

Univerzita Karlova
2. lékařská fakulta

Doktorský studijní program: Biochemie a patobiochemie



MUDr. Kristýna Zárubová

Biochemické prediktory selhání terapie u dětských pacientů s IBD

Biochemical predictors of the treatment failure in pediatric IBD patients

Disertační práce

Školitel: Prof. MUDr. Jiří Bronský, Ph.D.

Praha, 2022

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem disertační práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

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

V Praze, 20. 5. 2022

Kristýna Zárubová

.....

Podpis autora

Poděkování

V úvodu své práce bych ráda poděkovala svému školiteli prof. MUDr. Jiřímu Bronskému, Ph.D., za příležitost být součástí týmu dětských gastroenterologů na Pediatrické klinice FN Motol a 2. LF UK, a tím se podílet nejen na zajímavé klinické práci, ale také na řadě vědeckých projektů. Současně bych také ráda poděkovala za vedení, podporu a cenné rady v rámci mého postgraduálního studia. Za možnost pracovat, vzdělávat se a věnovat se i výzkumné činnosti na této klinice děkuji také prof. MUDr. Janu Leblovi, CSc. a prim. MUDr. Janě Tejnické, MBA.

Dále bych ráda poděkovala všem kolegům z gastroenterologického týmu, zejména doc. MUDr. Ondřeji Hradskému, Ph.D. za významnou pomoc na výzkumných projektech, zejména na statistickém zpracování dat a designu studií. A také kolegům z Kliniky dětské chirurgie FN Motol a 2. LF UK za spolupráci při péči o pacienty a cenné rady při zpracování této disertační práce.

Na závěr bych chtěla poděkovat mé rodině, hlavně mému manželovi Janovi, který mě na dlouhé cestě postgraduálním studiem a jeho úskalími vždy podporoval a dal mi možnost v něm pokračovat i s dvěma dětmi.

Abstrakt

Až 20% pacientů s IBD (inflammatory bowel diseases, zánětlivá střevní onemocnění) je diagnostikováno v dětském věku, průběh onemocnění bývá často závažnější a léčba obtížnější než u dospělých pacientů. Proto je nutno ji zahájit a případně změnit včas, aby se předešlo rozvoji komplikací.

Časně rozpoznání relapsu hraje významnou roli pro další průběh onemocnění a celkovou prognózu pacienta. Změny v laboratorních parametrech (např. hodnota fekálního kalprotektinu) mohou významně předcházet rozvoji klinických příznaků a mohou být indikací k provedení kontrolní endoskopie nebo přímo k eskalaci či změně terapie.

V této práci jsme se zaměřili zejména na pacienty po chirurgické resekci střeva, kteří tvoří jednu z rizikových skupin. Udává se, že až 70 % pacientů s Crohnovou nemocí dospěje během prvních 10 let od diagnózy k operačnímu výkonu na střevě. Dle výsledků se zdá být nadějným prediktorem relapsu onemocnění sérový albumin, který může souviset s celkovým nutričním stavem organismu. Ověřili jsme také efektivitu využití fekálního kalprotektinu a CRP jako prediktorů relapsu. Testování kalprotektinu přímo ve střevním resekátu se jako využitelný prediktor neukázalo, vyšší počet kalprotektin-pozitivních buněk na zorné pole nebyl asociován s endoskopickým relapsem onemocnění.

Klíčová slova

Crohnova nemoc, ileocékální resekce, relaps, remise, prediktor, marker, kalprotektin, pediatrie

Abstract

Up to 20 % of patients with IBD (inflammatory bowel disease) is diagnosed in childhood, the course of the disease tends to often be more severe and the treatment more difficult than in case of adults. Therefore, it is necessary to commence or eventually change the treatment in order to prevent development of complications. Early detection of relapse plays significant role for further course of the disease and general prognosis of the patient. Changes to laboratory parameters (e.g. to the level of fecal calprotectin) can significantly prevent the development of clinical symptoms and may indicate the necessity for control endoscopy, further escalation or change in therapy.

The primary focus of this thesis are patients who underwent surgical bowel resection, who constitute one of the risk groups.

Studies show that as many as 70 % of patients suffering from Crohn's disease reach the point of bowel surgery within the first 10 years of the diagnosis. According to the results, a promising predictor of relapse of the disease seems to be serum albumin, which may relate to the overall nutritional status of the organism. We have also examined the effectivity of using fecal calprotectin and CRP as relapse predictors. Testing directly in the resected bowel did not prove usability of calprotectin as a predictor, as the higher levels of calprotectin-positive cells in resection margins do not correlate with development of endoscopic relapse of the disease.

Keywords

Crohn's disease, ileocecal resection, relapse, remission, predictor, marker, calprotectin, pediatrics

Seznam zkratek

5-ASA	5 - aminosalicyláty
6-TGN	6-thioguanin nukleotidy
6-MP	6-merkaptopurin
ADA	Adalimumab
AF	Anální fissura
AKI	Acute kidney injury
ALB	Albumin
Anti-TG	Protilátky proti tkáňové transglutamináze
Anti-tTG	Protilátky proti tkáňové transglutamináze
ASC	Acute Severe Colitis
ASCA	Protilátky proti <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
AZA	Azathioprin
BL	Biologická léčba
BMI	Body mass index
BPE	Benign pleural effusion
c-ANCA	Protilátky proti cytoplasmě neutrofilů, typ C
CD	Crohnova nemoc
CDED	Crohn's Disease Exclusion Diet
CDEIS	Crohn's Disease Index of Severity
CI	Confidence interval
COVID-19	Coronavirus disease 2019
CPT	Kalprotektin
CRP	C-reaktivní protein
CXCR4	Chemokine receptor type 4
DAMPs	Damage-associated molecular patterns
ECCO	European Crohn's and Colitis Organisation
EDTA	Kyselina ethylendiamintetraoctová
EEN	Exclusive Enteral Nutrition, výlučná enterální výživa
EIM	Extraintestinální manifestace
ELISA	Enzyme-linked immuno sorbent assay
EMA	Protilátky proti endomysiu

ER	Endoskopický relaps
ESPGHAN	European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition
ESR	Erythrocyte Sedimentation Rate
F-CPT	Fekální kalprotektin
FD	Farmakodynamické
FW	Sedimentace erytrocytů
GAUK	Grantová agentura Univerzity Karlovy
GIT	Gastrointestinální trakt
HLA	Human Leukocyte Antigen
HM	Strikturoplastika dle Heineke-Mikulicze
hsCRP	High-sensitivity CRP
IBD	Inflammatory bowel diseases, zánětlivá střevní onemocnění
IBDU	Inflammatory bowel disease – unclassified, neklasifikovatelné zánětlivé střevní onemocnění
IBS	Irritable bowel syndrom
IC	Ileocékální
ICR	Ileocékální resekce
IFX	Infliximab
IgA	Imunoglobulin A
IgG	Imunoglobulin G
IGRA	Interferon- γ release assay
IL-12	Interleukin 12
IL-23	Interleukin 23
IPAA	Ileoanální anastomóza s pouchem
IQR	Interquartile range
IRA	Ileorektální anastomóza
KO	Krevní obraz
KS	Kortikosteroidy
LF	Laktoferin
LOR	Loss of response
MAP	Mitogenem-aktivované proteinkinázy
MEN	Maintenance enteral nutrition, udržovací enterální výživa

MPE	Malignant pleural effusion
MRE	Magneticko-rezonanční enterografie
MRI	Magnetická rezonance
mSES	Modified Simple Endoscopic Score
MTX	Metothrexát
NASPGHAN	North American Society For Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition
NHANES	National Health and Nutrition Examination Survey
OR	Odds ratio
p-ANCA	Protilátky proti cytoplazmě neutrofilů, typ P
PC	Portská kritéria ESPGHAN
PCD	Perianální forma Crohnovy nemoci
PCDAI	Pediatric Crohn's Disease Activity Index
PEN	Partial enteral nutrition, parciální enterální výživa
PGA	Physician Global Assessment
PLDD	Praktický lékař pro děti a dorost
POCER	Post-operative Crohn's Endoscopic Recurrence Study
PUCAI	Pediatric Ulcerative Colitis Activity Index
QTF	QuantiFERON – TB Gold test
RAGE	Receptor for advanced glycation endproducts
RCT	Randomized controlled trial
RNA	Ribonukleová kyselina
RPC	Revidovaná portská kritéria ESPGHAN
S-CPT	Sérový kalprotektin
SES-CD	Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease
SNP	Single nucleotid polymorphism
TB	Latentní tuberkulóza
T-CPT	Tkáňový kalprotektin
TLR4	Toll-like receptor 4
TNF	Tumor necrosis factor α
TPMT	Thiopurin methyltransferáza
UC	Ulcerózní kolitida
UGI	Upper gastrointestinal

Obsah

Abstrakt	4
Abstract	5
Seznam zkratek	6
1. Úvod do problematiky	13
1.1 IBD	13
1.2 Diagnostika a klasifikace IBD	14
1.2.1 Crohnova nemoc	16
1.2.2 Ulcerózní kolitida	19
1.2.3 IBDU	20
1.3 Léčebné modality u IBD – farmakologická a nutriční léčba	21
1.3.1 Indukční terapie u lumenální formy CD	21
1.3.2 Indukční terapie u perianální formy CD	22
1.3.3 Udržovací terapie u CD	23
1.3.4 Farmakologická léčba UC a IBDU	24
1.4 Chirurgická léčba IBD	25
1.4.1 Chirurgická léčba CD	25
1.4.1.1 Indikace k chirurgické léčbě	26
1.4.1.2 Strikturoplastika	29
1.4.1.3 Resekční výkony	30
1.4.1.4 Pooperační sledování	31
1.4.2 Chirurgická léčba PCD	33
1.4.3 Chirurgická léčba UC	34
1.5 Biomarkery nejčastěji užívané k diagnostice a monitoringu	35
1.5.1 Obecné charakteristiky biomarkerů	35
1.5.2 Fekální laktoferin	38
1.5.3 CRP	39
1.5.4 Kalprotektin	41
1.5.5 Sedimentace erytrocytů	48

1.5.6	Krevní obraz	50
1.5.7	Albumin.....	51
1.5.8	Poměr CRP/ALB.....	52
1.5.9	Další markery nejčastěji využívané v souvislosti s diagnózou IBD v klinické praxi	53
2.	Cíle práce a hypotézy	54
2.1	Cíle práce.....	54
2.2	Hypotézy	54
3.	Použité metody.....	55
3.1	Pacienti	55
3.2	Sběr dat	56
3.3	Statistický analýza.....	57
3.4	Skórovací systémy	58
3.5	Stanovení biomarkerů.....	62
3.6	Histopatologie	63
4.	Výsledky	64
4.1	Projekt č. 1	64
4.2	Projekt č. 2	65
5.	Další projekty v souvislosti s tématem IBD a dalších onemocnění gastrointestinálního traktu	70
5.1	Projekt v přímé souvislosti s tématem Crohnovy choroby a jejího chirurgického řešení	70
5.1.1	Léčba anti-TNF- α po chirurgické resekci pro Crohnovu nemoc je efektivní i přes předchozí farmakodynamické selhání (Assa A. et al., 2017)	70
5.2	Další projekty v souvislosti s IBD u dětí.....	75
5.2.1	Aktivita onemocnění u dětí s IBD je důležitým faktorem pro „neurčitý“ výsledek Interferon- γ release assay (Hradský O. et al, 2014).....	75
5.2.2	Séroprevalence viru Epstein-Barrové, cytomegaloviru a polyomavirů u dětí s IBD (Hradský O. et al., 2015).....	76

5.2.3	Porovnání délky trvání remise u dětí s Crohnovou chorobou na terapii azathioprinem a enterální výživou nebo kortikoidy (Hradský O. et al., 2016)	78
5.2.4	Substituce 2000 IU cholekalciferolu u dětí s IBD je asociována se zlepšením trabekulární minerální kostní density a svalové síly (Hradský O. et al., 2017)	81
5.2.5	Zhodnocení terapie infliximabem u dětí s Crohnovou chorobou pomocí prediktorů jeho hladin (Ohem J. et al., 2018).....	83
5.2.6	Fekální kalprotektin není u dětí s Crohnovou nemocí vhodným markerem k predikci časně špatné odpovědi na exkluzivní enterální výživu (Čopová I. et al., 2018)	84
5.2.7	Bezpečnost terapie anti-TNF- α během těhotenství z hlediska dlouhodobých důsledků pro exponované děti: Multicentrická, kontrolovaná observační studie (Ďuricová D. et al., 2019).....	86
5.2.8	Využitelnost monitorování thiopurinových metabolitů u dětských pacientů s Crohnovou chorobou na kombinované terapii (Pospíšilová K. et al., 2021).....	87
5.2.9	Rizikové faktory dermatologických komplikací anti-TNF- α terapie u kohorty dětských pacientů s IBD (Hradský O. et al., 2021).....	88
5.2.10	Adalimumab vs. infliximab u pediatrických pacientů s Crohnovou nemocí: Analýza pomocí propensity score a prediktory nutnosti eskalace terapie (Bronsky J. et al., 2022).....	90
5.3	Projekty z tématu gastroenterologie mimo oblast IBD	92
5.3.1.	Pro vynechání biopsie, dle nových kritérií ESPGHAN pro diagnostiku celiakie u dětí, je zásadní přítomnost symptomů (Nevoral J. et al., 2013).....	92
6.	Diskuze	94
6.1	Endoskopický relaps onemocnění	94
6.2	CRP	94
6.3	Albumin	94
6.4	Fekální kalprotektin	95
6.5	Tkáňový kalprotektin.....	95
6.6	Histopatologické nálezy.....	96
7.	Závěr.....	97
8.	Souhrn	98

9. Summary	99
10. Použitá literatura.....	100
11. Seznam publikací.....	113
11.1 Publikace v přímé souvislosti s tématem disertační práce.....	113
11.2 Publikace s IF bez přímé souvislosti s tématem disertační práce	114
11.3 Publikace v časopisech bez IF	114
11.4 Postery a ústní sdělení	115

1. Úvod do problematiky

1.1 IBD

Inflammatory bowel diseases (IBD), zánětlivá střevní onemocnění, můžeme definovat jako skupinu chorob, u nichž je přítomen chronický zánět v oblasti gastrointestinálního traktu, a zároveň jsou vyloučeny jiné příčiny, které mohou takový zánět způsobit. Mezi nejčastější příčiny, jež se mohou klinicky, laboratorně i endoskopicky jevit jako IBD, patří alergická onemocnění, infekce a střevní manifestace primárních imunodeficitů. Mezi tři základní typy IBD řadíme Crohnovu nemoc (CD), ulcerózní kolitidu (UC) a neklasifikovatelné zánětlivé střevní onemocnění (IBDU). (Nevoral J. et al., 2013)

Etiopatogeneze

IBD jsou z etiopatogenetického hlediska multifaktoriální onemocnění. Přesná příčina i přes značné snahy toto objasnit, zatím zůstává nezjištěná. Je známo, že se jedná o poruchu regulace imunitní odpovědi v kombinaci s faktory prostředí, genetickými predispozicemi a změnami střevní mikrobioty. Je prokázáno vyšší riziko rozvoje IBD u prvostupňových příbuzných nemocného, vč. dětí rodičů s IBD (Tsianos E. V. et al., 2012, Thoreson R., Cullen J. J., 2007).

Epidemiologie

Asi čtvrtina pacientů s IBD je diagnostikována v dětském věku, což s sebou nese často agresivnější formu a závažnější průběh onemocnění a vyšší riziko rozvoje různých komplikací.

Dle review z roku 2018 se incidence IBD u dětí značně liší mezi různými geografickými regiony a pohybuje se mezi 0,5–23/100000 obyvatel, s nejvyšším podílem v Evropě a Severní Americe. Obecně se dá říci, že incidence narůstá, a to zejména v zemích s dobře se rozvíjející ekonomikou (Sýkora J. et al., 2018).

Klinické příznaky

Příznaky se odvíjí od typu onemocnění, doby jeho trvání, rozsahu postižení apod. Ze střevní symptomatologie u CD můžeme uvést bolesti břicha, změny stolice ve smyslu frekvence a konzistence (průjmy, méně často zácpa), nevolnosti a zvracení, afty v ústech, abscesy nebo

píštěle v oblasti konečníku (tzv. perianální onemocnění). Nutno je zmínit také celkové příznaky – únava s nutností omezení aktivity, úbytek na váze, porucha růstu, opoždění puberty, opakované nejasné subfebrilie či febrilie. U UC dominují průjmy s krví a hlenem, tenesmy a bolesti břicha. Tento typ příznaků se rozvíjí zejména, není-li onemocnění včas léčeno (Nevoral J. et al., 2013).

Kromě příznaků v souvislosti s postižením střeva, můžeme u pacientů zaznamenat také mimostřevní (extraintestinální) projevy onemocnění (EIM). Tyto projevy mohou postihovat mnoho orgánů, jejich výskyt se uvádí mezi 25–40 %. Mohou být přítomny jak u UC, tak u CD. Mezi primární EIM řadíme postižení kůže, očí, jater a kloubů (Levine J. S., Burakoff R., 2011) (tabulka 1.1).

Tabulka 1.1 - Přehled EIM - upraveno dle Rosena a Levineho (Rosen M. J. et al, 2015, Levine J. S., Burakoff R., 2011)

Kožní	Erythema nodosum, pyoderma gangrenosum, projevy nutričních deficitů
Muskuloskeletální	Arthritida, ankylozující spondylitida, osteopenie, osteoporóza, polymyositida, hypertrofická osteoartropatie
Oční	Uveitida, episkleritida, iridocyklitida
Jaterní	Primární sklerotizující cholangitida, autoimunitní hepatitida, cholelithiáza
Pankreatické	Pankreatitida
Nefrologické	Nefrolitiáza
Hematologické	Anémie, žilní trombóza

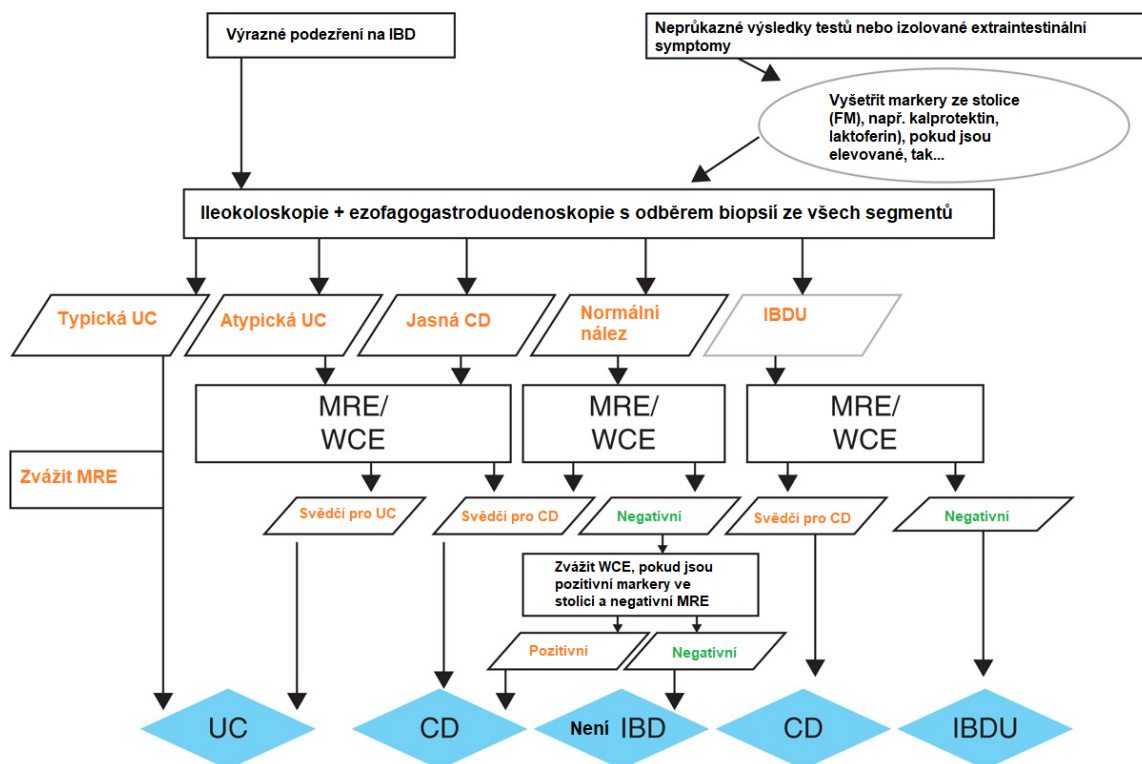
Tato práce se zaměřuje zejména na pacienty s CD, nicméně jsou zde zmíněny i ostatní typy onemocnění, zejména v rámci dále uvedených projektů.

