Inflamm Bowel Dis, 2016. **22**(2): p. 336-44.
63. Lin, J.F., et al., *Meta-analysis: fecal calprotectin for assessment of inflammatory bowel disease activity*. Inflamm Bowel Dis, 2014. **20**(8): p. 1407-15.

64. Calafat, M., et al., *High within-day variability of fecal calprotectin levels in patients with active ulcerative colitis: what is the best timing for stool sampling?* *Inflamm Bowel Dis*, 2015. **21**(5): p. 1072-6.
65. D'Angelo, F., C. Felley, and J.L. Frossard, *Calprotectin in Daily Practice: Where Do We Stand in 2017?* *Digestion*, 2017. **95**(4): p. 293-301.
66. Lasson, A., et al., *The intra-individual variability of faecal calprotectin: a prospective study in patients with active ulcerative colitis.* *J Crohns Colitis*, 2015. **9**(1): p. 26-32.
67. Poullis, A., et al., *Bowel inflammation as measured by fecal calprotectin: a link between lifestyle factors and colorectal cancer risk.* *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2004. **13**(2): p. 279-84.
68. Rugtveit, J. and M.K. Fagerhol, *Age-dependent variations in fecal calprotectin concentrations in children.* *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2002. **34**(3): p. 323-4; author reply 324-5.
69. Walsham, N.E. and R.A. Sherwood, *Fecal calprotectin in inflammatory bowel disease.* *Clin Exp Gastroenterol*, 2016. **9**: p. 21-9.
70. Guirgis, M., et al., *Beyond Histological Remission: Intramucosal Calprotectin as a Potential Predictor of Outcomes in Ulcerative Colitis.* *J Crohns Colitis*, 2017. **11**(4): p. 460-467.
71. Fukunaga, S., et al., *Detection of calprotectin in inflammatory bowel disease: Fecal and serum levels and immunohistochemical localization.* *Int J Mol Med*, 2018. **41**(1): p. 107-118.
72. Riello, L., et al., *Tolerance and efficacy of azathioprine in pediatric Crohn's disease.* *Inflamm Bowel Dis*, 2011. **17**(10): p. 2138-43.
73. Jongsma, M.M.E., et al., *First-line treatment with infliximab versus conventional treatment in children with newly diagnosed moderate-to-severe Crohn's disease: an open-label multicentre randomised controlled trial.* *Gut*, 2020.
74. Bonovas, S., et al., *Biologic Therapies and Risk of Infection and Malignancy in Patients With Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review and Network Meta-analysis.* *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2016. **14**(10): p. 1385-1397 e10.
75. de Bie, C.I., J.C. Escher, and L. de Ridder, *Antitumor necrosis factor treatment for pediatric inflammatory bowel disease.* *Inflamm Bowel Dis*, 2012. **18**(5): p. 985-1002.
76. Hyams, J., et al., *Safety and efficacy of maintenance infliximab therapy for moderate-to-severe Crohn's disease in children: REACH open-label extension.* *Curr Med Res Opin*, 2011. **27**(3): p. 651-62.