Diagnostika a léčba jednotlivých IBD bude uvedena u konkrétních onemocnění samostatně.

1.2 Diagnostika a klasifikace IBD

Revidovaná portská kritéria ESPGHAN (RPC)

Pro přesnější definici a diagnostiku IBD u dětí byla skupinou evropských expertů v oboru dětské gastroenterologie, hepatologie a výživy vytvořena tzv. Porto criteria (PC) v roce 2005. Následně byla revidována v roce 2014 a v této formě se používají i nyní. Následující text vychází z velké části z těchto doporučení, obrázek 1.1 ukazuje diagnostický algoritmus při podezření na IBD (Levine A. et al., 2014).



Legenda: IBD = inflammatory bowel disease, UC = ulcerózní kolitida, CD = Crohnova nemoc, IBDU = neklasifikovatelné IBD, MRE = magneticko-rezonanční enterografie, WCE = kapslová enteroskopie

Obrázek 1.1 – Postup při podezření na IBD u dětského pacienta (přeloženo a upraveno dle Levine et al., 2014)

Vyšetření pacienta v přednemocniční péči

U pacientů s podezřením na IBD je vždy nutno vyloučit širší spektrum střevních infekcí, z bakteriálních to jsou *Salmonely*, *Shigelly*, *Yersinie*, *Campylobacter* a toxin *Clostridium*

difficile. V endemických oblastech se doporučuje testovat také na některé parazitární infekce, virologická vyšetření přináší výsledky v tomto směru jen vzácně (Levine A. et al., 2014). Přítomnost infekce ale diagnózu IBD nevylučuje, pacienta je nutno dále pečlivě sledovat.

Praktický lékař pro děti a dorost (PLDD) může provést také základní vyšetření z krve a stolice. Patří sem krevní obraz, sedimentace erytrocytů (FW), CRP, fekální kalprotektin (F-CPT), ev. některá z imunologických vyšetření. Lze provést např. vyloučení celiakie pomocí protilátek proti tkáňové transglutamináze (anti-tTG), vyšetření protilátek proti *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) a protilátek proti cytoplazmě neutrofilů typu P (p-ANCA). Tato imunologická vyšetření však nejsou nezbytná, pokud by příliš prodloužila dobu ke správné diagnóze IBD v centru dětské gastroenterologie.

Endoskopie

U každého pacienta s podezřením na IBD je indikováno provedení ileokoloskopie a ezofagogastroduodenoskopie s odebráním biopsií ze všech vizualizovaných oblastí gastrointestinálního traktu (GIT). A to včetně těch, kde nejsou přítomny makroskopické známky onemocnění. V České republice se u dětí toto vyšetření nejčastěji provádí v celkové anestézii. Endoskopii by měl provádět dětský gastroenterolog.

Zobrazovací metody

Ultrazvukové vyšetření při podezření na IBD je levnou a dostupnou alternativou v prvotním kontaktu s pacientem. Umí zhodnotit jak postižení některých částí střeva, tak přítomnost komplikací (abscesy, volná tekutina apod.)

Při diagnostice IBD provádíme vždy magneticko-rezonanční enterografii (MRE) k vyloučení/potvrzení postižení tenkého střeva. Magnetická rezonance (MRI) pánevního dna je důležitou součástí zhodnocení stavu při suspektní/potvrzené přítomnosti perianální formy onemocnění. Vyšetření MRE lze vynechat při jednoznačné endoskopické diagnóze levostranné UC, ale ta je u dětí vzácná.

1.2.1 Crohnova nemoc

CD je definována jako penetrující zánětlivé střevní onemocnění, které může postihnout jakoukoli část trávicího traktu, počínaje dutinou ústní (afity) až po konečník (perianální onemocnění). (Nevoral J. et al, 2013)

Fenotyp a klasifikace CD

Nejčastější formou CD je tzv. luminální forma, tedy zánětlivé postižení střevního lumen bez dalších přidružených komplikací (striktura, píštěl). Typicky se vyskytuje v oblasti terminálního ilea, ale může postihovat celý GIT (Nevoral J. et al., 2013). Následující klasifikace zohledňuje také přítomnost komplikací. Patří mezi ně striktury (tedy sekundární zúžení střeva) a penetrující onemocnění - píštěle (komunikace mezi střevem a dalšími strukturami). Můžeme je rozdělit jednak podle lokalizace – non-perianální a perianální a také podle toho, s čím komunikují. Sem patří interní píštěle (mezi dvěma částmi tenkého střeva, mezi tenkým a tlustým střevem, mezi střevem a jiným orgánem), externí píštěle mají své druhé ústí na kůži. Komplikacemi, které se rozvíjejí v souvislosti s píštělemi, jsou flegmóna a absces.

Non-perianální píštěle se vyskytují přibližně u 2,2 % dětských pacientů a 16 % dospělých (Kugathasan S. et al., 2015, Hirten R. P. et al., 2018).

U perianální formy CD (PCD) existuje více projevů, které mohou být spojeny s jakýmkoli rozsahem luminálního postižení. V 8 let trvající americké multicentrické studii na velkém souboru pacientů (n = 6679) byla PCD diagnostikována u 21 % z nich, s mírně vyšším výskytem u chlapců, bez asociace s lokalizací onemocnění nebo stavem výživy (Adler J. et al., 2017). Ve starší práci Paldera et al., která sledovala 325 dětí s CD, došlo k rozvoji PCD u 62 %, z toho 114 mělo skin tags, 185 anální fissuru, 41 píštěl a 47 perianální absces (Palder S. B. et al., 1991).

Část forem PCD lze diagnostikovat nebo na ně získat podezření, již jen z anamnézy a fyzikálního vyšetření. K dalším vyšetřením k ozřejmění rozsahu, typu a souvislosti s postižením střeva provádíme endoskopii (minimálně oblast rekta), MRI pánve, příp. endoanální ultrazvuk. Záleží také na zkušenostech vyšetřujícího lékaře.

Mezi projevy perianální formy onemocnění patří:

- Skin tags (strážné hrbolky) - kožní výrůstky v okolí anu
- Anální fisura (AF)

- Anální/rektální striktura
- Píštěle
- Abscesy

Pařížská klasifikace CD (Levine)

Ke zhodnocení fenotypu onemocnění se používá pařížská klasifikace z roku 2011, té předcházela tzv. montrealská klasifikace, ta je ale vhodnější k popisu dospělé populace. Pařížská klasifikace by se dala považovat za pediatrickou modifikaci (tabulka 1.2)

Tabulka 1.2 – Porovnání montrealské a pařížské klasifikace

Kritérium	Montreal	Paříž
Věk v době diagnózy (A)	A1: pod 17 let A2: 17–40 let A3: nad 40 let	A1a: $0 \leq 10$ let A1b: $10 \leq 17$ let A2: 17–40 let A3: nad 40 let
Místo postižení (L)	L1: terminální ileum, cékální oblast L2: kolická forma L3: ileokolická forma L4: izolované postižení horního GIT	L1: aborální třetina ilea, cékální oblast L2: kolická forma L3: ileokolická forma L4a: postižení horního GIT proximálně od lig. Treitzi L4b: postižení horního GIT distálně od lig. Treitzi a proximálně od aborální třetiny ilea
Chování nemoci (B)	B1: nestrikturující, nepenetrující B2: strikturující B3: penetrující p: přítomno perianální onemocnění	B1: nestrikturující, nepenetrující B2: strikturující B3: penetrující B2B3: penetrující i strikturující onemocnění, ať už společně nebo v jiném čase p: přítomno perianální onemocnění
Růst	-	G ₀ : není přítomna porucha růstu G ₁ : je přítomna porucha růstu

Legenda: GIT = gastrointestinální trakt, A = age at diagnosis (věk v době diagnózy), B = behavior (chování onemocnění), L = location (místo postižení) a G = growth (růst)

Vzhledem k tomu, že se tato práce zaměřuje na relaps onemocnění u pacientů s CD, budou možnosti léčby probrány v samostatných kapitolách (1.3 a 1.4), laboratorní markery jsou součástí kapitoly 1.5.

1.2.2 Ulcerózní kolitida

UC je chronické zánětlivé střevní onemocnění, postihující nejčastěji celé tlusté střevo slizničním zánětem.

UC je častěji diagnostikována v dospělosti, nicméně v dětském věku se objevuje, dle dat pro Severní Ameriku a Evropu, asi u pětiny pacientů (Benchimol E. I. et al., 2011). Extenzivní typ onemocnění je u dětí dvakrát častější než u dospělých a dle některých zdrojů tvoří až 80 % případů (Van Limbergen J. et al, 2008).

UC je charakterizována kontinuálním slizničním zánětem v tlustém střevě, výjimkou je „backwash ileitis“, kdy dojde k postižení i ileocékální oblasti pravděpodobně zpětným přestupem zánětu při pankolitidě. (Nevoral J. et al., 2013).

Klasifikace UC (dle RPC)

U UC rozlišujeme dva typy nálezu – typický a atypický. U typické UC nalezneme endoskopicky kontinuální postižení začínající v rektu. V histologickém nálezu poruchu architektiky krypt, bazální lymfoplasmocytózu a nepřítomnost granulomů.

U atypické UC je dle RPC definováno 5 podtypů:

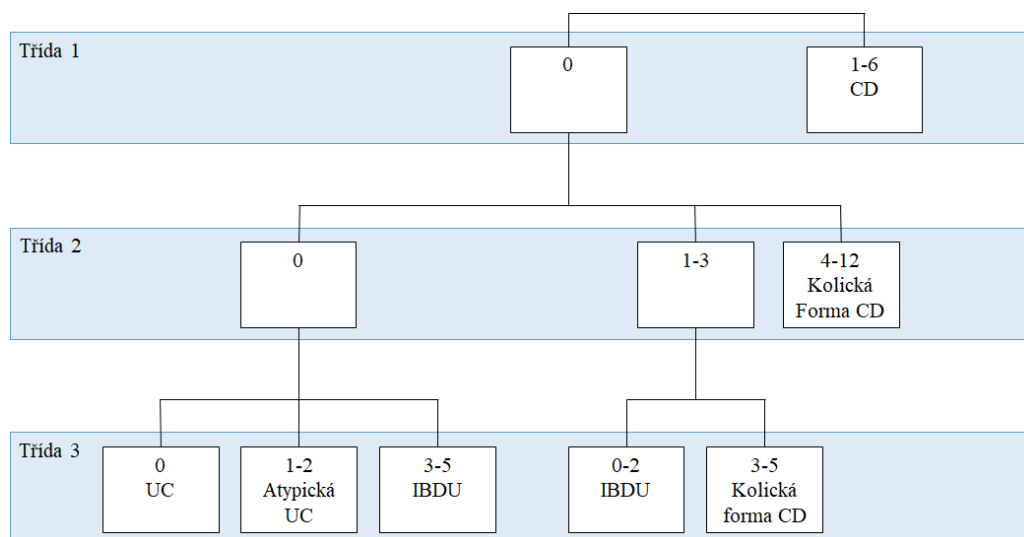
- UC bez postižení rekta/rektosigmoidea (tzv. rectal sparing)
- Krátce trvající onemocnění (chybí typické histologické znaky, u dětí pod 10 let)
- Cékální patch (kombinace levostranné kolitidy a zánětlivého ložiska v oblasti céka, s úsekem zdravé sliznice mezi nimi)
- Postižení horního GIT
- Acute severe colitis (ASC) – nejzávažnější forma UC (zde může být i transmurální zánět)

1.2.3 IBDU

Tato jednotka, neklasifikované zánětlivé střevní onemocnění (z angl. inflammatory bowel disease – unclassified), je vyhrazena pro pacienty, kteří mají postižení kolon, ale díky přítomnosti znaků jak pro UC, tak pro CD, nelze rozhodnout, pod kterou diagnózu patří. Postupem času může dojít ke změně diagnózy směrem k oběma zmíněným. Pro to, abychom mohli pacienta zařadit do kategorie IBDU, musí být provedeno kompletní vyšetření, tedy endoskopické (ezofagogastroduodenoskopie, ileokoloskopie) a také zobrazení tenkého střeva (Winter D. A. et al., 2015). IBDU tvoří až 10 % diagnóz, jejich podíl roste s klesajícím věkem dítěte.

Atypické znaky hodnotí speciální klasifikace, rozdělená do 3 tříd, dle pravděpodobnosti diagnózy UC či CD (obrázek 1.2). Body jsou přidělovány za znaky svědčící pro diagnózu CD. Ze skupin sledovaných znaků můžeme uvést např.:

- Histologické (transmurální zánět u kolitidy jinak odpovídající UC)
- Endoskopické (vředy v jícnu či duodenu)
- Klinické (porucha růstu bez jiného důvodu, průjmy bez krve)
- Laboratorní (pozitivní ASCA v kombinaci s negativními p-ANCA protilátkami)



Legenda: CD = Crohnova nemoc, UC = Ulcerózní kolitida, IBDU = inflammatory bowel disease – unclassified

Obrázek 1.2 – Zjednodušený algoritmus klasifikace IBDU (upraveno dle Birimberg-Schwartz L. et al., 2017)

1.3 Léčebné modality u IBD – farmakologická a nutriční léčba

1.3.1 Indukční terapie u luminální formy CD

Farmakologickou léčbu CD u dětí lze rozdělit na dva základní typy. Indukční terapii, jejímž cílem je uvést pacienta do remise onemocnění, a udržovací terapii, jejímž cílem je, aby pacient v remisi zůstal (viz kapitola 1.3.3). Tento přehled je zpracován na základě doporučení ECCO-ESPGHAN (Van Rheenen P. F., 2020).

Výběr terapie se velmi liší dle formy, rozsahu a chování onemocnění.

Výlučná enterální výživa

Principem výlučné enterální výživy (exclusive enteral nutrition, EEN) je podávání definované tekuté výživy po dobu 6–8 týdnů pacientovi perorálně nebo pomocí nazogastrické sondy. Oproti kortikosteroidům (KS) některé studie prokázaly zásadní rozdíl ve slizničním hojení ve prospěch EEN (Borelli O. et al., 2006). Několik metaanalýz se věnovalo tématu dosažení klinické remise, kde je efekt EEN srovnatelný s KS. Lepší efekt EEN byl prokázán při analýze per protocol (Swaminath A. et al., 2017). Na našem pracovišti jsme srovnávali trvání délky remise po indukční terapii pomocí KS nebo EEN a také jsme nezaznamenali statisticky signifikantní rozdíl (Hradský O. et al., 2016). U pacientů na EEN bylo častější přerušování léčby, protože ji špatně tolerovali (např. jim přestaly chutnat definované přípravky nebo nechtěli nazogastrickou sondu). Jako vedlejší účinky EEN jsou pacienty udávány zvracení a průjemy, u pacientů s malnutricí je také rizikem vznik refeeding syndromu (Da Silva J. S. V. et al., 2020). V současné době se studie zabývají kombinací tohoto typu výživy (partial enteral nutrition, PEN) s přesně danými povolenými potravinami (např. dieta CDED). Již byla prokázána lepší tolerance této kombinace pacienty ve srovnání s EEN a také dosažení klinické remise. Další studie jsou ovšem potřeba k ověření efektu na slizniční hojení.

Kortikosteroidy

KS bývaly hlavní indukční terapií u dětí před nástupem EEN. Využívají se hlavně při intoleranci či odmítnutí EEN a také při její neefektivitě. Zpravidla je toto hodnoceno v období mezi 2. – 4. týdnem léčby. Existuje riziko rozvoje Cushingova syndromu a dalších nežádoucích účinků plynoucích z této medikace (Costello R. et al., 2017). Nejčastěji užívaným KS u dětí s CD v České republice je prednisolon, zvažovat lze také budesonid. Vysazovat KS je nutno postupně, indukční léčba trvá cca 10 týdnů.

Anti-TNF- α terapie

U pacientů, u nichž očekáváme komplikovaný průběh onemocnění, se doporučuje k indukci remise využít preparáty proti tumor nekrotizujícímu faktoru alfa (anti-TNF- α), tzv. top-down terapie. U využívaných léčiv, infliximab (IFX) a adalimumab (ADA), byla potvrzena dobrá efektivita (Hyams J. S. et al., 2007, Hyams J. S. et al., 2012). Kromě pacientů, u kterých očekáváme horší průběh, se doporučuje zvážit léčbu těmito preparáty v indukci remise u dětí s těžkou růstovou retardací a také u těch, které nedosáhly biochemické (F-CPT) < 250 ug/g) či klinické [Pediatric Crohn's Disease Activity Index (PCDAI < 10)] remise. Indukční dávka IFX je 5 mg/kg, může se ale zvyšovat u extenzivního rozsahu onemocnění, pacientů s nízkou hmotností nebo nízkou hladinou sérového albuminu (ALB) (až na 10 mg/kg). IFX se podává intravenózně v rámci indukce 3x během 6 týdnů (0, 2, 6), pacient dále pokračuje v udržovací léčbě v intervalu po 8 týdnech. U ADA je schéma odlišné. Podává se subkutánně a u pacientů nad 40 kg po 2 týdnech v dávkách 160 – 80 – 40 mg a dále v intervalu 2 týdnů v dávce 40 mg v rámci udržovací terapie (lze navýšit na 40 mg týdně). U dětí s menší hmotností se doporučuje dávka poloviční.

Thalidomid

V současné době není příliš důkazů o efektivitě tohoto léku, potvrdila jej přesvědčivě pouze studie italských autorů (Lazzerini M. et al., 2013). Tento lék je pro své významné vedlejší účinky omezen pro velmi úzkou skupinu pacientů. U dívek a mladých žen je nutno zamezit otěhotnění z důvodu potenciálních teratogenních účinků thalidomidu.

1.3.2 Indukční terapie u perianální formy CD

Cíle léčby můžeme rozdělit na krátkodobé (úleva od obtíží, zahojení abscesu, uzávěr píštěle) a dlouhodobé (zlepšení kvality života, zachování kontinence a také snížení rizika dalších zákroků, vč. nutnosti proktomie či vyvedení stomie).

Farmakologická léčba

Dominantní roli v léčbě PCD hraje biologická léčba (BL), zejména anti-TNF- α preparáty (Ruemmele F. M. et al., 2018). V současné době se pacienti léčí oběma léčivy schválenými pro využití v pediatrii (IFX, ADA), aniž by byl jeden nebo druhý jmenovaný lék preferován. Výhodná může pro pacienty být kombinace s thiopuriny. Ty se v indukční léčbě v monoterapii

příliš neuplatňují. Antibiotická terapie je považována za spíše doplňkovou a tvoří „most“ např. k nasazení BL. Nicméně může ulevit od obtíží a urychlit hojení. Z konkrétních léků se využívají metronidazol a ciprofloxacín. Z dalších léků se využívá např. tacrolimus, a to zejména v lokální formě (při systémovém podávání je nutno monitorovat jeho hladiny a příp. toxicitu).

1.3.3 Udržovací terapie u CD

Thiopuriny

Mezi preparáty využívané v léčbě CD patří azathioprin (AZA) a 6-merkaptopurin (6-MP). Studie potvrdily účinnost především u dospělých, u dětí je jich méně a mají své limitace. Cochrane review shrnující 6 randomizovaných kontrolovaných studií (randomized controlled trial, RCT) na 489 dospělých pacientech prokázalo signifikantně vyšší efektivitu AZA oproti placebo v udržení remise (Chande N. et al., 2015). U dětí jsou dostupné spíše observační studie, které udávají po roce léčby remisi bez nutnosti podávání KS u 23–60 % pacientů (Walters T. D. et al., 2014, Boyle B. M. et al., 2014, Riello L. et al., 2011, Punati J. et al., 2008, Jaspers G. J. et al. 2006, Banerjee S., Bishop W. P., 2006). Existuje pouze jedna RCT, která hodnotila efekt 6-MP vs. placebo a prokázala nižší míru relapsu (9 % vs. 47 %) (Markovitz J. et al., 2000). U pacientů léčených AZA bylo také nalezeno vyšší riziko rozvoje některých nežádoucích účinků, jako je pankreatitida, leukopenie a častější infekce. Před nasazením léčby je vhodné vyšetřit genotyp thiopurin methyltransferázy (TPMT) k identifikaci pacientů s vyšším rizikem nežádoucích účinků.

Methotrexát

Efektivita methotrexátu (MTX) je prokázána zejména ve studiích u dospělých pacientů, Cochrane review 5 RCT studií (333 pacientů) potvrdilo účinnost dávky 15 mg týdně s.c. nebo i.m. oproti placebo (Patel V. et al., 2014). U dětí RCT nenajdeme, většina publikací je také spíše zaměřena na podávání MTX až po selhání léčby thiopuriny, ne jako léku první volby. Dle metaanalýzy 3 retrospektivních kohortových studií bylo po roce léčby MTX v remisi 37,1 % pacientů (Colman R. J. et al., 2018). Podobné výsledky přineslo systematické review, které hodnotilo 10 observačních studií. Po roce léčby MTX bylo v klinické remisi 25 – 53 % pacientů. Mezi nežádoucí účinky MTX patřily nauzea, zvracení, bolesti hlavy, častější infekce, vyšší jaterní testy a hematotoxicita (Scherkenbach L. A., Stumpf J. L. et al., 2016). V systematickém review (Hojsak I. et al., 2015) zabývajícím se hepatotoxicitou MTX u dětských pacientů byly

zachyceny zvýšené jaterní testy u 10 % a léčba byla z tohoto důvodu přerušena u 5 %. V České republice není MTX lékem první volby v udržení remise u dětských pacientů.

Enterální výživa

Používání udržovací enterální výživy (maintenance enteral nutrition, MEN) znamená pro pacienta příjem nejméně 50 % energetické potřeby ve formě definované tekuté výživy, tedy většinou u dospělých více než 900 kcal/den. Efektivita této léčby je dle studií srovnatelná s efektivitou AZA (Hanai H. et al., 2012) a lepší než monoterapie IFX (Nguyen D. L. et al., 2015). U pediatrických pacientů není k dispozici dostatek dat k hodnocení efektivity této léčby.

Anti-TNF- α léčba

Pacienti se zahájenou léčbou anti-TNF- α pokračují dále v udržovací terapii (viz výše). V rámci optimalizace terapie je důležité předcházet vzniku protilátek, a to použitím konkomitantní léčby imunomodulátory (AZA, MTX) při léčbě IFX, efekt byl potvrzen studiemi (Ruffolo C. et al., 2010, Feagan B. G., 2014). U dětských pacientů na léčbě ADA vychází data srovnatelná jak pro samostatnou terapii (Hyams J. S. et al., 2012), tak pro konkomitantní imunomodulátor (Hyams J. S. et al., 2011). U obou léků je v rámci udržovací terapie možná úprava dávky i intervalu dle hladin a protilátek a celkové odpovědi na léčbu.

Další farmakologická léčba

Při selhání předchozí terapie lze u dětí zvážit léčbu ustekinumabem (monoklonální protilátka proti p40 podjednotce IL-12 a IL-23) nebo vedolizumabem (monoklonální protilátka proti integrinu $\alpha 4\beta 7$, působí selektivně ve střevní sliznici).

1.3.4 Farmakologická léčba UC a IBDU

Vzhledem k tomu, že se tato práce zaměřuje zejména na problematiku CD, bude léčba UC uvedena ve zkrácené formě.

Indukční léčba UC

Zvolená terapie závisí na intenzitě zánětu a rozsahu postižení. U mírnějších forem jsou lékem první volby 5-aminosalicyláty (5-ASA) v perorální formě nebo v kombinaci s formou rektální. A to jak pro indukci remise, tak pro její udržení (Winter H. S. et al. 2014, Turner D. et al., 2017). Samostatné použití rektální formy se doporučuje pouze u proktitidy, která ale u dětí není

častá. Z konkrétních látek je využíván mesalazin a jako druhý sulfasalazin. Nedojde-li k odpovědi na léčbu nebo se jedná o závažnější formu kolitidy, je další volbou i indukce remise KS (Tung J. et al., 2006, Cakir M. et al., 2011). Nejčastěji voleným lékem je prednisolon (1 mg/kg/den, maximum 40 mg denně, s postupným snižováním dávky). Lze ovšem zvážit i léky s menším systémovým efektem, jako je např. budesonid. Při akutní těžké kolitidě je doporučeno podávat KS intravenózně a při nedostatečné odpovědi následně IFX (Turner D. et al., 2018).

Udržovací léčba UC

U dětí, kde byla nutná indukce remise KS a po jejich vysazení došlo znovu k relapsu nebo u dětí na terapii 5-ASA s častými relapsy, je pro udržení remise doporučeno nasadit thiopuriny, efektivita na udržení remise byla potvrzena v několika studiích – 1 rok bez využití KS bylo 49 % pacientů (Hyams J. S. et al., 2011), v jiné studii 2 roky 72 % pacientů (Aloi M. et al., 2016). Z konkrétních léčiv se využívá AZA a 6-MP. Opět je nutno vyšetřit genotyp pro TPMT.

Pokud pacient nadále prodělává opakované relapsy nebo trvá kortikodependence, dalším lékem, který je doporučen jak pro indukci, tak udržení remise, je BL (Turner D. et al., 2018) - IFX nebo ADA. Další léky jako je vedolizumab nebo ustekinumab volíme až při ztrátě odpovědi či intoleranci anti-TNF- α .

Léčba IBDU

Dle doporučení by měla léčba probíhat jako léčba UC stejné závažnosti. Nicméně při zhoršení stavu a uvažované změně terapie bychom měli dříve přistoupit ke kontrolní endoskopii. (Turner D. et al., 2018)

1.4 Chirurgická léčba IBD

1.4.1 Chirurgická léčba CD

Během 5 let od diagnózy musí, i přes optimalizovanou terapii, podstoupit chirurgický výkon pro různé komplikace téměř jedna třetina dětí (17–34 %) s CD. Nejčastěji se jedná o abscesy, píštěle a striktury (Vernier-Massouille G. et al., 2008, Gupta N. et al., 2006). Současně mají pacienti, kterým byla CD diagnostikována v dětském věku, mnohem vyšší riziko podstoupení chirurgického výkonu, než pacienti, kteří tuto diagnózu získali v dospělosti. Při porovnání těchto skupin ve věku 30 let, bylo zjištěno, že téměř polovina pacientů léčených od dětského

věku již chirurgický zákrok podstoupila, oproti 12 % ze skupiny pacientů diagnostikovaných v dospělosti. (Pigneur B. et al., 2010)

1.4.1.1 Indikace k chirurgické léčbě

Indikace k chirurgické léčbě můžeme rozdělit na akutní a elektivní. Volba vhodného postupu závisí na mnoha faktorech, jejich přehled je uveden v tabulce 1.3.

Přehled akutních indikací

- Perforace s peritonitidou

Tato komplikace nejčastěji vzniká při závažném průběhu onemocnění, často se vyskytuje v oblasti nad zánětlivou strikturou. Může ale být i prvním projevem onemocnění. Po potvrzení této diagnózy zobrazovacími metodami, je indikován resekcční výkon nikoli strikturoplastika.

- Masivní krvácení

Operace z této indikace jsou velmi vzácné a je vždy nutno vyloučit jiné příčiny. Pokud je to možné, doporučuje se provést nejdříve endoskopii či využít zobrazovacích metod. Není-li toto dostupné nebo nepřinesou-li zmíněná vyšetření odpovídající výsledek, je na místě chirurgický výkon.

- Absces (nedostupnost jiné možnosti drenáže)

Samotná přítomnost abscesu není důvodem k akutnímu operačnímu výkonu a je upřednostňována antibiotická terapie, popř. drenáž pod radiologickou kontrolou. Pokud tyto alternativy selžou nebo nejsou dostupné, přistupuje se k výkonu. Dojde-li k rozvoji sepse, byl zaznamenán vyšší výskyt pooperačních komplikací (leak v anastomóze, píštěle či opakovaný absces). Upřednostňovaným výkonem je resekce se sanací abscesu bez napojení střeva a vyvedení stomií, s dalším výkonem (anastomózou) v druhé době.

- Obstrukce

Akutnost operace u obstrukcí závisí na příčině a lokalizaci onemocnění. Operace je indikována při kompletní obstrukci (např. při strikturující formě onemocnění), která nereaguje na

konzervativní terapii. Indikován je resekční výkon. Jinými příčinami mohou být také srůsty nebo komplikace po předchozích resekcích.

- ASC u CD

ASC známe spíše ve spojení s UC. Tento stav ale může nastat také u CD. Preferována je konzervativní terapie. Doporučení pro načasování chirurgického výkonu je stejné jako pro UC.

Přehled elektivních indikací

- Selhání medikamentózní léčby

Refrakterní onemocnění u dětí je definováno jako: i přes léčbu trvající symptomy a obtíže vycházející z CD, relaps onemocnění během optimalizované terapie a nedostatečná odpověď na indukční terapii. Samozřejmě je nutné vyloučit jiné příčiny, jako je non-compliance, špatně nastavená medikace nebo jiné příčiny uváděných obtíží.

- Obstrukce bez zánětu, krátká striktura

Běžnou indikací jsou striktury, hlavně v ileocékální (IC) oblasti, které vyvolávají obstrukční příznaky. Zde se upřednostňuje provedení strikturoplastiky, pokud je to možné.

- Píštěl, absces

Problematika abscesu je zmíněna výše. Píštěle mezi kličkami či orgány mají horší odpověď na konzervativní terapii. Chirurgický výkon by měl být zvážen hlavně v případě refrakterního onemocnění (viz výše), striktury nebo enterokutánní píštěle.

- Porucha růstu u dětí

Poruchu růstu má 15–40 % dětí s CD. Na tomto stavu se podílí více faktorů (aktivní onemocnění, malnutrice, zvýšená produkce některých cytokinů, dříve léčba kortikoidy). Studie prokázaly, že pacienti s lokalizovanou formou onemocnění, refrakterní k terapii, se signifikantně v růstových parametrech po operaci zlepšili.

- Odmítnutí, intolerance nebo nemožnost podávání konzervativní terapie

Využití chirurgického výkonu lze zvážit při lokalizované formě onemocnění.

- Podezření na tumor

Přehled byl zpracován na pokladě Doporučených postupů chirurgické léčby pacientů s idiopatickými střevními záněty (Šerclová Z. et al., 2015) a mezinárodních doporučení ECCO (Bemelman W. A. et al., 2018) a ESPGHAN (Amil-Dias J. et al., 2017).

Tabulka 1.3 – Co musíme zvážit před rozhodnutím o chirurgické léčbě? [upraveno dle doporučení ESPGHAN (Amil-Dias J. et al., 2017)]

Fenotyp onemocnění	Pařížská klasifikace Strikturní forma Aktivní zánět Obojí Píštěle – jestli ano a kde
Závažnost onemocnění	Jaké části střeva jsou postižené?
U striktur	Délka, stupeň a přesná lokalizace na střevě (např. rozdíl mezi podobnou strikturou v oblasti duodena nebo tenkého či tlustého střeva)
U píštělí	Počet, místo (lokalizace počátku a i konce píštěle)
Současné farmakoterapie	Jaká je compliance? Jaká byla a je odpověď na léčbu? Zvyšuje riziko komplikací a neměla by být přerušena nebo snížena?
Předchozí farmakoterapie	Proč byla vysazena (ztráta odpovědi, špatná spolupráce, vedlejší účinky)?
Předchozí EEN	Compliance, odpověď a trvání remise
Antropometrická data	Věk, pubertální status, kostní věk, výška k věku, růstová rychlost za posledních 6–12 měsíců

Stav výživy	BMI, deficity mikronutrientů, které by mohly mít vliv na imunitní systém a hojení
Komorbidity	Jiná chronická onemocnění, infekce, primární imunodeficit
Zkušenosti sledujícího centra	Tým zabývající se pediatrickou formou CD

Legenda: BMI = body mass index, CD = Crohnova nemoc, EEN = výlučná enterální výživa

1.4.1.2 Strikturoplastika

Strikturoplastika je bezpečnou alternativou resekčních výkonů na tenkém střevě. Hlavní výhodou je zachování střeva a tedy snížení rizika rozvoje syndromu krátkého střeva.

Indikace pro strikturoplastiku (Bemelman W. A. et al., 2018)

- Strikurující postižení velké části tenkého střeva
- Striktura v duodenu
- Předchozí resekce střeva více než 100 cm
- Syndrom krátkého střeva
- Striktura bez abscesu či flegmóny
- Rekurence striktury v IC anastomóze
- Striktura, která se objeví v kratším období než jeden rok od předchozí operace
- Růstová retardace u dětí

Kontraindikace pro strikturoplastiku (Ambe R. et al., 2012):

- Více striktur v krátkém úseku
- Flegmóna stěny
- Píštěl, absces nebo perforace s peritonitidou
- Septický stav
- Striktura v blízkosti plánované anastomózy
- Podezření na malignitu
- Špatný nutriční stav, hypoalbuminémie

- Nezkušenost operátora

Nejčastěji používanými jsou strikturoplastika dle Heineke-Mikulicze (80 – 90 %) a Finneye. Tyto dva typy jsou určeny pro kratší úseky striktur (HM do 10 cm, Finney do 20 cm). Pro delší úseky se využívají speciální techniky (např. dle Michelassiho) nebo se kombinují strikturoplastiky a resekční výkony (Amil-Dias J. et al., 2017).

Komplikace můžeme rozdělit na (Yamamoto T. et al., 2007):

- Septické (leak, píštěl, absces)
- Krvácení
- Ileus, střevní obstrukce
- Infekce v ráně

Strikturoplastiky nejsou vhodné pro výkony na tlustém střevě. Studie italských autorů se zabývala srovnáním výskytu komplikací a výsledky u pediatrických pacientů s CD, u kterých byla použita resekce či strikturoplastika. Nebyl prokázán signifikantní rozdíl a lze tedy považovat využití strikturoplastiky za adekvátní i u dětí (Romeo E. et al., 2012).

1.4.1.3 Resekční výkony

Resekce tenkého střeva

Mezi nejčastěji prováděné operační výkony na tenkém střevě patří resekce. Jedná se o odstranění postižené části různými operačními technikami. Resekční výkony jsou možné kdekoli na střevě, dominuje však ileocékální resekce (ICR). Na tenkém střevě (mimo IC oblast) se doporučuje upřednostnit strikturoplastiku, je-li možná (viz kapitola 1.4.1.2).

Ileocékální resekce

Samotná ICR je nejčastějším operačním výkonem na střevě u pacientů s CD (Bernell O. et al., 2000), a to zejména pokud vezmeme v úvahu výkony elektivní.

- Laparoskopická

Laparoskopická ICR by měla být u dětských pacientů preferována (Amil-Dias J. et al., 2017), pokud je to možné. Má dle dostupných dat mnoho výhod oproti otevřenému výkonu. Mezi ně patří např. kratší hospitalizace a rekonvalescence a další. Tento výkon vyžaduje zkušenosti operátora s laparoskopickou technikou a jeho schopnost řešit také případné komplikace onemocnění – absces apod. I přesto, že v současné době jsou pacienti na našem pracovišti operováni laparoskopicky, pacienti zařazení do této práce podstoupili otevřený výkon.

- Otevřená

Otevřená ICR se provádí v celkové anestézii při svalové relaxaci a endotracheální intubaci. Po přípravě operačního pole operátor dělá nejčastěji dolní střední laparotomii. Šití anastomózy se preferuje side-to-side se širokým lumen dle doporučení ECCO (Bemelman W. A. et al., 2018). Je to z důvodu nižšího výskytu komplikací, jež bylo zaznamenáno v některých studiích, např. anastomotického leaku (Simillis C. et al., 2007, Resegotti A. et al., 2005). Anastomózu lze šít ručně nebo pomocí staplerů, dle dostupných dat ve způsobu spojení není rozdíl (Choy P. V. et al., 2011). Podávají se profylaktická antibiotika.

Resekce tlustého střeva

U striktur v oblasti tlustého střeva jsou preferovány resekční výkony (segmentální resekce) před strikturoplastikami. Při postižení orální části kolon (často s IC oblastí) lze provést pravostrannou hemikolektomii. Pokud u pacienta dojde k významnému postižení tlustého střeva, které je rezistentní na terapii, lze provést subtotální kolektomii, s možností odloženého provedení ileorektální anastomózy (IRA). Srovnáváme-li pacienty s jednou segmentální resekci a IRA, pak v metaanalýze u dospělých pacientů nebyl nalezen rozdíl v rekurenci onemocnění. Pokud měl ovšem pacient resekci více segmentů zároveň, byly výsledky horší (Tekkis P. P. et al., 2006). Totální kolektomie je vyhrazena pro případy velkého množství striktur, toxického megakolon, fulminantní nebo těžké kolitidy se špatnou odpovědí na terapii nebo nádorem.

Vytvoření IPAA je vyhrazeno spíše pro pacienty s crohnovskou kolitidou, bez postižení tenkého střeva a bez PCD (Bemelman W. A. et al., 2018)

1.4.1.4 Pooperační sledování

Studie ohledně pooperačních relapsů onemocnění existují hlavně u dospělých pacientů, klinická rekurence se udává asi u 1/3 během prvního roku, endoskopická rekurence je ještě častější

(Rutgeerts P. et al., 1984, Rutgeerts P. et al., 1990). Protokoly pooperační léčby se mezi dětskými a dospělými pacienty liší. U dospělých se často zvažuje a využívá i možnost nechat pacienta bez imunosupresivní terapie po odstranění aktivní nemoci omezené na IC oblast. V randomizované kontrolované studii POCER pacienti klasifikovaní jako „low-risk“ byli pooperačně léčeni pouze 3 měsíce metronidazolem oproti „high-risk“, kteří měli jako udržovací terapii AZA, 6-MP nebo ADA. Pacienti s intenzivnější formou léčby měli nižší procento relapsů při endoskopickém vyšetření po 18 měsících od operace (De Cruz P. et al, 2015).

Dle doporučení ESPGHAN (Amil-Dias J. et al., 2017) by měli být jako vysoce riziková klasifikováni pacienti:

- S extenzivním typem onemocnění
- S krátkou dobou mezi diagnózou a operací
- Po opakovaných výkonech
- Po resekci dlouhých střevních segmentů
- Při fistulující formě onemocnění
- Při přítomnosti dalších komplikací
- S poruchou růstu
- S opožděním puberty
- Kuřáci

Dle tohoto doporučení by se pooperačně měla u dětí s mírnějším rizikem zahájit léčba thiopuriny, pokud se jedná o pacienta, který takto nebyl léčen. Tam, kde léčba thiopuriny před operací selhala, je nutné zvážit výhody a nevýhody dalších alternativ. Případně lze zvážit i variantu bez profylaktické imunosuprese či pouze 5-ASA.

U vysoce rizikových pacientů se doporučuje léčba anti-TNF- α preparáty.

Kontrolní endoskopie je doporučena 6–9 měsíců po operaci, mezi tím jsou vhodné kontroly klinického stavu a F-CPT. V případě jeho elevace nebo zhoršení obtíží je indikována ileokoloskopie dříve (Amil-Dias J. et al., 2017).

Pro nastavení pooperační léčby využíváme na našem pracovišti hodnocení tzv. reziduální nemoci. Pacienti, kteří nemají známky aktivního onemocnění po odstranění IC oblasti a tolerují léčbu AZA, v této léčbě nadále pokračují. A to nezávisle na předchozím podávání anti-TNF- α terapie. Pokud jsou přítomny známky reziduální nemoci, ať už endoskopicky (předoperačně), na MRE nebo bylo přítomno PCD, popř. aktivní EIM, je u těchto pacientů indikována léčba anti-TNF- α preparáty.

Na našem pracovišti jsou pacienti kontrolováni:

- 3 měsíce po operačním výkonu

Kromě klinického vyšetření a zhodnocení stavu pomocí PCDAI proběhnou krevní odběry a vyšetření F-CPT ve stolici.