77. Ruemmele, F.M., et al., *Efficacy of infliximab in pediatric Crohn's disease: a randomized multicenter open-label trial comparing scheduled to on demand maintenance therapy*. *Inflamm Bowel Dis*, 2009. **15**(3): p. 388-94.
78. Siegel, C.A., et al., *Risk of lymphoma associated with combination anti-tumor necrosis factor and immunomodulator therapy for the treatment of Crohn's disease: a meta-analysis*. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2009. **7**(8): p. 874-81.
79. Subramaniam, K., et al., *Hepatosplenic T-cell lymphoma, immunosuppressive agents and biologicals: what are the risks?* *Intern Med J*, 2014. **44**(3): p. 287-90.
80. Fabian, O., et al., *Low predictive value of histopathological scoring system for complications development in children with Crohn's disease*. *Pathol Res Pract*, 2017. **213**(4): p. 353-358.
81. Gupta, N., et al., *Risk factors for initial surgery in pediatric patients with Crohn's disease*. *Gastroenterology*, 2006. **130**(4): p. 1069-77.
82. Henderson, P., et al., *Serum C-reactive protein and CRP genotype in pediatric inflammatory bowel disease: influence on phenotype, natural history, and response to therapy*. *Inflamm Bowel Dis*, 2015. **21**(3): p. 596-605.
83. Kugathasan, S., et al., *Prediction of complicated disease course for children newly diagnosed with Crohn's disease: a multicentre inception cohort study*. *Lancet*, 2017. **389**(10080): p. 1710-1718.
84. Levine, A., et al., *Comparison of outcomes parameters for induction of remission in new onset pediatric Crohn's disease: evaluation of the porto IBD group "growth relapse and outcomes with therapy" (GROWTH CD) study*. *Inflamm Bowel Dis*, 2014. **20**(2): p. 278-85.
85. Siegel, C.A., et al., *Real-time tool to display the predicted disease course and treatment response for children with Crohn's disease*. *Inflamm Bowel Dis*, 2011. **17**(1): p. 30-8.
86. Siegel, C.A., et al., *A validated web-based tool to display individualised Crohn's disease predicted outcomes based on clinical, serologic and genetic variables*. *Aliment Pharmacol Ther*, 2016. **43**(2): p. 262-71.
87. Waljee, A.K., et al., *Machine Learning Algorithms for Objective Remission and Clinical Outcomes with Thiopurines*. *J Crohns Colitis*, 2017. **11**(7): p. 801-810.
88. Gerasimidis, K., et al., *Impact of exclusive enteral nutrition on body composition and circulating micronutrients in plasma and erythrocytes of children with active Crohn's disease*. *Inflamm Bowel Dis*, 2012. **18**(9): p. 1672-81.

89. Gerasimidis, K., et al., *Serial fecal calprotectin changes in children with Crohn's disease on treatment with exclusive enteral nutrition: associations with disease activity, treatment response, and prediction of a clinical relapse.* J Clin Gastroenterol, 2011. **45**(3): p. 234-9.
90. Frivolt, K., et al., *Repeated exclusive enteral nutrition in the treatment of paediatric Crohn's disease: predictors of efficacy and outcome.* Aliment Pharmacol Ther, 2014. **39**(12): p. 1398-407.
91. Sridhar, S., et al., *Dermatological Manifestations in Pediatric Patients with Inflammatory Bowel Diseases on Anti-TNF Therapy.* Inflamm Bowel Dis, 2018. **24**(9): p. 2086-2092.
92. Cleynen, I., et al., *Characteristics of Skin Lesions Associated With Anti-Tumor Necrosis Factor Therapy in Patients With Inflammatory Bowel Disease: A Cohort Study.* Ann Intern Med, 2016. **164**(1): p. 10-22.
93. Freling, E., et al., *Cumulative incidence of, risk factors for, and outcome of dermatological complications of anti-TNF therapy in inflammatory bowel disease: a 14-year experience.* Am J Gastroenterol, 2015. **110**(8): p. 1186-96.
94. Tillack, C., et al., *Anti-TNF antibody-induced psoriasiform skin lesions in patients with inflammatory bowel disease are characterised by interferon-gamma-expressing Th1 cells and IL-17A/IL-22-expressing Th17 cells and respond to anti-IL-12/IL-23 antibody treatment.* Gut, 2014. **63**(4): p. 567-77.
95. D'Halluin, P.N., et al., *RBC 6-TGN and hematological parameters in patients with Crohn's disease treated by azathioprine.* Gastroenterol Clin Biol, 2005. **29**(12): p. 1264-9.
96. Decaux, G., et al., *Relationship between red cell mean corpuscular volume and 6-thioguanine nucleotides in patients treated with azathioprine.* J Lab Clin Med, 2000. **135**(3): p. 256-62.
97. Kochi, S., et al., *Prediction of 6-thioguanine nucleotides levels in Japanese patients with inflammatory bowel diseases during long-term thiopurine administration.* Scand J Gastroenterol, 2010. **45**(5): p. 608-14.
98. Kopylov, U., et al., *Hematologic indices as surrogate markers for monitoring thiopurine therapy in IBD.* Dig Dis Sci, 2015. **60**(2): p. 478-84.
99. Soman, S., et al., *Change in hematologic indices over time in pediatric inflammatory bowel disease treated with azathioprine.* Drugs R D, 2010. **10**(4): p. 213-7.