- 6 měsíců po operačním výkonu (nebo dříve při zhoršení stavu či nutnosti změny terapie)

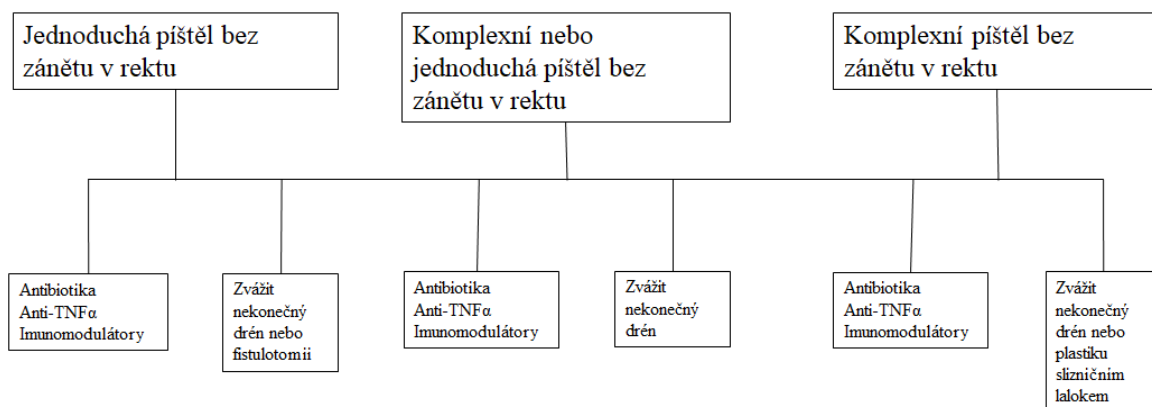
Kromě výše zmíněného je provedeno také endoskopické vyšetření s hodnocením relapsu onemocnění v anastomóze pomocí Rutgeerts skóre (viz kapitola 3.4.2).

1.4.2 Chirurgická léčba PCD

Chirurgická léčba se v akutní fázi soustředí hlavně na úlevu pacienta od bolesti a dalších obtíží, tj. drenáž abscesu. Měla by také v této situaci předcházet nasazení imunosupresivní terapie, která zvyšuje riziko septických komplikací. Algoritmy léčby dle North American Society For Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition (NASPGHAN) jsou uvedené na obrázcích 1.3 a 1.4.

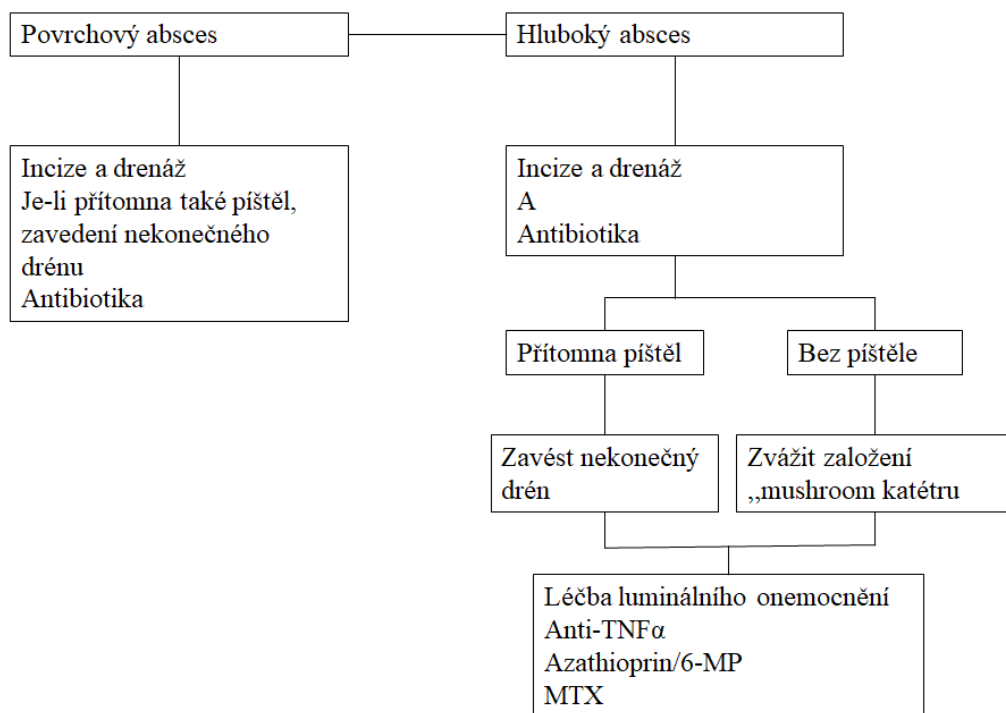
Nejčastěji využívané možnosti:

- Nekonečný drén (non-cutting seton)
- Trasovací ligatura
- Fistulotomie
- Plastika slizničním lalokem
- Prokterektomie
- Derivační stomie



Legenda: TNF α = tumor necrosis faktor alfa

Obrázek 1.3 – Algoritmus léčby perianální píštěle (upraveno dle de Zoeten E. F., 2013)



Legenda: TNF α = tumor necrosis faktor alfa, 6-MP = 6 – merkaptopurin, MTX = metothrexát

Obrázek 1.4 – Algoritmus léčby perianálního abscesu (upraveno dle de Zoeten E. F., 2013)

1.4.3 Chirurgická léčba UC

Elektivní (plánovanou) kolektomii bychom měli zvažovat ve chvíli, kdy je pacient trvale kortikodependentní nebo je onemocnění aktivní i přes maximální možnou terapii. Třetím důvodem je nález dysplastických změn, které jsou rizikem pro rozvoj nádorového onemocnění (Turner D. et al., 2018).

U dětí s elektivní kolektomií se upřednostňuje dvoudobý výkon, a to restorativní proktokolektomie s J pouchem, ileopouch-anální anastomózou (IPAA) a pojistnou ileostomií (Polites S. F. et al., 2015). Tato se uzavírá ve chvíli, kdy je potvrzeno dobré připojení pouche. Jedná-li se o pacienta s vysokou dávkou KS, nedávno léčeného preparáty anti-TNF- α , s těžkou

malnutricí, s urgentním výkonem (refrakterní ASC) nebo nebyla-li jasně vyloučena diagnóza CD (IBDU), pak je indikováno provedení operace ve 3 dobách. Nejdříve subtotální kolektomie s ileostomií, po zlepšení celkového stavu se pak následně provede vytvoření J pouche a nakonec uzavření ileostomie (Lillehei C. W. et al., 2009). Jednoduché operace se provádí také, ale jsou omezené na menší skupinu pacientů (bez léčby KS, dobrý stav výživy, nízká aktivita onemocnění).

Laparoskopické provedení má srovnatelnou úspěšnost jako otevřený výkon, a to jak pro urgentní, tak elektivní výkony. Vzhledem k obtížnosti operace by ji měl provádět jen zkušený chirurg.

1.5 Biomarkery nejčastěji užívané k diagnostice a monitoringu

1.5.1 Obecné charakteristiky biomarkerů

Existuje velmi mnoho biomarkerů, které lze teoreticky využívat u IBD, a nejedná se jen o markery biochemické. Bohužel, jen málo z nich je pro IBD specifických a velká část se v rutinní praxi nepoužívá. Navíc faktorů, které od „ideálního biomarkeru“ očekáváme, je řada a jsou odlišné pro lékaře, analytiku, pacienta a i pro toho, kdo případné vyšetření proplácí (Dragoni G. et al., 2021).

Pro pacienta je důležité:

- Neinvazivní testování
- Jednoduchá proveditelnost (např. odběr vzorku stolice)
- Rychlost (provedení, dostupnost výsledku)

Pro lékaře je důležité:

- Přesnost
- Specificita pro IBD
- Senzitivita k odlišení závažnosti onemocnění
- Co nejmenší inter- a intraindividuální variabilita
- Reprokovatelnost

Pro analýzu je důležité:

- Preciznost
- Pravdivost

- Návaznost
- Možnost porovnání výsledků jiných metod stanovení

Pro úhradu je důležité:

- Nízká cena
- Dobrá dostupnost

Pro detekci biomarkerů u IBD se nejčastěji používají vzorky stolice a krve, méně často moči a ojedinele např. vydechovaného vzduchu. Nově se také testují markery přímo v bioptických vzorcích z endoskopie. Od markerů ze stolice očekáváme vyšší přesnost, a to z několika důvodů. Na rozdíl od markerů v krvi jsou méně ovlivnitelné mimostřevními příčinami, navíc jsou v přímém kontaktu se střevní sliznicí. Největším problémem při jejich využívání je nízká specifita a někdy i interindividuální variabilita. Někteří pacienti také mohou mít problém s odebráním vzorků. Mezi nejčastěji používané markery patří F-CPT, kterému je věnována kapitola 1.5.4. Z krevních/sérových markerů jsou nejčastěji využívány CRP a FW. Nevýhodou tohoto typu markerů je nutnost odběru krve a velká možnost ovlivnění jinými onemocněními či stavy. CRP je věnována kapitola 1.5.3, FW kapitola 1.5.5.

Jaké markery byly u IBD testovány?

Vzhledem k tomu, že IBD je zánětlivé onemocnění, škála použitelných markerů je velmi široká. Patří sem reaktanty akutní fáze, cytokiny, některé buňky, damage-associated molecular patterns (DAMPs), MicroRNA a další. O některých se zmíníme v následující tabulce 1.4.

Tabulka 1.4 – Přehled některých testovaných biomarkerů u IBD (upraveno dle Dragoni G. et al., 2021)

Marker	Vzorek	Rok	První autor	Výsledek
α 1- kyselý glykoprotein	sérum	1990	Lubega J., Davies T. J., 1990	korelace s aktivitou IBD
α 1- antitrypsin	stolice	2003	Biancone L. et al., 2003	vyšší koncentrace u pacientů s relapsem v terminálním ileu, u kterých k němu došlo během 6 měsíců

β 2 - mikroglobulin	sérum	2014	Yilmaz B. et al., 2014	vyšší koncentrace u pacientů s UC/CD oproti zdravým kontrolám, vyšší také u aktivního onemocnění oproti remisi
Adenosindeamináza	sérum	2011	Maor I. et al., 2011	vyšší koncentrace u pacientů s aktivním onemocněním, nelze rozlišit pacienty v remisi a zdravé kontroly
		2015	Sajjadi M. et al., 2015	korelace mezi aktivitou adenosindeaminázy u pacientů s aktivním CD, CD v remisi a zdravými kontrolami nebyla potvrzena
		2012	Beyazit Y. et al., 2012	vyšší koncentrace u pacientů s aktivní UC
Chitináza 3-like 1	stolice	2016	Buisson S. et al., 2016	korelace s endoskopickou aktivitou IBD
		2011	Aomatsu T. et al., 2011	korelace s endoskopickou aktivitou IBD u pediatrických pacientů
Dipeptidyl peptidáza 4	sérum	2020	Pinto-Lopes P. et al., 2020	nižší hodnoty u pacientů s aktivní UC/CD (endoskopická, klinická aktivita) než při dobré odpovědi na léčbu či u kontrol
Fibrinogen-like protein 2	střevní sliznice	2020	Li T. et al., 2020	vliv na buněčnou signalizaci (NF- κ B) střevních buněk a dendritických buněk lamina propria u myši
Leukotrien E-4	moč	2008	Stanke-Labesque F. et al., 2008	vyšší koncentrace u aktivní UC/CD oproti remisím či zdravým kontrolám (tyto dvě skupiny nelze vzájemně rozlišit)
IL-6	Sérum	2018	Nikolaus S. et al., 2018	vyšší koncentrace u UC/CD oproti zdravým kontrolám
Izoforma pyruvát kinázy M2	stolice	2012	Day A. S. et al., 2012	vyšší koncentrace u pediatrických pacientů s aktivní CD než u kontrol, nejvíce u ileocékální formy, bez korelace s PCDAI či jinými markery
	střevní sliznice	2007	Czub E. et al, 2016	vyšší koncentrace u pacientů s aktivní UC/CD, korelace se skóre k hodnocení aktivity
Metylace ostrůvků CpG	Střevní sliznice	2011	Saito S. et al, 2011	vyšší výskyt metylace u pacientů s aktivní UC než v remisi
		2017	Tahara T. et al., 2017	vyšší výskyt metylace u pacientů s aktivní UC než v remisi
	sérum	2019	Sominemi H. K. et al., 2019	korelace výskytu metylace s akutním zánětem a dalším vývojem ve smyslu progresu či regrese (pediatrická studie u CD)
MicroRNA	stolice	2020	Verdier J. et al., 2020	rozdílné složení mezi UC/CD pacienty a zdravými kontrolami
Myeloperoxidáza	stolice	2002	Peterson C. G. et al., 2002	nejvyšší koncentrace u UC, pak CD, nejnižší zachyceny u zdravých kontrol
Neopterin	stolice	2013	Husain N. et al., 2013	vyšší koncentrace u pacientů s aktivní CD i pacientů s aktivní UC
	stolice	2013	Nancey S. et al., 2013	u pacientů s CD byly zachyceny nejvyšší koncentrace u aktivního onemocnění, následně u onemocnění v remisi, ty byly stále vyšší oproti zdravým kontrolám. U pacientů s UC byly nejvyšší koncentrace u aktivního onemocnění, mezi UC v remisi a zdravými kontrolami nebyl signifikantní rozdíl nalezen
	moč	2008	Nancey S. et al., 2008	vyšší koncentrace u pacientů s aktivní CD

NGAL	stolice	2017	Thorsvik S. et al., 2017	vyšší koncentrace u pacientů CD/UC, ale také u infekční enterokolitidy oproti IBS a zdravým
	sérum	2012	Oikonomou K. A. et al., 2012	vyšší koncentrace u pacientů s IBD oproti zdravým kontrolám nebo IBS. Nelze rozlišit mezi CD a UC
NGAL-MMP9 komplex	sérum	2015	de Bruyn M. et al., 2015	na počátku vysoké koncentrace u pacientů s CD, pokles při slizničním hojení. Pokles nebyl zaznamenán při špatné odpovědi na léčbu
PMN elastáza	stolice	2016	Langhorst J. et al., 2016	u pacientů s UC vyšší hodnoty u aktivního onemocnění oproti pacientům v klinické remisi
Prokalcitonin	sérum	2017	Lippi G., Sanchis-Gomar F., 2017	dle výsledků nelze považovat za vhodný prediktor k hodnocení aktivity IBD, vysoké koncentrace mohou ukazovat na infekční příčinu
Sérový amyloid	sérum	2017	Yarur A.J. et al., 2017	vyšší koncentrace SAA u pacientů s aktivní CD, i přes negativní CRP
Kyselina sialová	sérum	1992	Baba R. et al., 1992	vyšší koncentrace u pacientů s CD v remisi než u zdravých kontrol nebo pacientů s CD po operaci
TTF 3	sérum	2020	Teng X. et al., 2020	vyšší koncentrace u pediatrických pacientů s aktivní CD, korelace se SES-CD, ale ne s PCDAI či CRP
Tenascin C	střevní biopsie, sérum	2019	Ning L. et al., 2019	vyšší koncentrace u pacientů s aktivním UC/CD, korelace se klinickými indexy, u UC asociace vyšších hodnot se špatnou odpovědí na IFX
TPGN	plazma	2018	Clerc F. et al., 2018	pomocí tohoto markeru lze rozlišit mezi IBD a non-IBD pacienty
Tryptofan a metabolity	sérum	2017	Nikolaus S. et al., 2017	nižší koncentrace u pacientů s CD, méně výrazné u pacientů s UC oproti zdravým kontrolám (negativní asociace s aktivitou onemocnění nebo CRP)

Legenda: CD = Crohnova nemoc, CpG = cytosin-fosfát-guanin, CRP = C-reaktivní protein, IBD = inflammatory bowel disease, IBS = irritated bowel syndrome, IFX = infliximab, IL-6 = interleukin 6, MMP9 = matrix metalloproteinase-9, NGAL = neutrophil gelatinase B-associated lipocalin, NF-κB = nukleární faktor kappa B, PCDAI – Pediatric Crohn’s Disease Activity Score, PMN = polymorphonuclear, SAA = sérový amyloid, TPGN = total plasma N-glycomes, TTF 3 = trefoil faktor 3, UC = ulcerózní kolitida

1.5.2 Fekální laktoferin

Laktoferin (LF) byl poprvé zachycen v kravském mléku a nachází se i v mléku jiných savců. Lze jej ale detekovat např. ve slinách, žluči nebo mozkomíšním moku. Současně je také produktem neutrofilních granulocytů. Právě z tohoto důvodu, při jejich aktivitě v místě zánětu (tedy v tomto případě ve střevě), jej lze detekovat ve stolici (F-LF), obdobně jako F-CPT.

LF je železo-vázající glykoprotein o molekulové hmotnosti 80 kDA a obsahuje 691 aminokyselin. Strukturálně je podobný transferinu, který má ovšem v metabolismu železa výraznější roli. LF má 3 izoformy, z nichž pouze laktoferin α váže železo, další dvě izoformy (β , γ) vykazují ribonukleázovou aktivitu bez této vlastnosti. Ionty železa váže ve formě Fe^{3+} a jejich uvolňování je závislé na pH. (Kell D. B. et al., 2020)

LF hraje významnou roli v obraně organismu proti bakteriím, virům, parazitům, houbám, ale také jiným zánětlivým či nádorovým onemocněním. Jeho významnou vlastností je vazba na některé receptory, které využívají právě např. infekční patogeny (např. CXCR4) (Takayama Y. et al., 2017).

Laktoferin u IBD

Studie z posledních let prokazují, že LF je u IBD využitelným markerem. Dai et al. v metaanalýze z roku 2020 našli pro ověření aktivity CD senzitivitu 82 % a specifitu 71 %, u UC byla tato čísla ještě vyšší (Dai C. et al., 2020). Podobné výsledky najdeme i v další studii (Mosli M. H. et al., 2015). Nicméně stejné informace nám přináší vyšetření F-CPT. Dle americké studie z roku 2020 významně převažuje využívání vyšetření F-CPT ve stolici pro chronické průjmy nad F-LF. Autoři jako možný důvod uvádí, že F-CPT se stanovuje metodou kvantitativní ELISA, kdežto F-LF pomocí kvalitativní ELISA. Ačkoli dobrou korelaci s endoskopickým i klinickým nálezem mají obě získané hodnoty, kvantitativní stanovení může při monitoraci IBD přinést více informací (Johnson L. M. et al., 2020).

1.5.3 CRP

C-reaktivní protein (CRP) dostal svůj název podle toho, že byl poprvé popsán při reakci s C-polysacharidem *Streptococcus pneumoniae*. Ten tvoří buněčné pouzdro této bakterie. Objeven byl již v roce 1930. Během evoluce se CRP strukturně příliš nemění, je stejný u obratlovců i u některých bezobratlých (Black S. et al., 2004).

CRP patří mezi tzv. pentraxiny. Do této rodiny zařazujeme také např. P-komponentu sérového amyloidu (krátké pentraxiny) nebo neuronální pentraxiny, pentraxin 3 (dlouhé pentraxiny) a další. CRP je pentamer diskoidního tvaru a skládá se z 5 podjednotek, každá má 206 aminokyselin. Každá strana tohoto diskoidního pentameru má jinou funkci. Na straně A se vážou kalciové ionty a je aktivována klasická cesta komplementu a fagocytóza (interakce s receptory C1q a Fc γ). Na druhém konci dochází k rozpoznávání fosfocholinu, který je součástí

bakteriální stěny a přispívá tak k eliminaci patogenů. CRP také váže faktor H, který reguluje alternativní cestu komplementu a C3 konvertázu. Existuje také monomerní forma CRP (lokální exprese).

Gen pro CRP se nachází v oblasti 23.2 na dlouhém raménku chromozomu 1. CRP je produkován v největší míře hepatocyty jako odpověď na prozánětlivou aktivitu cytokinů. Jsou to především interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 β a TNF. IL-6 zvyšuje aktivitu transkripčních faktorů C/EBP β and C/EBP δ , ostatní cytokiny jeho účinek ještě více potencují.

CRP patří mezi β 2 globuliny krevní plazmy a také mezi zásadní reaktanty akutní fáze. Maximálních koncentrací dosahuje mezi 24 a 48 hodinami od aktivace reakce akutní fáze. Elevaci lze zachytit již dříve (po 4–6 hod).

Bazální hodnota (baseline) CRP může být ovlivněna mnoha faktory, jako je věk, rasa, pohlaví a také genetickými polymorfismy. V jedné studii byl zjištěn rozdíl mezi hodnotou 95. percentilu u mužů (0,95 mg/dl) a žen (1,39 mg/dl), stejně tak i mezi dětmi a staršími osobami (Wener M. H. et al., 2000). U běžných single nukleotid polymorfismů (SNPs) byl také nalezen rozdíl v této bazální hodnotě nezávisle na výše zmíněných faktorech (Kathiseran S. et al., 2006, Szalai A. J. et al., 2005, Miller D. T. et al., 2005). Starší review udává mírné zvýšení až u 1/3 Američanů a přináší rozsáhlý seznam různých okolností, které byly v jednotlivých studiích se zvýšením asociovány (Kushner I. et al., 2006).

Kromě výše zmíněných demografických a genetických faktorů se jedná se o:

- Socioekonomický status
- Stravovací návyky, fyzickou aktivitu, kouření
- Změny zdravotního stavu v souvislosti s kardiovaskulárními onemocněními
- Změny zdravotního stavu v souvislosti s jinými onemocněními

CRP se nejčastěji vyšetřuje z odběru venózní či kapilární krve (vzácně např. ze synoviální tekutiny). Lze jej vyšetřovat různými metodami, u nás je častá imunoturbidimetrická metoda. Reakcí lidského CRP s částicemi, které obsahují protilátku, vznikne komplex antigen-protilátka. Tento komplex pak precipituje a kvantifikace probíhá pomocí turbidimetrie při různých vlnových délkách. Referenční meze jsou uváděny různě dle použité metody stanovení. U dětí nad 1 rok se uvádí při vyšetřování venózní krve a použití imunoturbidimetrie negativní hodnota pod 5 mg/l. Pro kapilární odběr (také turbidimetrie) je nejčastěji uváděnou hodnotou hranice 8 mg/l.

V diagnostice kardiovaskulárních onemocnění se využívá tzv. hsCRP (high-sensitivity CRP), které může být detekováno vysoce citlivými analytickými metodami v hodnotách 0,01–10 mg/l. Tento marker je zařazen do skórovacích systémů, které predikují riziko závažných kardiovaskulárních komplikací (Yousuf O. et al, 2013).

CRP u IBD

CRP není marker specifický pro postižení střeva, natož pro IBD. U CD je často zvýšené při aktivním transmurálním zánětu, zároveň jej ale můžeme detekovat i u asymptomatických pacientů (Chang S. et al., 2015). Byla také potvrzena korelace CRP s aktivitou onemocnění hodnocenou PCDAI, hodnoty CRP korelovaly také s FW (Tilakaratne S. et al., 2010). Ve starší studii na 104 dospělých pacientech s IBD (CD, UC, IBDU) potvrdili autoři korelaci mezi klinickou aktivitou, nálezem aktivního onemocnění při endoskopii a také histologickým potvrzením aktivního zánětu (toto jen u skupiny CD pacientů) (Solem C. A. et al, 2005). Metaanalýza Mosliho et al. (n = 19 studií, 2499 pacientů) zjistila celkovou senzitivitu 49 % a specifitu 92% pro detekci endoskopicky aktivního onemocnění s cut-off hodnotou > 5 mg/dl, u pacientů s již známou diagnózou IBD (Mosli M. H. et al., 2015). U některých SNP, jako je např. CRP 717 G>A (oblast promotoru) u až ¼ pacientů s relapsem onemocnění nemusíme elevaci vůbec zachytit (Jones J. et al., 2008).

Korelaci CRP s histologickým nálezem u IBD pacientů hodnotila studie z roku 2020. Bylo zahrnuto 26 pacientů (z toho ale pouze 5 s CD), odebráno bylo 6 biopsií z různých etáží střeva. Ani při zachytu aktivního zánětu ve více vzorcích, nevyšlo CRP jako signifikantní (Kyle B. D. et al., 2021). K predikci pooperačního relapsu onemocnění není CRP vhodným samostatným markerem, výsledky studií nejsou jednoznačné (Chang S. et al., 2015).

1.5.4 Kalprotektin

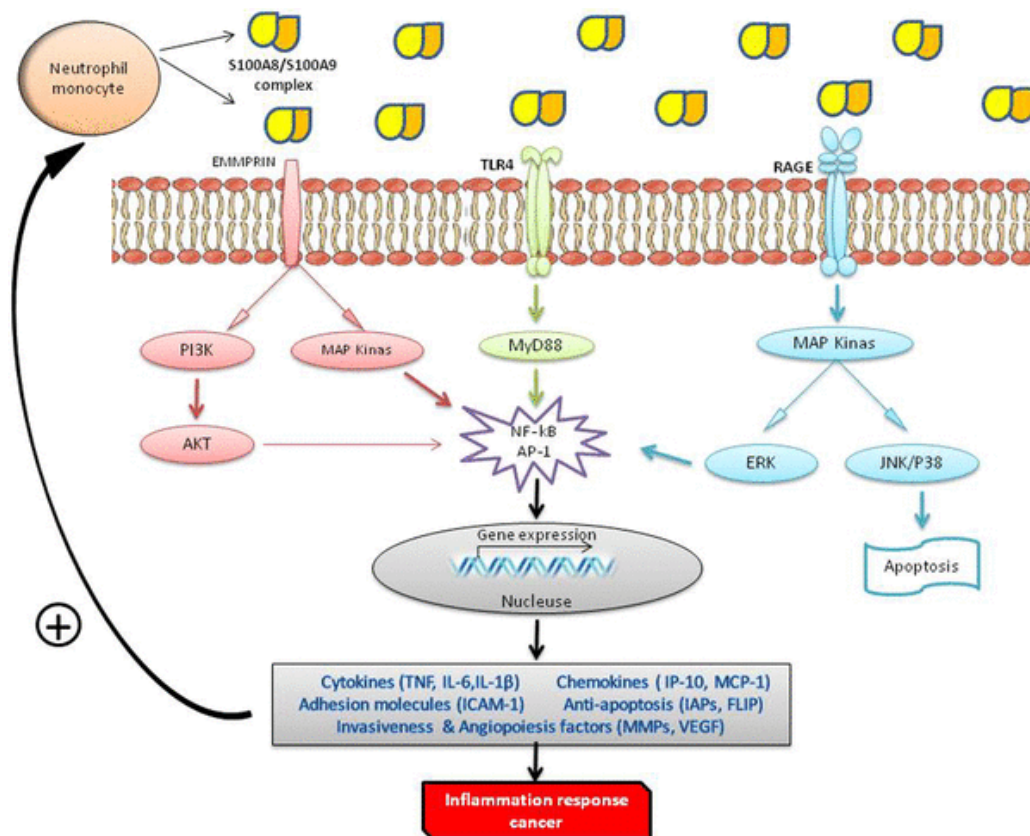
Kalprotektin (CPT) je heterodimer, který je složený ze dvou proteinů z rodiny S100, a to z S100A8 a S100A9, ty jsou také známé pod názvy calgranulin A a calgranulin B. S100 proteiny jsou kalcium vázající proteiny, které se nachází v cytosolu. Počet zástupců této skupiny se udává kolem 24 (Donato R. et al., 2013) nebo 25 (Xia C. et al., 2018, Gross S. R. et al., 2014). Proteiny S100 hrají roli jak v intracelulárních, tak v extracelulárních procesech, některé i v obou současně (Donato R. et al., 2013).

Škála funkcí konkrétních S100 proteinů je velmi široká. Podílí se např. na:

- Apoptóze
- Proliferaci
- Diferenciaci
- Migraci
- Energetickém metabolismu
- Metabolismu kalcia
- Fosforylaci proteinů
- Regulaci zánětu – DAMPs (Xia C. et al., 2018)

U proteinů S100A8 a S100A9, které tvoří CPT, je známo, že jejich expresi ovlivňuje řada faktorů. Jde o oxidativní stres obecně a pak také působení specifických cytokinů a buněčných růstových faktorů (Hsu K. et al., 2009).

Z pohledu IBD je zajímavá role S100 proteinů, resp. CPT jako DAMP(s). To jsou látky, které se uvolňují z poškozených nebo jinak stimulovaných buněk a pomáhají aktivovat zánětlivou reakci (De Haan J. J. et al, 2013). Současně se mohou uvolňovat také z některých buněk imunitního systému, jako jsou neutrofilní granulocyty nebo makrofágy. Zánětlivou odpověď aktivuje S100A8/9 vazbou na receptory Toll-like receptor 4 (TLR4) (Vogl T. et al, 2007) nebo Receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) (Leclerc E. et al., 2009). TLR4 receptor rozpoznává lipopolysacharid, který je součástí stěny Gram-negativních bakterií (Takeuchi O. et al., 1999). Jeho role byla potvrzena také u některých virových infekcí, jako např. u poškození plic při infekci virem ptačí chřipky (Imai Y. et al., 2008). RAGE receptor je významný v mnoha procesech, kromě toho také při zánětu nebo vzniku nádorových onemocnění, zejména při chronické stimulaci. Při vazbě na oba tyto receptory dochází k aktivaci či produkci různých cytokinů, NF- κ B, MAP kináz nebo adhezních molekul (Shabani F. et al., 2018), detailněji znázorněno na obrázku 1.5. CPT může také aktivovat apoptózu buněk jako jsou lymfocyty, makrofágy, buňky endotelu nebo i některé nádorové buňky (Ghavami S. et al, 2008).



Legenda: Neutrophil monocyte = neutrofil, monocyt, S100A8/S100A9 complex = kalprotektin, EMMPRIN = extracellular matrix metalloproteinase inducer, TLR4 – Toll-like receptor 4, RAGE = receptor for advanced glycation endproducts, MyD88 = myeloid differentiation factor 88, PI3K = Fosfoinositid 3-kináza, ERK = extracellulární signal-regulovaná kináza, JNK = c-Jun N-terminální kináza, AKT = proteinkináza B, NF-κB = nukleární faktor κB, AP-1 = Aktivátor protein 1, TNF = tumor necrosis factor, IL-6 = interleukin 6, IL-1β – interleukin 1β, ICAM-1 = intercellular adhesion molecule, IP 10 = Interferon gamma-induced protein 10, MCP-1 = Monocyte chemoattractant protein-1, IAPs = inhibitory protein, FLIP = (FADD-like IL-1β-converting enzyme)-inhibitory protein, MMPs = matrixmetaloproteinázy, VEGF = vaskulární endotelový růstový faktor

Obrázek 1.5 – Aktivace receptorů po vazbě komplexu S100 A8/A9 (převzato z Shabani F. et al., 2018)

Kde všude lze CPT detekovat?

CPT byl ve studiích sledován v mnoha tělních tekutinách, vč. séra, tumorech či orgánech. V následujícím textu jsou uvedeny některé z nich.

Ze zánětlivých onemocnění byl CPT nalezen ve zvýšených hodnotách v synoviální tekutině u revmatoidní artritidy (Abidtrup M. et al., 2015). V moči např. v menší studii Sahina et al. detekovali zvýšené hodnoty u pacientů s karcinomem močového měchýře oproti zdravým kontrolám (Sahin Y. et al., 2019). CPT v moči byl také použit k rozlišení mezi prerenálním a intrinsickým renálním poškozením (AKI), s jasným výsledkem zvýšení při druhém jmenovaném stavu, $p < 0,01$, s cut-off hodnotou 300 ng/ml, což odpovídalo senzitivitě 92,3 % a specificitě 97,1 % (Heller F. et al., 2011). V jiné studii autoři využili CPT v pleurální tekutině k rozlišení mezi maligním (MPE) a benigním pleurálním výpotkem (BPE) a transudátem. Hodnoty byly statisticky signifikantně vyšší u pacientů s BPE, oproti pacientům s MPE ($p < 0,01$) a transudátem ($p < 0,001$) (Botana-Rial M. et al., 2020). Ve slinách byla testována schopnost CPT rozlišit mezi zdravou kontrolou a aktivní aftózní lézí u rekurentní aftózní stomatitidy, hodnoty vyšly u druhé skupiny signifikantně vyšší (Koray M. et al., 2018). Měření CPT bylo využito také v ascitu, ve studii Hanafyho et al. u pacientů s jaterní cirhózou jako markeru pro časný záchyt hepatocelulárního karcinomu s vysokou senzitivitou (93 %) i specificitou (94 %) (Hanafy A. S. et al., 2020).

Sérový kalprotektin

CPT v séru (S-CPT) je v současné době velmi slibným markerem, který získává své místo v diagnostice a monitorování mnoha různých onemocnění. Zejména k tématu COVID-19 v poslední době studií značně přibývá.

Stručný přehled některých témat odborných prací za rok 2020 a 2021 je v následující tabulce 1.5:

Tabulka 1.5 – Přehled významných prací zabývajících se sérovým kalprotektinem za rok 2020 a 2021

Autor	Téma	Výsledek
Lee Y. G. et al., 2020	Astma	pacienti s astmatem (n = 33) měli vyšší hodnoty než zdravé kontroly (n = 28)
Jarlborg M. et al., 2020	RA, axSpa	medián hodnot u nemocných (969 pacientů s RA, 451 s axSpA) byl vyšší než u zdravých kontrol (n = 72)

Wang C. et al., 2020	aSAK	S-CPT ve 48. hod signifikantně koreloval se závažností a špatnou prognózou pacientu po aSAK (n=54)
Wirtz T. H. et al., 2020	Sepse	signifikantní zvýšení S-CPT u pacientů v septickém stavu, korelace s CRP, vyšší mortalita při vysokém vstupním S-CPT
Machahua C. et al., 2021	IPF	vyšší hodnoty u pacientů s IPF (n = 66) oproti zdravým kontrolám (n = 26)
Shi H. et al., 2021	COVID-19	vyšší hodnoty u pacientů s COVID-19, vyžadujících ventilaci oproti těm bez ní
Agaoglu R. T. et al., 2021	ICP	vyšší hodnoty u žen s ICP než u zdravých těhotných
Fouda I. et al., 2021	Akné	vyšší hodnoty u akné oproti zdravým kontrolám, korelace se závažností a trváním onemocnění
Velayutham R. et al., 2021	Periferní neuropatie	vyšší hodnoty u diabetiků (celkem n = 126) s periferní neuropatií oproti bez těm této komplikace
Şumnu Ş. et al., 2021	Hodgkinův lymfom	normalizace hodnot u pacientů po léčbě, vyšší hodnoty před léčbou (33 HL pacientů, 20 kontrol)

Legenda: RA = revmatoidní artritida, axSpA = axiální spondyloartritida, aSAK = subarachnoideální krvácení z aneurysmatu, IPF = idiopatická plicní fibróza, ICP = intrahepatální cholestáza těhotných, HL = Hodgkinův lymfom

S-CPT u IBD

K tématu S-CPT a IBD z roku 2019 uvádí v souhrnném review íránští autoři 7 studií publikovaných do konce roku 2018 (Azramezani Kopi T. et al., 2019). Dle nich se S-CPT zdá být spíše markerem systémového zánětu, než vhodným markerem k hodnocení samotného zánětu ve střevě. Ve stejném roce jiní autoři potvrdili vyšší hodnoty S-CPT u pacientů s UC oproti zdravým kontrolám (n = 101 u obou skupin) (Okada K. et al., 2019).

V roce 2019 vyšla studie, kde byl S-CPT měřen u 19 adolescentů s UC a byla nalezena pozitivní korelace s endoskopickým skóre, symptomy a CRP (Carlsen K. et al., 2019). Španělští autoři publikovali pro UC podobné výsledky ohledně korelace s endoskopickým nálezem u dospělých pacientů (n = 27), nicméně u pacientů s CD tuto korelaci nepotvrdili (Suárez Ferrer C. et al., 2019). Recentní studie z roku 2021 ovšem ohledně hodnocení klinických symptomů a

laboratorních parametrů našla lepší korelaci s aktivitou onemocnění u CD (signifikantní výsledek pro CRP, trombocytů a ALB) než u UC (pouze CRP) (Mori A. et al., 2021).

CPT lze měřit i v plazmě, studie dánských autorů z roku 2019 přinesla srovnání sérového a plazmatického CPT u dětských (n = 30) a dospělých (n = 54) pacientů s UC. U plazmatického CPT byla nalezena lepší korelace s rozsahem endoskopického postižení střeva, symptomy i histologickým nálezem (Malham M. et al., 2019).

Kalprotektin ve střevních buňkách

CPT se dá zjišťovat také přímo ve tkáních, v této práci jej označujeme jako tkáňový CPT (T-CPT). Jeho imunohistochemická detekce přímo ve střevních buňkách ale není rutinně využívanou metodou. A to ani k monitorování, ani k predikci relapsu onemocnění a ani ke stanovení případné další prognózy. Studií, které se tímto tématem zabývají, také není mnoho. Fukunaga et al. hodnotili přítomnost CPT-pozitivních buněk ve střevní sliznici a srovnávali pacienty s IBD a kontrolní skupinu bez IBD. U první zmíněné skupiny byl počet těchto buněk vyšší (Fukunaga S. et al., 2018). Podobně jiná studie zjistila, že u pacientů s aktivní UC je přítomnost CPT-pozitivních buněk vyšší než u pacientů v remisi (Liu W.B. et al., 2005). Studie z našeho pracoviště se zabývala koncentrací T-CPT u dětských pacientů s nově diagnostikovanou UC a zjistila, že dobře koreluje s histologickým nálezem, ale není tak dobrým prediktorem dalšího průběhu jako F-CPT a Pediatric Ulcerative Colitis Activity Index (PUCAI) (Fabián O. et al., 2019). Zvýšená koncentrace T-CPT byla také nalezena při vyšetřování resekátů po appendektomii provedené pro akutní zánět (Ambe P.C. et al., 2016). Tématu T-CPT jsme se věnovali také v druhém projektu, který je předmětem této práce a bude zmíněn v dalším textu.

Fekální kalprotektin

F-CPT se využívá zejména v diagnostice a monitoringu IBD u dětí i dospělých. Z diagnostického hlediska je výhodným markerem při rozlišování mezi pacienty se suspektním IBD a těmi, kteří mají např. dráždivého tračníku (IBS), a předchází tedy neindikovanému provedení endoskopie (Ayling R. M., Kok K., 2018). F-CPT vykazuje interindividuální i intraindividuální variabilitu (rozdíly mezi koncentracemi během dne) (Kristensen V. et al., 2016), nicméně v rámci diagnostiky je velmi spolehlivým markerem. Distribuce ve vzorku

stolice je homogenní a je poměrně stabilní (Røseth A. G. et al., 1992), proto je pro pacienty i poměrně jednoduché jej odebrat a dodat k vyšetření i z domova.

F-CPT ale není markerem specifickým pro IBD. Mohou jej zvyšovat např.:

- Infekční gastroenteritidy (Chen C. C. et al., 2012)
- Juvenilní střevní polyp (Olafsdottir I. et al., 2016)
- Léčba nesteroidními antiflogistiky (NSAID) (Maiden L. et al., 2005)
- Léčba inhibitory protonové pumpy (PPI) (Poullis A. et al. 2003)
- Jaterní cirhóza (Alempijević T. et al., 2014)
- Cystická fibróza, zejm. u pacientů s insuficiencí pankreatu (Ellemunter H. et al., 2017))
- Nádory (Tibble J. et al., 2001)
- Přítomnost krve v GIT (Vavricka S. R., 2018)
- Recentně provedená koloskopie (Kolho K. L. et al, 2012)

Naopak přímý vliv medikace často využívané v léčbě IBD, tedy AZA, KS nebo mesalazinu, prokázán nebyl (Tøn H. et al., 2000).

Odlíšné hodnoty pro věkové skupiny našlo více studií, zejména se jednalo o vyšší hodnoty u kojenců (Oord T., Hornung N., 2014, Rugveit J., Fagerhol M. K., 2002, Baldassarre M. E. et al., 2007, Peura S. et al., 2018). Toto potvrdila i studie s velkým množstvím vyšetřených vzorků (n=11255), kde byly statisticky signifikantně vyšší hodnoty hlavně u dětí do 6 měsíců věku, bez rozdílu mezi pohlavími (Kolho K. L. et al., 2020). Byl zaznamenán i vyšší F-CPT u osob nad 60 let (Joshi S. et al., 2010).