100. Thomas, C.W., Jr., et al., *Erythrocyte mean corpuscular volume as a surrogate marker for 6-thioguanine nucleotide concentration monitoring in patients with inflammatory bowel disease treated with azathioprine or 6-mercaptopurine*. *Inflamm Bowel Dis*, 2003. **9**(4): p. 237-45.
101. Waljee, A.K., et al., *Algorithms outperform metabolite tests in predicting response of patients with inflammatory bowel disease to thiopurines*. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2010. **8**(2): p. 143-50.
102. Yarur, A.J., et al., *Concentrations of 6-thioguanine nucleotide correlate with trough levels of infliximab in patients with inflammatory bowel disease on combination therapy*. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2015. **13**(6): p. 1118-24 e3.
103. Grossi, V., et al., *Concomitant Use of Immunomodulators Affects the Durability of Infliximab Therapy in Children With Crohn's Disease*. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2015. **13**(10): p. 1748-56.
104. van Rheeën, H. and P.F. van Rheeën, *Long-Term Efficacy of Anti-Tumor Necrosis Factor Agents in Pediatric Luminal Crohn's Disease: A Systematic Review of Real-World Evidence Studies*. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*, 2020. **23**(2): p. 121-131.
105. Lester, R., Y. Lu, and J. Tung, *Survey of Immunization Practices in Patients With Inflammatory Bowel Disease Among Pediatric Gastroenterologists*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2015. **61**(1): p. 47-51.
106. Fleurier, A., et al., *Vaccination coverage of children with inflammatory bowel disease after an awareness campaign on the risk of infection*. *Dig Liver Dis*, 2015. **47**(6): p. 460-4.
107. Rahier, J.F., et al., *Second European evidence-based consensus on the prevention, diagnosis and management of opportunistic infections in inflammatory bowel disease*. *J Crohns Colitis*, 2014. **8**(6): p. 443-68.
108. De Greef, E., Y. Vandenplas, and G. Veereman-Wauters, *Opportunistic infections in paediatric inflammatory bowel disease patients*. *Arch Dis Child*, 2012. **97**(1): p. 5-7.

## **Přehled publikační činnosti**

### **1. Původní vědecké práce in extenso, které jsou podkladem disertace**

#### Práce s impakt faktorem

Fabian O., Hradsky O., Drskova T., Mikus F., Zamecnik J. and Bronsky J.; Immunohistochemical Assessment of CD30+ Lymphocytes in the Intestinal Mucosa Facilitates Diagnosis of Pediatric Ulcerative Colitis, Dig Dis Sci 2018 Vol. 63 Issue 7 Pages 1811-1818 **(impakt faktor 2.856)**

Copova I., Hradsky O., Zarubova K., Gonsorcikova L., Potuznikova K., Lerchova T., et al.; Fecal calprotectin is not a clinically useful marker for the prediction of the early nonresponse to exclusive enteral nutrition in pediatric patients with Crohn disease, Eur J Pediatr 2018 Vol. 177 Issue 11 Pages 1685-1693 **(impakt faktor 2.592)**

Lerchova T., Hradsky O., Copova I., Potuznikova K., Gonsorcikova L. and Bronsky J.; The Accuracy of a Home-performed Faecal Calprotectin Test in Paediatric Patients With Inflammatory Bowel Disease, J Pediatr Gastroenterol Nutr 2019 Vol. 69 Issue 1 Pages 75-81 **(impakt faktor 3.023)**

Fabian O., Hradsky O., Lerchova T., Mikus F., Zamecnik J. and Bronsky J.; Limited clinical significance of tissue calprotectin levels in bowel mucosa for the prediction of complicated course of the disease in children with ulcerative colitis, Pathol Res Pract 2019 Vol. 215 Issue 12 Pages 152689 **(impakt faktor 2.059)**

Hradsky O., Potuznikova K., Siroka J., Lerchova T., Urbanek L., Mihal V., et al.; Prediction of Thiopurine Metabolite Levels Based on Haematological and Biochemical Parameters, J Pediatr Gastroenterol Nutr 2019 Vol. 69 Issue 4 Pages e105-e110 **(impakt faktor 3.023)**