F-CPT je také často využíván k predikci relapsu IBD. V roce 2018 Galgut et al. zpracovali přehled studií, které hodnotily senzitivitu a specifitu F-CPT právě v této souvislosti (tabulka 1.6) (Galgut B. J. et al., 2018):

Tabulka 1.6 – Hodnocení senzitivity a specifity F-CPT v predikci relapsu IBD (upraveno dle Galgut et al., 2018)

Autor	Počet pacientů	Senzitivita (%)	Specifita (%)	Cut-off hodnota	Délka remise na počátku (měsíce)	Doba trvání studie (měsíce)

Tibble J. A. et al., 2000	80 (IBD)	90	83	50 mg/l	1-4	12
Costa F. et al., 2005	38 (CD) 41 (UC)	87 89	43 82	150 µg/g	1-12	12
D'Inca R. et al., 2008	65 (CD) 97 (UC)	65 70	62 70	130 µg/g	3-36	
Gisbert J. P. et al., 2009	163 (IBD) 89 (CD) 74 (UC)	100 69 69 69	70 75 76 74	167 µg/g 169 µg/g 164 µg/g	6	3 12 12 12
Kallel L. et al., 2010	53 (CD)	80	91	340 µg/g	>3	12
García-Sánchez V. et al., 2010	135 (IBD)	80	60	120 µg/g	>3	12
Sipponen T., Kolho K. L., 2010	72 (IBD)	32 38 83	80 72 24	82 µg/g 108,5 µg/g 1005 µg/g	>3	12
Naismith G. D. et al., 2014	92 (CD)	80	75	240 µg/g	Neurčeno	12

Legenda: IBD = inflammatory bowel disease, CD = Crohnova nemoc, UC = ulcerózní kolitida

I přes někdy značné rozdíly v senzitivitě a specifitě je F-CPT autory považován za velmi dobrý marker relapsu onemocnění, ke zvážení je kratší doba hodnocení než 12 měsíců. Mao et al. v metaanalýze z roku 2012 uvádí vyšší senzitivitu pro pacienty s ileokolickou nebo kolickou formou CD než pro pacienty s ileální formou CD (Mao R. et al., 2012).

1.5.5 Sedimentace erytrocytů

Toto jednoduché a běžně dostupné vyšetření se využívá k diagnóze či monitoraci zánětlivých procesů. Je ale velmi nespecifické, protože jej ovlivňuje řada faktorů. Musí být tedy vždy hodnoceno v kontextu klinického stavu a dalších vyšetření, která pacient podstupuje. Podstatou tohoto vyšetření je rychlost klesání erytrocytů, a to ve vzorku nesrážlivé krve. Za průkopníky

této metody se považují lékaři Fahraeus a Westergren, kteří ji začali používat v roce 1921 (u nás často využívaná zkratka FW pochází z jejich jmen). Metoda byla standardizována poprvé až v roce 1965 (Jou J. M. et al., 2011).

Principem této metody je tzv. penízkovatění erytrocytů. Erytrocyty se na sebe skládají podobně jako váleček mincí, a proto následně klesají rychleji ke dnu zkumavky. K tomuto jevu dochází hlavně při změnách běžného složení krevní plazmy, tedy při vyšších koncentracích některých proteinů. Povrch erytrocytů nese negativní náboj, za normálních okolností se tedy krvinky vzájemně odpuzují. Zvýšené množství pozitivně nabitých proteinů ale tyto náboje neutralizuje a umožňuje tak vznik „roleaux“. (Hashemi R. et al., 2015).

Používá se vzorek venózní krve, který se nejčastěji nabírá do zkumavky s černým víčkem, která obsahuje 3,2 % (0,109 mol/l) roztok pufovaného citrátu sodného v poměru 1 : 4 dílům krve. Lze také nabrat přímo do zkumavky, která je součástí setu se sedimentační kalibrovanou kapilárou. Tuto je po odběru nutné umístit do vertikální polohy do stojanu. Lze také využít hodnocení pomocí analyzátorů společně s krevním obrazem na základě kapilární mikrofotometrie, zde je nutné ale nabírat krevní vzorek do zkumavky s kyselinou ethylendiamintetraoctovou (EDTA).

Faktory ovlivňující výsledek (Ramsay E. S., Lerman M. A., 2015)

Faktorů, které mohou mít vliv na výsledek je velmi mnoho, zejména při starším způsobu provedení např. přímo v ordinaci. Jejich vliv je snížen při využití analyzátorů. Patří sem:

- Teplota, sluneční záření v místnosti
- Sklon zkumavky
- Čas od odebrání vzorku
- Otřesy
- Vlastnosti vzorku (ikterický vzorek, hemolýza)
- Věk (Alende-Castro V. et al., 2019)
- Pohlaví (vyšší u žen) (Alende-Castro V. et al., 2019)
- Některé léky

Zvýšená sedimentace může být u celé řady stavů a ne všechny jsou patologické. To dokládá nízkou specifitu tohoto vyšetření. Zde jsou některé z nich (dle Tishkowskí K., Gupta V., 2021):

- Anémie

- Arteritida
- Infekce
- Selhání ledvin
- Srdeční selhání
- Nízký sérový ALB
- Autoimunitní onemocnění (systémový lupus erytematoses, revmatoidní artritida atd.)
- Nádory (lymfomy, mnohočetný myelom a další nádorová onemocnění v pokročilém stadiu)
- Systémové vaskulitidy
- Abnormality erytrocytů
- Těhotenství
- Diabetes

FW a IBD

V metaanalýze z roku 2015 se američtí autoři zabývali využitím některých markerů k odlišení IBD od IBS. Dle výsledků samostatná využitelnost FW je velmi nízká. (Menees S. B. et al., 2015).

1.5.6 Krevní obraz

Vyšetření krevního obrazu patří mezi nejčastěji prováděná vyšetření, nejen v pediatrii. Mezi základní testované elementy patří erytrocyty, leukocyty a trombocyty. U každé této kategorie se dále hodnotí detailnější vlastnosti.

Nejčastěji hodnocené parametry u erytrocytů

- Celkový počet
- Hemoglobin
- Hematokrit
- MCV (mean corpuscular volume) – průměrná velikost erytrocytu
- MCH (mean corpuscular hemoglobin) – průměrné množství hemoglobinu v erytrocytu
- MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration) – střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu
- RDW (red cell distribution width) – distribuční šíře erytrocytů
- Retikulocyty – nově vyplavené erytrocyty

Změny v jednotlivých parametrech jsou typické pro některé diagnózy. Lze dle nich např. určit typ anémie.

Nejčastěji hodnocené parametry u leukocytů

- Celkový počet
- Diferenciální rozpočet – popis jednotlivých forem leukocytů a jejich procentuálního a absolutního zastoupení. Nejčastěji se popisují neutrofilů, lymfocytů, monocytů, eozinofilů a bazofilů
- Záchyt atypických nebo nezralých forem

Nejčastěji hodnocené parametry u trombocytů

- Celkový počet
- MPV (mean platelet volume) – průměrná velikost trombocytu
- PDW (platelet distribution width) – distribuční šíře trombocytů

Krevní obraz u IBD

Mezi jednu z nejčastějších EIM IBD patří anémie. Ta je definována buď jako snížení hemoglobinu či hematokritu (konkrétní hodnoty se liší dle věku a pohlaví). Použijeme-li definici anémie dle WHO, pak dle různých studií je prevalence v době diagnózy 44–74 % a jeden rok od diagnózy 25–58 %. Přes polovinu pacientů mělo výlučně anémii z nedostatku železa (IDA) (Goyal A. et al., 2020). Dle dalších studií je u dětí anémie častější než u adolescentů nebo dospělých. Kromě deficitu železa je příčinou anémie u dětí s IBD také anémie chronických chorob a deficit některých vitaminů (B12, kyselina listová). Svou roli hrají také nežádoucí účinky některých léků (Sjöberg D. et al., 2014, Goodhand J. R. et al., 2012).

Změny trombocytů se mohou vyskytovat nejen v jejich počtu, ale i v jiných parametrech. Trombocytóza u IBD byla poprvé popsána Morowitzem již v roce 1968 (Morowitz D. A. et al., 1968). Je výsledkem kombinace více procesů – v kostní dřeni je vlivem mediátorů zánětu aktivována aberantní trombopoéza, její aktivaci podporuje také zvýšená potřeba z důvodu kratší životnosti trombocytů (aktivace a spotřeba v místě zánětu) (Voudoukis E. et al., 2014).

1.5.7 Albumin

ALB je hlavním proteinem krevní plazmy, udává se, že tvoří kolem 60 % celkové bílkoviny. V plazmě se ale vyskytuje jen jeho menší část, 40 %, více se ho nachází v extracelulární tekutině. ALB je syntetizován hepatocyty a tvoří jednu čtvrtinu bílkovin produkovaných játry

za den, cca 12 g. Referenční hodnoty pro dospělé se podle National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) pohybují mezi 37–47 g/l, u dětí mezi 1–18 lety se zde uvádí rozmezí 31–48 g/l.

ALB má v organismu několik zásadních rolí:

- Udržování onkotického tlaku v cévách
- Vazba různých sloučenin pocházejících z organismu (bilirubin, hormony, mastné kyseliny apod.)
- Vazba cizích látek, např. léků (MTX)

K hypoalbuminémii může dojít z důvodu snížené syntézy, zvýšené exkrece nebo jejich kombinace.

Potenciální důvody příčiny hypoalbuminémie u IBD jsou:

- Proteinová malnutrice (při nízkém příjmu bílkovin či celkově stravy je nedostatek aminokyselin k jeho syntéze)
- Střevní ztráty (poškození sliznice)
- Zánět (negativní reaktant akutní fáze, inhibice syntézy některými cytokiny, např. IL-1 nebo IL-6)
- Celkově závažný stav, sepse

1.5.8 Poměr CRP/ALB

Zajímavým, ale zatím málo využívaným markerem, resp. kombinací markerů, je podíl hodnoty CRP ke koncentraci sérového ALB (CRP/ALB). Tento poměrně nový prediktor byl již využit v hodnocení prognózy nádorových onemocnění (Wu J. et al., 2018), k identifikaci závažně nemocných pacientů při akutním příjmu (Fairclough E. et al., 2009), mortality akutní pankreatitidy (Kaplan M. et al., 2017) a hodnocení aktivity Takayushovy arteriitidy (Seringec Akkececi N. et al., 2019). Studií v souvislosti s IBD není mnoho. V retrospektivní studii (100 pacientů s CD a 100 zdravých kontrol) byla využitelnost největší při rozlišování mezi aktivní a neaktivní CD (Qin G. et al., 2016). V jiné studii byl poměr CRP/ALB vyhodnocen jako nezávislý prediktivní faktor pro aktivitu UC (275 pacientů) i CD (601 pacientů) (Chen Y. H. et al., 2020).

1.5.9 Další markery nejčastěji využívané v souvislosti s diagnózou IBD v klinické praxi

p-ANCA

ANCA protilátky dle imunofluorescenčních testů rozdělujeme na typ cytoplazmatický, „c“, a typ perinukleární, „p“. S IBD jsou více asociovány p-ANCA, c-ANCA můžeme detekovat např. v souvislosti s granulomatózou s polyangiitidou (dříve Wegenerova granulomatóza). Dle review Prideaux et al. se p-ANCA u pacientů s CD vyskytují v prevalenci 6–38 %, s UC 41–73 %, zatímco u jiných onemocnění GIT či u zdravých kontrol maximálně u 8 % (Prideaux L. et al., 2012). Senzitivita pro rozlišení mezi IBD pacienty a zdravými kontrolami je ale nízká. Výsledky ohledně vztahu pozitivních p-ANCA protilátek a aktivity UC jsou rozporuplné (Zhou G. et al., 2016). Jejich význam ale spočívá v tom, že mohou přispět k rozlišení mezi UC a CD, viz dále.

ASCA

Tyto protilátky jsou výsledkem reakce na manan, který je obsažený v buněčné stěně *Saccharomyces cerevisiae*. V séru pacientů se vyskytují ve třídě IgA a IgG (Zhou G. et al., 2016). V kombinaci s p-ANCA protilátkami je lze využít k rozlišení mezi UC a CD, a to s velmi vysokou specificitou – nad 90 %. Senzitivita je nižší, vyskytují se zhruba u poloviny pacientů s CD (Reese G. E. et al, 2006). U ASCA protilátek je také zkoumáno jejich využití v rámci predikce. Starší studie z roku 2000. zjistila začátek onemocnění v nižším věku u pacientů s vyššími hodnotami ASCA protilátek, a také tito pacienti měli vyšší riziko různých komplikací (Vasiliauskas E.A. et al., 2000). Současně bylo např. zachyceno vyšší procento pozitivních ASCA protilátek u příbuzných pacientů s CD (Annesse V. et al., 2001).

V rámci diagnostiky, monitoringu průběhu i rozvoje komplikací onemocnění a také terapie, se u pacientů s IBD provádí často také:

- Stanovení koncentrace aminotransferáz
- Stanovení koncentrace pankreatických enzymů
- Stanovení parametrů metabolismu železa
- Stanovení hladin léčiv
- Stanovení přítomnosti a hladin protilátek proti některým léčivům
- Stanovení koncentrace 25-hydroxyvitaminu D

Popis konkrétního významu a využití jmenovaných markerů je nad rámec této práce.

2. Cíle práce a hypotézy

2.1 Cíle práce

Cílem obou hlavních projektů byla identifikace možných biochemických prediktorů relapsu onemocnění v anastomóze u dětských pacientů s CD, kteří podstoupili ICR.

Konkrétní cíle jednotlivých projektů byly:

- Zhodnocení míry relapsu onemocnění po ICR
- Zhodnocení CRP jako prediktoru relapsu onemocnění
- Zhodnocení ALB jako prediktoru relapsu onemocnění
- Zhodnocení F-CPT jako prediktoru relapsu onemocnění
- Zhodnocení předoperační terapie jako možného prediktoru relapsu onemocnění po ICR
- Zhodnocení využitelnosti imunohistochemického stanovení CPT v resekátu po ICR jako prediktoru relapsu onemocnění

2.2 Hypotézy

Mezi základní hypotézy využití v této práci patří:

- Míra relapsu onemocnění po ICR u dětských pacientů odpovídá míře relapsu u dospělých
- Vysoká hladina CRP (ve 3. a 6. měsíci po operaci) predikuje relaps 6 měsíců po provedení ICR
- Nízká hladina ALB v době operačního výkonu predikuje relaps 6 měsíců po provedení ICR
- Vysoká hladina F-CPT (ve 3. a 6. měsíci po operaci) predikuje relaps 6 měsíců po provedení ICR
- Předoperační léčba není asociována s rozvojem relapsu 6 měsíců po provedení ICR
- Vysoký počet buněk pozitivních na CPT v operačním resekátu predikuje rozvoj relapsu 6 měsíců po provedení ICR

3. Použité metody

Projekt č. 1 - *Endoskopická rekurence 6 měsíců po ICR u dětských pacientů s CD léčených monoterapií AZA* - byl zaměřen na pediatrické pacienty po ICR, endoskopický relaps onemocnění v souvislosti s předoperační léčbou a identifikací případných prediktorů relapsu.

Projekt č. 2 - *Tkáňový kalprotektin jako prediktor rekurence onemocnění po ICR u dětských pacientů* - byl zaměřen taktéž na pacienty po ICR a endoskopický relaps onemocnění, ale nezávisle na předchozí léčbě a hodnocením využitelnosti stanovení T-CPT v operačním resekatu.

3.1 Pacienti

Projekt č. 1

Do tohoto projektu jsme zařadili dětské pacienty s diagnózou CD na základě RPC nebo PC (viz kapitola 1.2), kteří:

- Podstoupili ICR (v období 10/2011 – 6/2015)
- Neměli reziduální nemoc (tato je definována jako přítomnost aktivního onemocnění kdekoli jinde v GIT než v resekované oblasti. K ověření bylo využito endoskopické vyšetření a MRE nebo se jednalo o PCD)
- Měli provedeno kompletní endoskopické vyšetření (ezofagogastroduodenoskopii a ileokoloskopii) v intervalu do 100 dní před operací
- Po operaci byli léčeni monoterapií AZA
- Podstoupili kontrolní endoskopii po 6 měsících od ICR

Pacientů, kteří podstoupili v tomto období ICR, bylo 47, chirurgických výkonů na střevě bylo ve stejném intervalu 54. Jednalo se o:

- Resekci tlustého střeva s descendentostomií
- Levostrannou kolektomii
- Resekci ilea s ileoileální anastomózou
- Uzavření perforace střeva bez resekce
- Uzavření stomie a vytvoření ileokolické anastomózy po předchozí ICR
- Resekce píštěle, vyvedení rekto- a descendentostomie, posléze nutná revize pro ileus

Dvacet pacientů nebylo zařazeno z různých důvodů (aktivní onemocnění v tlustém střevě, aktivní PCD, předání do péče na jiné pracoviště, neprovedená předoperační endoskopie). Ze

zbývajících 27 měli 2 pacienti komplikace na léčbě AZA a ta musela být přerušena (epidurální absces u jednoho pacienta a píštěl v ráně 1,5 měsíce po operaci u druhého pacienta), 4 pacienti přestali v průběhu sledování na kontroly docházet. Celkově tedy bylo do studie zařazeno 21 pacientů.

Projekt č. 2

Do tohoto projektu jsme zařadili dětské pacienty s diagnózou CD na základě RPC nebo PC, kteří:

- Podstoupili ICR s primární anastomózou (ale s možností kombinace s jiným výkonem – strikturoplastikou, resekcí jiné části střeva, evakuací abscesu, fistulektomií atd.) v období 12/2008– 9/2018
- Měli provedenou kontrolní endoskopii
- Měli dostupné bioptické vzorky z chirurgického výkonu a endoskopické kontroly

Do této studie jsme zařazovali pacienty nezávisle na před- i pooperační terapii. Šedesát tři pacientů podstoupilo v daném období ICR, 4 pacienti nebyli zařazeni z důvodu ileostomie a odloženého výkonu k provedení střevní anastomózy, 11 pacientů nemělo v určeném intervalu provedenou kontrolní endoskopii. Celkově tedy bylo do studie zařazeno 48 pacientů.

Pro zařazení do obou studií musel podepsat zákonný zástupce či pacient informovaný souhlas a obě studie byly schváleny Etickou komisí Fakultní nemocnice v Motole.

3.2 Sběr dat

Projekt č. 1

Retrospektivně jsme z nemocničního informačního systému získali u vybraných pacientů data:

- Klinická (forma a chování onemocnění, indukční terapie)
- Výsledky endoskopického vyšetření před operací
- Zobrazovací metody před operací
- Chirurgická data (délka resekce, přítomnost dilatace střeva)
- Histologická data (granulomy v resekátu)

Prospektivně jsme zaznamenávali či prováděli vyšetření v době operace a během pooperačního sledování minimálně po dobu 6 měsíců, jednalo se o:

- Klinická data [PCDAI, rozvoj fistulující či perianální formy po ICR, body mass index (BMI) Z-skóre]
- Laboratorní data (krevní obraz, FW, CRP, ALB)
- Výsledky endoskopického vyšetření v době kontroly (Rutgeerts skóre)

Projekt č. 2

Retrospektivně jsme z nemocničního informačního systému získali u vybraných pacientů data:

- Klinická předoperační (typ farmakoterapie, přítomnost penetrující formy onemocnění, elektivní či akutní výkon)
- Chirurgická (délka resekce, další prováděný výkon)
- Laboratorní výsledky
- Histologické charakteristiky preparátů z doby chirurgického výkonu a detekce T-CPT

Prospektivně bylo hodnoceno:

- Endoskopická data v době kontrolní endoskopie [Rutgeerts skóre, modifikované simple endoscopic score for Crohn's disease (mSES)]
- Klinická data v době endoskopie
- Laboratorní parametry v době endoskopie
- Hodnocení histologických vzorků pomocí modifikovaného Global Histology Activity Score (mGHAS)

3.3 Statistický analýza

Projekt č. 1

K analýze dat v tomto projektu jsme využili statistický software „R Statistical software“ (verze 3.2.3). K vyjádření kontinuálních proměnných jsme zvolili medián s interkvartilovým rozptylem (IQR). U kategorických proměnných to byly frekvence výskytu a procenta. K porovnání kontinuálních proměnných byl využit Wilcoxonův dvouvýběrový test (rank-sum) a Wilcoxonův párový test (R package „coin“ verze 1-1.2), z důvodu malého souboru pacientů. Ze stejného důvodu byl k porovnání naší hypotézy u kategorických dat vybrán chí kvadrátový test a chí kvadrátový test nezávislosti (R package „coin“ verze 1-1.2). Čas do relapsu onemocnění byl zobrazen pomocí Kaplan-Mayerovy křivky. K ověření, zda byl rozdíl mezi pacienty s nebo bez předchozí terapie anti-TNF- α signifikantní, jsme zvolili Coxovu regresní

analýzu. Jako statisticky signifikantní hodnotu jsme určili $p < 0,05$. K mnohočetnému testování jsme použili metodu korekce FDR (false-discovery rate).

Projekt č. 2

V tomto projektu byla analýza dat provedena pomocí statistického software R-project (R Core Team, verze 3.6.0). K vyjádření kontinuálních proměnných jsme zvolili medián s IQR. U kategorických proměnných to byly frekvence výskytu a procenta. Hodnoty F-CPT byly analyzovány a zobrazeny pomocí logaritmické křivky. Univariantní asociace s kategorickým výstupem byly ověřeny pomocí logistického regresního modelu. Pro testování asociací mezi dvěma lineárními prediktory jsme použili model lineární regrese. Adjustované modely jsme vytvořili pomocí mnohočetné logistické regrese. Výběr prediktorů pro tuto analýzu jsme provedli pouze na základě klinického rozhodnutí. Jako statisticky signifikantní hodnotu jsme určili $p < 0,05$ a konfidenční interval 95%.

3.4 Skórovací systémy

3.4.1 PCDAI – Pediatric Crohn's Disease Activity Index

Toto skóre hodnotí informace z anamnézy, laboratorních výsledků a klinického vyšetření. Jednotlivé položky jsou ohodnoceny bodovými hodnotami (0–10), s celkovým maximem 100 bodů. Za remisi je považován stav pod 10, 10–30 odpovídá střední aktivitě zánětu a nad 30 bodů se jedná již o aktivitu výraznou. Detailní popis v tabulce 3.1.

Tabulka 3.1 – PCDAI dotazník

Bolesti břicha	Není přítomna				0
	Mírná - jen občasně, neomezuje aktivity				5
	Závažná - denně, v noci, omezuje aktivity				10
Stolice (za den)	Formované, maximálně 1 tekutá, bez krve				0
	Do 2 kašovitých stolic s malým množstvím krve nebo 2-5 tekutých stolic s nebo bez krve				5
	Přítomnost většího krvácení nebo více než tekutých stolic noční stolice				10
Celkový stav	Bez omezení aktivit, cítí se dobře				0
	Horší tolerance běžné aktivity, cítí se nemocně				5
	Výrazné omezení běžné aktivity, cítí se špatně				10
HCT (%)	0–10 let	chlapci 11–14 let	chlapci 15–19 let	dívky 11–19 let	

	> 33	≥ 35	≥ 37	≥ 34	0
	28–32	30–34	32–36	29–33	2,5
	< 28	< 30	< 32	< 29	5
FW (mm/hod)	< 20				0
	20–50				2,5
	> 50				5
ALB (g/dl)	≥ 3,5				0
	3,1–3,4				5
	≤ 3,0				10
Hmotnost	přírůstek, záměrná stagnace či úbytek				0
	neplánovaná stagnace, úbytek 1–9 %				5
	úbytek 10 % a více				10
Výška	růstová rychlost ≥ -1 SD				0
	růstová rychlost < -1 SD a > -2 SD				5
	růstová rychlost ≤ -2 SD				10
Břicho	nebolestivé, bez hmatné rezistence				0
	bolestivé nebo hmatná rezistence bez bolesti				5
	bolestivé, jasná rezistence, známky peritonitidy				10
Perianální nález	Bez nálezu, asymptomatické skin tags				0
	1–2 neaktivní píštěle, bez výrazné sekrece, bez bolestivosti				5
	Aktivní píštěl, bolestivost, absces, drenáž				10
Extraintestinální manifestace (horečka více než 38,5°C po 3 dny za poslední týden, definovaná artritida, erythema nodosum, uveitida, pyoderma gangrenosum)				Žádná	0
				1	5
				≤ 2	10

Legenda: HCT = hematokrit, FW = sedimentace erytrocytů, ALB = albumin, SD = směrodatná odchylka, °C = stupně Celsia

3.4.2 Rutgeerts skóre

Toto skóre se používá k popisu endoskopického nálezu v anastomóze po ICR. I přesto, že bylo validováno pouze pro dospělou populaci, je běžně používáno i v pediatrické klinické praxi (vzhledem k nedostupnosti jiného validovaného skórovacího systému). Detailní popis viz tabulka 3.2.

Tabulka 3.2 – Rutgeerts skóre

i0	Bez lézí
i1	≤ 5 aftózních lézí
i2	> 5 aftózních lézí s okrsky normální sliznice mezi nimi nebo rozptýlené větší léze nebo léze v oblasti ileocékální anastomózy (< 1cm)
i3	Difúzní aftózní ileitida se zánětlivě změněnou sliznicí
i4	Difúzní zánět s většími vředy, noduly a/nebo zúžením

Za relaps onemocnění je považováno skóre vyšší než i2 (včetně), za remisi onemocnění tedy považujeme pouze hodnoty i0 a i1.

3.4.3 mSES-CD (Simple Endoscopic Score for Crohn's disease) – modifikace pro kolon a pro horní GIT

Toto skóre popisuje endoskopickou aktivitu zánětu v GIT. Hodnotí se 4 položky (velikost vředů, přítomnost vředů, přítomnost aktivního zánětu, přítomnost zúžení) v daném segmentu GIT, každá má 4 možná bodová ohodnocení. Výsledkem je součet všech bodů. Detailní popis viz tabulka 3.3.

Tabulka 3.3 – Hodnocené parametry u SES-CD

Hodnocený parametr	Možnosti	Body
Velikost vředů	Nepřítomny	0
	Afty (0,1–0,5 cm)	1
	Vředy (0,5–2 cm)	2
	Velké vředy (> 2 cm)	3
Přítomnost vředů	Nepřítomny	0
	< 10 % povrchu segmentu	1
	10–30 % povrchu segmentu	2
	> 30 % povrchu	3
Přítomnost zánětu	Nepřítomen	0
	< 50 % segmentu	1
	50–75 % segmentu	2
	> 75 % segmentu	3
Přítomnost zúžení	Nepřítomno	0
	Jedno, průchozí endoskopem	1
	Více, průchozí endoskopem	2
	Neprůchozí, těsná striktura	3

V našem projektu č. 2 bylo využito skóre modifikované pro dolní část zažívacího traktu (mSES-CD), ale z důvodu provedené ICR – bez položky „ileum“, hodnotily se tedy následující:

- C. ascendens
- C. transversum
- C. descendens
- Rektum

V horním zažívacím traktu jsme hodnotili:

- Jícen
- Tělo žaludku
- Antrum žaludku
- Duodenum

3.4.4 Modifikované Global Histology Activity Score (mGHAS)

Toto skóre hodnotí intenzitu zánětu v histologických preparátech. Oproti standardnímu GHAS neobsahuje hodnocení počtu zasažených střevních segmentů. Každá položka se počítá samostatně, výsledkem je pak součet všech uvedených kritérií. Detailní popis viz tabulka 3.4.

Tabulka 3.4 – Hodnocení histopatologických změn pomocí mGHAS

Histopatologická změna	Stupeň
Poškození epitelu	normální = 0, fokální = 1, extezivní = 2
Změny architektiky	normální = 0, mírný = 1, závažný = 2
Mononukleární buňky v lamina propria	normální = 0, mírně zvýšeno = 1, výrazně zvýšeno = 2
Neutrofilů v lamina propria	normální = 0, mírně zvýšeno = 1, výrazně zvýšeno = 2
Neutrofilů v epitelu	normální = 0, mírně zvýšeno = 1, výrazně zvýšeno = 2
Eroze nebo ulcerace	ne = 0, ano = 1
Granulomy	ne = 0, ano = 1

3.5 Stanovení biomarkerů

Albumin

ALB byl stanovován z krevního séra (odběrový systém VACUETTE, zkumavka s akcelerátorem hemokoagulace) kolorimetrickou metodou s bromkrezolovou zelení. Za normální hodnoty bylo považováno dle laboratorní příručky Fakultní nemocnice v Motole 35–50 g/l. ALB jsme v obou projektech stanovovali a hodnotili jednak před operačním výkonem, jednak v době kontrolní endoskopie.

C-reaktivní protein

Pro stanovení CRP bylo využito odběru krve a stanovením z krevního séra (odběrový systém VACUETTE, zkumavka s akcelerátorem hemokoagulace), imunoturbidimetricky, normální rozmezí 0–5 mg/l. Odebírány byly jednak vzorky před operačním výkonem, následně při ambulantní kontrole po 3 měsících a po 6 měsících při endoskopickém výkonu.

Sedimentace erytrocytů

Pro stanovení FW se využíval odběr krve do zkumavky s aditivem (citrát sodný), následně využití kalibrované sedimentační kapiláry. Vyšetření bylo prováděno přímo na ambulanci nebo oddělení. Odebírány byly jednak vzorky před operačním výkonem, následně při ambulantní kontrole po 3 měsících a po 6 měsících při endoskopickém výkonu.

Krevní obraz

Vzorky venózní krve pro krevní obraz byly odebírány do zkumavek s nesrážlivou krví s přídavkem K3EDTA a hodnoceny na automatickém analyzátoru. Odebírány byly jednak vzorky před operačním výkonem, následně při ambulantní kontrole po 3 měsících a po 6 měsících při endoskopickém výkonu.

Fekální kalprotektin

Vzorek stolice (odebírán pacientem, popř. personálem oddělení), ne starší než 24 hod, byl odeslán do externí laboratoře. Odebírány byly jednak vzorky před operačním výkonem, následně při ambulantní kontrole po 3 měsících a po 6 měsících při endoskopickém výkonu. Ke stanovení hodnot byl použit Quantum Blue[®] fCAL test, který využívá specifické monoklonální protilátky a metody lateral flow v kazetovém testu (pomocí analyzátoru lze následně změřit konkrétní hodnoty).

Kalprotektin ve střevním resekátu

Imunohistochemický průkaz CPT jsme prováděli ve všech dostupných parafinových blocích z resekčních okrajů. Řezy, tloušťky 1 μm , byly deparafinizovány a následně jsme použili protilátku proti CPT (Invitrogen, v ředění 1 : 1000). Poté byl vzorek obarven pomocí PolyDet Dab chromogenu (Dako REAL) s fyziologickým roztokem s fosfátovým pufrům. Expresi CPT jsme hodnotili pomocí počtu pozitivních buněk na zorné pole, při zvětšení 400x, a to v nejvíce postiženém regionu u každého mikroskopického vzorku. Buňky pozitivní na CPT byly zvláště počítány v lamina propria a v epitelu. Pokud byla přítomna eroze nebo ulcerace, CPT pozitivní buňky byly počítány ve tkáni sousedící s danou lézí.

3.6 Histopatologie

Kromě hodnocení biopsických vzorků pomocí mGHAS byla dále sledována přítomnost peritonitidy (floridní, chronické), submukózní plexitidy, myenterické plexitidy, přítomnost aktivního zánětu, intenzita aktivního zánětu nebo přítomnost chronického zánětu.

4. Výsledky

4.1 Projekt č. 1

Ze zařazených 21 pacientů jsme endoskopickou remisi, tedy Rutgeerts skóre < i2 6 měsíců po ICR, vyhodnotili u 13 pacientů. A to nezávisle na tom, zda byli před operací léčeni BL nebo ne.

Celková charakteristika souboru je uvedena v následující tabulce 4.1:

Tabulka 4.1 – Charakteristika souboru pacientů

	Rutgeerts < i2	Rutgeerts ≥ i2	p1	p2	p3
Počet pacientů	13	8			
Mužské pohlaví (%)	8 (62)	6 (75)	0,874	0,656	1
Věk v době dg., roky, medián (IQR)	14,8 (13,9-16,3)	14,1 (11,3-17,1)	0,75	0,75	1
Věk v době ICR, roky, medián (IQR)	16,7 (15,3-17,6)	16,9 (16,7-17,2)	0,772	0,764	1
FW v době operace, mm/h, (IQR)	23 (13-29)	39,5 (23,8-62)	0,158	0,153	0,541
ALB v době operace, g/l, (IQR)	44,7 (42,7-47,5)	42,2(38,7-44,1)	0,046	0,042	0,528
CPT v době operace, µg/g, (IQR)	1800 (1278,5-1800)	1000 (876-1375)	0,237	0,24	0,565
PCDAI v době operace (IQR)	15 (7,5-17,5)	23,8 (15,6-46,2)	0,1	0,097	0,534
Anti-TNF léčba před operací (%)	6 (46)	4 (50)	1	1	1
Dilatace střeva na MRE (%)	9 (69)	2 (25)	0,128	0,08	0,528
Akutní výkon (%)	2 (15)	4 (50)	0,227	0,146	0,541
Přítomnost perforace (%)	6 (46)	5 (50)	0,781	0,659	1
AZA, mg/kg/den, (IQR)	2 (1,6–2,1)	2 (1,5–2,3)	0,885	0,874	1
5-ASA (%)	1 (8)	1 (12)	1	1	1
Rutgeerts, i0 – i4, (IQR)	0 (0–1)	2 (2–3)	0	0	0

Legenda: 5-ASA = 5-aminosalicyláty, ALB = albumin, AZA = azathioprin, CPT = kalprotektin, dg. = diagnózy, FW = sedimentace erytrocytů, ICR = ileocékální resekce, IQR = interkvartilový rozptyl, MRE – magneticko-rezonanční enterografie, PCDAI – Pediatric Crohn's Disease Activity Index, TNF – tumor necrosis faktor

p1 = hodnoty získané z Wilcoxonova dvouvýběrového testu nebo chí kvadrátového testu

p2 = hodnoty získané z Wilcoxonova permutačního testu nebo chí kvadrátového testu nezávislosti

p3 = korekce pro mnohočetné testování u testů na podkladě permutací pro korekci falešné positivity

Prediktory endoskopického relapsu onemocnění 6 měsíců po ICR

Nižší koncentrace ALB v době ICR ($p = 0,042$) byla asociována s častějším endoskopickým relapsem (ER) v 6. měsíci po ICR, avšak při korekci na mnohočetné testování tato asociace potvrzena nebyla. CRP, počet trombocytů ani koncentrace hemoglobinu v době ICR asociována s ER nebyla.

F-CPT byl během 6 měsíčního sledování vyšetřen u 62 % pacientů. Jako cut-off pro remisi jsme stanovili 100 $\mu\text{g/g}$ (dle doporučení ESPGHAN). 10 pacientů mělo hodnotu F-CPT v souladu s nálezem při endoskopii, tedy $< 100 \mu\text{g/g}$ a Rutgeerts skóre $< i2$ nebo $> 100 \mu\text{g/g}$ a Rutgeerts skóre $\geq i2$. Jeden pacient měl F-CPT $< 100 \mu\text{g/g}$ a Rutgeerts skóre $\geq i2$, jeden pacient měl F-CPT 137 $\mu\text{g/g}$ a Rutgeerts skóre = $i2$ a 2 pacienti měli F-CPT $> 100 \mu\text{g/g}$ a Rutgeerts skóre = $i1$.

Nenašli jsme asociaci PCDAI ani dalších klinických a chirurgických charakteristik pacientů ze souboru s Rutgeerts skóre.

4.2 Projekt č. 2

Ze zařazených 48 pacientů mělo během 6 měsíců od ICR ER 52 % z nich. Charakteristika souboru je uvedena v tabulce 4.2. Hodnocení relapsu onemocnění pomocí Rutgeerts skóre vychází následovně: z celkem 25 pacientů mělo $i2$ dvanáct, $i3$ pět a $i4$ osm. Pět pacientů sice splnilo kritéria pro remisi onemocnění hodnocenou pomocí Rutgeerts skóre, ale mělo relaps onemocnění v jiné části GIT – 1 v kolon a 4 v horním GIT.

Tabulka 4.2 – Charakteristika souboru

Charakteristika	Všichni pacienti
Dívky (%)	42
Věk v době ICR	16 (15–17)
Ciprofloxacin v době ICR (%)	29
Metronidazol v době ICR (%)	38

AZA v době ICR (%)	81
IFX v době ICR (%)	38
5-ASA v době ICR (%)	15
EEN v době ICR (%)	15
KS v době ICR (%)	25
Piperacillin/Tazobactam v době ICR (%)	06
Délka resekce (cm)	22 (16.5–28.5), NA = 1
Přítomnost penetrujícího onemocnění (%)	35
Elektivní výkon (%)	62

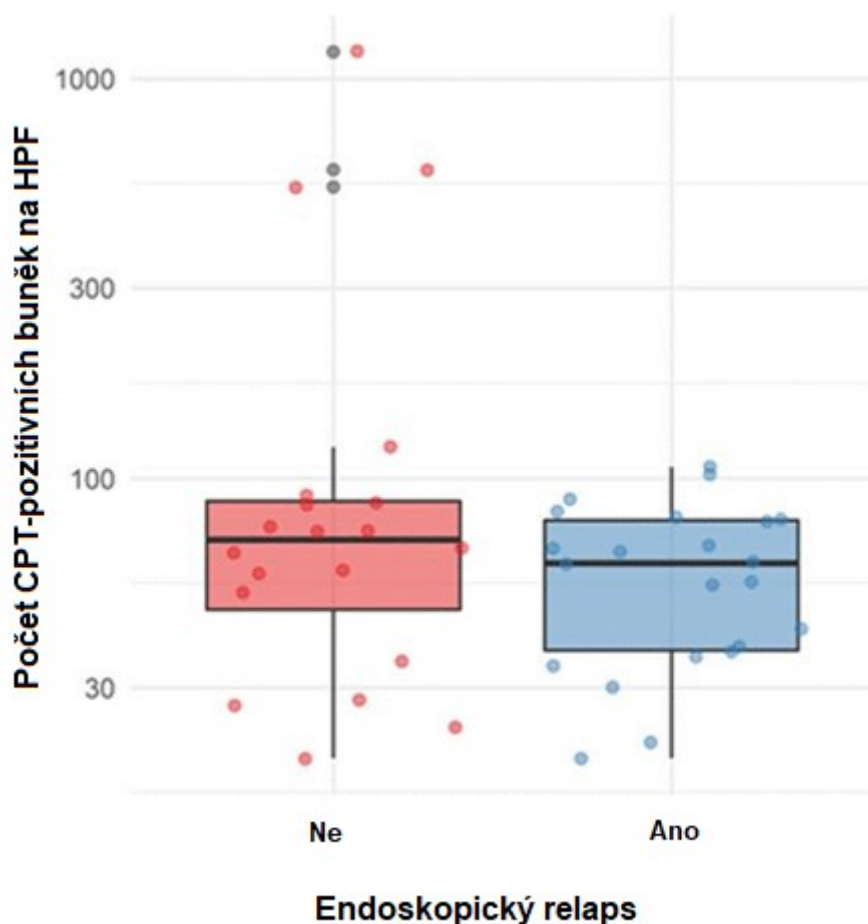
Legenda: 5-ASA = 5-aminosalicyláty, AZA = azathioprin, EEN = výlučná enterální výživa, ICR = ileocékální resekce, IFX = infliximab, KS = kortikosteroidy, NA = není k dispozici

Tkáňový kalprotektin v resekčních okrajích

Počet buněk pozitivních na CPT v proximálním resekčním okraji byl negativně asociován s nálezem ER (definovaným pomocí Rutgeerts skóre) při kontrolním vyšetření (OR = 0,969, 95% CI 0,936–0,996, $p = 0,008$), viz obrázek 4.1. Toto platí i pro celkový počet buněk v obou resekčních okrajích (OR = 0,993, 95% CI 0,972–0,9997, $p = 0,034$).