Martinelli M., Giugliano F. P., Strisciuglio C., Urbonas V., Serban D. E., Banaszkiwicz A., Assa A., Hojsak I., Lerchova T., et al.; Vaccinations and Immunization Status in Pediatric Inflammatory Bowel Disease: A Multicenter Study From the Pediatric IBD Porto Group of the ESPGHAN, Inflamm Bowel Dis 2020 Vol. 26 Issue 9 Pages 1407-1414 **(impakt faktor 4.170)**

Hradsky O., Kazeka D., Copova I., Lerchova T., Mitrova K., Pospisilova K., et al.; Risk factors for dermatological complications of anti-TNF therapy in a cohort of children with Crohn's disease, Eur J Pediatr 2021 (**impakt faktor 2.592**)

Pospisilova K., Siroka J., Karaskova E., Hradsky O., Lerchova T., Zarubova K., et al.; Is It Useful to Monitor Thiopurine Metabolites in Pediatric Patients with Crohn's Disease on Combination Therapy? A Multicenter Prospective Observational Study, Paediatr Drugs 2021 Vol. 23 Issue 2 Pages 183-194 (**impakt faktor 2.819**)

Lerchova T., Hradsky O., Kulich M., Veres G., Dias J. A., et al.; Prediction of time to relapse in pediatric patients with Crohn's disease on thiopurine treatment: a multicenter study of the Pediatric IBD Porto group of ESPGHAN (**odesláno do recenzního řízení**)

#### Práce bez impakt faktoru

Drskova T., Hradsky O., Bronsky J., Identifikace prediktivních faktorů časného relapsu onemocnění u dětských pacientů s Crohnovou chorobou léčených thiopuriny, Čes-Slov ped 2017, 72 (5): 282-289

## **2. Přednášky, plakátová sdělení na odborných setkáních**

Lerchova T. et al., Prediktivní faktory časného relapsu onemocnění u dětských pacientů s Crohnovou chorobou léčených thiopuriny, Pracovní dny PSDG, 22. – 24. 9. 2016, Nitra, Slovensko

Lerchova T. et al., Možnosti stanovení fekálního kalprotektinu pacientem, Dny dětských IBD, 16. – 18. 5. 2019, Kurdějov

Lerchova T. et al., The Accuracy of a Home-performed Faecal Calprotectin Test in Paediatric Patients With Inflammatory Bowel Disease, Studentská vědecká konference 2. LF UK, 10. – 11. 04. 2019, Praha

Lerchova T. et al., The Accuracy of a Home-performed Faecal Calprotectin Test in Paediatric Patients With Inflammatory Bowel Disease, UEGw (United European Gastroenterology week), 20 – 24. 10. 2019, Vídeň, Rakousko

Lerchova T. et al.; Prediction of time to relapse in pediatric patients with Crohn's disease on thiopurine treatment: a multicenter study of the Pediatric IBD Porto group of ESPGHAN, ECCO (European Crohn's and Colitis Organisation), 12. – 15.2.2020, Vídeň, Rakousko

Lerchova T. et al.; Prediction of time to relapse in pediatric patients with Crohn's disease on thiopurine treatment: a multicenter study of the Pediatric IBD Porto group of ESPGHAN, WCPGHAN (6th World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition), 3. – 6. 6. 2020, Kodaň, Dánsko

Lerchova T. et al.; Identifikace prediktorů efektu léčby thiopuriny u dětských pacientů s Crohnovou chorobou – multicentrická studie IBD Porto skupiny při ESPGHAN, Studentská vědecká konference 2. LF UK, 1. – 2. 10. 2020, Praha

### **3. Kapitoly v monografiích**

Potuznikova K., Melek J., Formankova R., Lerchova T., Gonsorcikova L., Hradsky O., Bronsky J.; Chlapec se záhadnou exsudativní enteropatií, Vzácna onemocnění u dětí, Galén 2018, strany 93–97

Lerchova T., Hradsky O., Biologická léčba u dětských pacientů se zánětlivými střevními onemocněními, Biologická léčba, Galén, 2020, strany 69–77