Oba nálezy byly shodné i po adjustaci na BL - pro proximální resekční okraj v hodnotách $p = 0,008$ (OR = 0,971, 95% CI 0,938–0,997) a pro oba resekční okraje $p = 0,021$ (OR = 0,993, 95% CI 0,973–0,999).

Pro distální resekční okraj jsme podobné výsledky nepotvrdili.



Legenda: HPF = zorné pole

Obrázek 4.1 – Korelace CPT-pozitivních buněk v proximálním okraji resekátu (log) a endoskopického relapsu

Klinické parametry

Nebyla nalezena asociace mezi věkem v době ICR a pohlavím pacienta s ER.

Laboratorní parametry

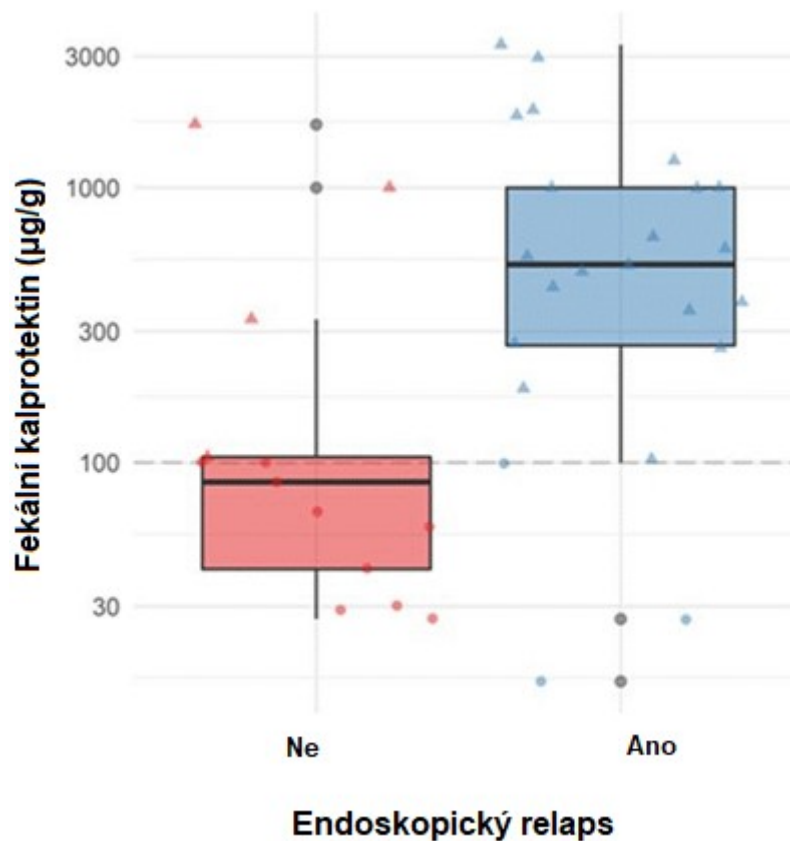
- V době operace

Dva parametry v době ICR byly hraničně asociovány s primárním sledovaným parametrem, tedy ER. Jednalo se o nižší sérový ALB (OR = 0,871, 95% CI 0,36–1,009, $p = 0,066$) a elevaci CRP (OR = 1,02, 95% CI 0,999–1,045, $p = 0,060$). Pokud adjustujeme model na pooperační BL, u nižšího sérového ALB je výsledek již statisticky signifikantní (OR = 0,851, 95% CI 0,713–0,992, $p = 0,039$), u CRP nikoli (OR = 1,02, 95% CI 0,999–1,045, $p = 0,075$). U F-CPT

v době operace (cut-off hodnota pro remisi byla stanovena na 100 $\mu\text{g/g}$), nebyla asociace nalezena, nezávisle na typu terapie.

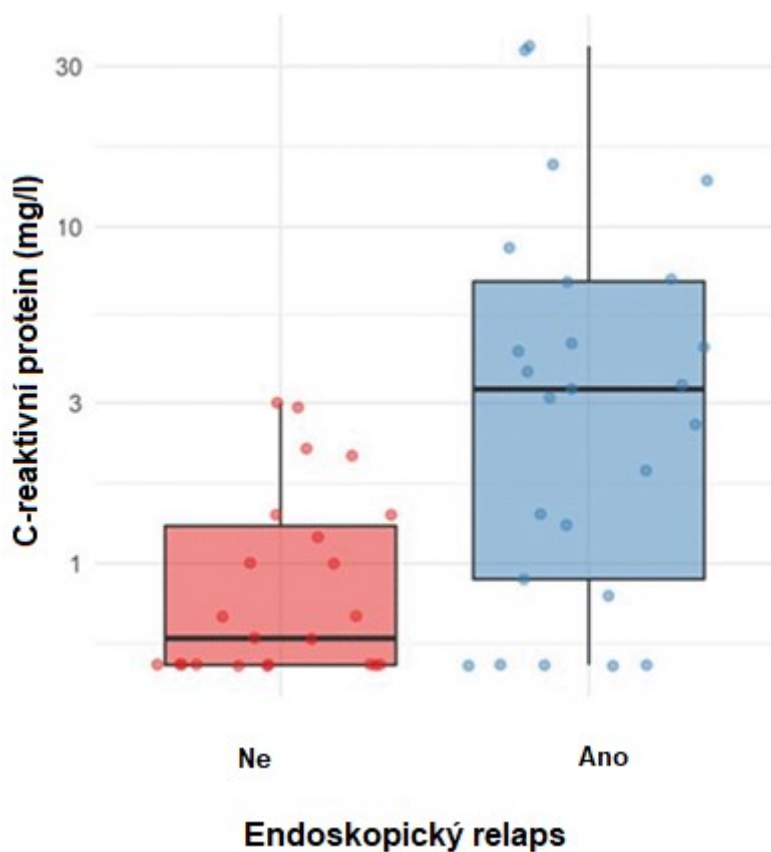
- V době kontrolní endoskopie

K vyšetření F-CPT jsme získali vzorek stolice od 75 % pacientů. Hodnoty log F-CPT byly statisticky signifikantně asociovány s přítomností ER (OR = 2,19, 95% CI 1,28–4,28, $p = 0,003$), ještě větší asociaci jsme našli při adjustaci na pooperační BL (OR = 233, 95% CI 1,37–4,79, $p = 0,002$) – obrázek 4.2. Hodnota F-CPT nad stanovený cut-off pro remisi > 100 $\mu\text{g/g}$ byla velmi silně asociována s ER (OR = 15, 95% CI 3,1–96,6, $p = 0,0005$). U tří pacientů byl ER přítomen i přes hodnoty F-CPT nižší než 100 $\mu\text{g/g}$.



Obrázek 4.2 – Asociace mezi fekálním kalprotektinem (log) a endoskopickým relapsem

CRP bylo vyšetřeno u všech zařazených pacientů. Při nálezů zvýšených hodnot CRP jsme našli asociaci s přítomností ER – $p < 0,001$ (OR = 2,21, 95% CI 1,353–4,385), stejně tak po adjustaci na pooperační BL (OR = 2,53, 95% CI 1,414–6,047) – obrázek 4.3.



Obrázek 4.3 – Asociace mezi CRP (log) a endoskopickým relapsem

Pro nižší sérový albumin jsme tuto asociaci u všech pacientů dohromady nenalezli, nicméně po adjustaci modelu na pooperační BL, byly již hodnoty statisticky signifikantní – $p = 0,011$ (OR = 0,759, 95% CI 0,5797–0,943).

Histopatologické parametry

Z hodnocených histopatologických parametrů jsme našli asociaci s endoskopickým relapsem pouze u jednoho, a to u peritonitidy (chronické nebo floridní), $p = 0,048$ (OR = 4,15, 95% CI 1,015–21,599). Po adjustaci modelu na pooperační BL se ale tato asociace stává pouze hraniční, $p = 0,052$ (OR = 4,08, 95% CI 0,988–21,390). U dalších sledovaných parametrů nebyla asociace s ER nalezena.

5. Další projekty v souvislosti s tématem IBD a dalších onemocnění gastrointestinálního traktu

V rámci tématu IBD se autorka této disertační práce účastnila jako spoluautor dalších projektů. Všechny zde uvedené práce byly publikovány v časopisech s impact faktorem (IF). V souvislosti s ICR byla jedním ze spoluautorů mezinárodního multicentrického projektu, který se věnoval efektivitě tohoto výkonu po předchozím farmakodynamickém selhání anti-TNF- α terapie. Jako člen vědecko-výzkumného týmu Pediatrické kliniky FN Motol a 2. LF UK ve spolupráci s dalšími pracovišti se účastnila studií týkajících se:

- Souvislosti aktivity IBD a výsledku Interferon- γ release assay u dětských pacientů s IBD
- Séroprevalence některých virů u dětských pacientů s IBD
- Srovnání indukční terapie u dětských pacientů s CD
- Vitaminu D u dětských pacientů s IBD
- Terapie IFX u dětských pacientů s IBD
- F-CPT jako prediktoru odpovědi na léčbu u dětských pacientů s CD
- Bezpečnosti anti-TNF- α terapie u těhotných žen s IBD
- Monitorování thiopurinových metabolitů u dětských pacientů s IBD
- Dermatologických komplikací u dětských pacientů s IBD na léčbě anti-TNF- α
- Analýzy efektivity a bezpečnosti ADA a IFX u dětských pacientů s IBD

5.1 Projekt v přímé souvislosti s tématem Crohnovy choroby a jejího chirurgického řešení

5.1.1 Léčba anti-TNF- α po chirurgické resekcí pro Crohnovu nemoc je efektivní i přes předchozí farmakodynamické selhání (Assa A. et al., 2017)

Úvod

V rámci tématu své práce jsem se zúčastnila mezinárodní studie vedené týmem z univerzity v Tel-Avivu, která byla zaměřena především na hodnocení léčby anti-TNF- α preparáty a její farmakodynamické (FD) selhání před operací a následnou léčbu stejným lékem při rekurenci

onemocnění v pooperačním období. Současně byly u pacientů hodnoceny v rámci charakteristiky souboru i biochemické parametry v před- i pooperačním období.

Metody

Studie se zúčastnilo 53 pacientů ze 7 zemí (Izrael, Česká republika, Itálie, Polsko, Finsko, Holandsko, Belgie) ve věku 6–18 let. Tito pacienti podstoupili resekci střeva (ICR, resekce ilea+kolon nebo jiný typ resekce) a bylo u nich nutno pro rekurenci onemocnění nasadit anti-TNF- α terapii.

Byly vytvořeny dvě skupiny:

1. Pacienti léčení před operací anti-TNF- α , tato terapie selhala a potřebovali chirurgickou resekci (v této skupině musely být dostupné hodnoty hladin a protilátek proti anti-TNF- α preparátu)
2. Pacienti léčení před operací jinou terapií, kteří podstoupili chirurgickou resekci (i s komplikovanou formou onemocnění)

Farmakodynamické selhání bylo definováno jako primární selhání léčby nebo sekundární ztráta odpovědi, i přes terapeutické hladiny léčiv (≥ 3 $\mu\text{g/ml}$ pro IFX a ≥ 5 $\mu\text{g/ml}$ pro ADA) a nepřítomnosti protilátek

Úspěšnost léčby anti-TNF- α byla hodnocena pomocí klinických a laboratorních parametrů v určitém časovém období a to:

- 14 týdnů po zahájení postoperativní léčby
- 1 rok po zahájení postoperativní léčby
- na konci sledovaného období

Ke zhodnocení možných prediktorů byla hodnocena před- i pooperační data demografická, klinická (vč. PGA, PCDAI), laboratorní, antropometrická, endoskopická a farmakokinetická.

Výsledky

Celkově bylo do studie zařazeno 53 pacientů, z toho 18 mělo před operací léčbu anti-TNF- α , z toho 14 pacientů dostávalo IFX (78 %), 2 pacienti ADA (11 %) a 2 pacienti oba léky (11 %). Všichni tito pacienti měli adekvátní hladiny léčiva (≥ 3 $\mu\text{g/ml}$ pro IFX a ≥ 5 $\mu\text{g/ml}$ pro ADA) a nebyly u nich detekovány protilátky. V kontrolní skupině (bez předchozí anti-TNF- α léčby)

bylo 35 pacientů, z toho 33 prodělalo operační výkon z důvodu komplikací onemocnění a 2 pacienti pro přítomnost krátkého zánětlivě postiženého úseku. Medián času do zahájení anti-TNF- α léčby byl 8 měsíců (IQR, 4–14 měsíců) a nebyl v tomto parametru zaznamenán statisticky signifikantní rozdíl mezi skupinami. 94 % pacientů (50) mělo současně také léčbu imunomodulátory.

Rok po zahájení pooperační anti-TNF- α terapie bylo v klinické remisi nadále 89 % pacientů (hodnoceno pomocí PGA), další 2 pacienti na tuto léčbu primárně neodpověděli a u 4 došlo ke ztrátě odpovědi. Poslední zmíněná skupina pacientů měla zaznamenanou přítomnost protilátek proti IFX. Klinická a laboratorní data obou skupin pacientů jsou uvedena v tabulkách 5.1- 5.3.

Tabulka 5.1 – Popis souboru v době operace

	Všichni pacienti (n = 53)	FD selhání (n = 18)	Kontroly (n = 35)	p
Dívky, n (%)	23 (43)	9 (50)	14 (40)	0,40
Rozsah, n (%)				
L1	21 (40)	6 (33)	15 (43)	0,20
L2	7 (13)	2 (11)	5 (14)	
L3	25 (47)	10 (56)	15 (43)	
Perianální forma, n (%)	9 (17)	3 (17)	6 (17)	0,95
Věk, medián (IQR)	14,8 (13,6 až 16,5)	15 (13 až 16,5)	14,4 (13,1 až 16,1)	0,17
Z-skóre váhy, medián (IQR)	-0,58 (-1,4 až 0,2)	-0,42 (-1,4 až 0,6)	-0,78 (-1,5 až -0,1)	0,32
Z-skóre výšky, medián (IQR)	-0,60 (-1,1 až 0,1)	-0,35 (-1,1 až 0,3)	-0,55 (- 1,2 až 0,2)	0,41
Z-skóre BMI, medián (IQR)	-0,55 (-1,4 až 0,2)	-0,45 (-1,5 až 0,2)	-0,75 (- 1,4 až -0,4)	0,51
PCDAI, medián (IQR)	35 (26 až 46)	46 (31 - 55)	32 (23 až 39)	0,06
PGA, n (%)				
1	3 (5)	0 (0)	3 (8)	0,15
2	12 (23)	4 (22)	8 (23)	
3	36 (68)	13 (72)	23 (66)	
Chybějící	2 (4)	1 (6)	1 (3)	
Hemoglobin g/dl, průměr \pm SD	11,5 \pm 1,4	11,4 \pm 2,0	11,6 \pm 1,5	0,42
Albumin g/dl, průměr \pm SD	3,6 \pm 0,6	3,5 \pm 0,6	3,6 \pm 0,6	0,71
FW mm/h, průměr \pm SD	45 \pm 25	46 \pm 27	43 \pm 26	0,49
CRP mg/dl, průměr \pm SD	2,8 (0,9 až 61)	2,9 (0,4 až 4,7)	2,7 (1,4 až 6,3)	0,62
Kalprotektin ug/g, medián (IQR)	943 (370 až 1691)	925 (470 až 1429)	965 (351 až 1727)	0,79
Typ resekcce				
ICR	40 (76)	13 (72)	27 (78)	0,45

Ileo-kolická	8 (15)	4 (22)	4 (11)	
jiná	5 (9)	1 (6)	4 (11)	
Chirurgická indikace				
Refrakterní onemocnění	20 (38)	18 (100)	2 (6)	<0,001
Striktura	27 (51)	0 (0)	27 (77)	
Penetrující forma	6 (11)	0 (0)	6 (17)	

Legenda: IQR = interkvartilový interval, BMI = body mass index, PCDAI = Pediatric Crohn's Disease Activity Index, PGA = Physician Global Assessment, SD = směrodatná odchylka, FW = sedimentace erytrocytů, CRP = C-reaktivní protein, ICR = ileocékální resekce, FD = farmakodynamické

Tabulka 5.2 – Popis souboru při zahájení léčby anti-TNF- α

	FD selhání (n = 18)	Kontroly (n = 35)	p
Věk, medián (IQR)	15,6 (14,3 až 17)	15,1 (14,3 až 16)	0,25
Z-skóre váhy, medián (IQR)	-0,4 (- 1,3 až 0,4)	-0,7 (-1,4 až -0,3)	0,43
Z-skóre výšky, medián (IQR)	-0,4 (-1 až 0,3)	-0,7 (-1,2 až 0,1)	0,15
Z-skóre BMI, medián (IQR)	-0,1 (-1,1 až 0,4)	-0,2 (-0,9 až 0,3)	0,56
PCDAI, medián (IQR)	12 (7 až 17)	16 (5 až 25)	0,28
PGA, n (%)			
0	0 (0)	0 (0)	0,83
1	11 (61)	24 (69)	
2	5 (28)	10 (28)	
3	1 (5,5)	0 (0)	
Chybějící	1 (5,5)	1 (3)	
Hemoglobin g/dl, průměr \pm SD	12,0 \pm 1,2	12,1 \pm 1,8	0,90
Albumin g/dl, průměr \pm SD	3,9 \pm 0,5	3,9 \pm 0,6	0,78
FW mm/h, průměr \pm SD	34 \pm 23	27 \pm 22	0,28
CRP mg/dl, průměr \pm SD	0,9 (0,5 až 1,4)	1,6 (0,3 až 2,2)	0,19
Kalprotektin ug/g, medián (IQR)	621 (220 až 1510)	573 (289 až 769)	0,67

Legenda: BMI = body mass index, CRP = C-reaktivní protein, FD = farmakodynamické, FW = sedimentace erytrocytů, IQR = interkvartilový interval, PCDAI = Pediatric Crohn's Disease Activity Index, PGA = Physician Global Assessment, SD = směrodatná odchylka

Tabulka 5.3 – Popis souboru při kontrole ve 12 měsících

	FD selhání (n = 18)	Kontroly (n = 35)	p
Věk, medián (IQR)	16,6 (16 až 18,6)	16,1 (15,2 až 17,3)	0,23
Z-skóre váhy, medián (IQR)	0,3 (-0,9 až 1,0)	-0,1 (-0,6 až 0,3)	0,29
Z-skóre výšky, medián (IQR)	0 (-0,5 až 0,6)	0 (-0,6 až 0,4)	0,42
Z-skóre BMI, medián (IQR)	0,4 (-0,3 až 0,8)	0 (-0,6 až 0,6)	0,45
PCDAI, medián (IQR)	0	0	0,18
PGA, n (%)			
0	16 (89)	31 (88,5)	0,90
1	2 (11)	4 (11,5)	
2	0 (0)	0 (0)	
3	0 (0)	0 (0)	
Chybějící	0 (0)	0 (0)	
Hemoglobin g/dl, průměr ± SD	13,3 ± 1,4	13,1 ± 1,9	0,71
Albumin g/dl, průměr ± SD	4,4 ± 0,4	4,3 ± 0,4	0,89
FW mm/h, průměr ± SD	7 ± 3	13 ± 7	0,1
CRP mg/dl, průměr ± SD	0,1 (0,1 až 0,3)	0,1 (0,1 až 0,5)	0,41
Kalprotektin ug/g, medián (IQR)	112 (58 až 146)	172 (42 až 661)	0,29

Legenda: BMI = body mass index, CRP = C-reaktivní protein, FD = farmakodynamické, FW = sedimentace erytrocytů, IQR = interkvartilový interval, PCDAI = Pediatric Crohn's Disease Activity Index, PGA = Physician Global Assessment, SD = směrodatná odchylka

Závěr

Tato studie prokázala využitelnost léčby anti-TNF- α u dětských pacientů s CD, i přes předchozí selhání stejné terapie podávané před operací. Tyto výsledky by mohly podporovat teorii o extrémní produkci TNF- α v zánětlivě změněné tkáni, která může vést k selhání anti-TNF- α terapie v neutralizaci lokální produkce tohoto faktoru. U těchto pacientů by mohlo časně chirurgické řešení s odstraněním postiženého úseku, zlepšit odpověď na další léčbu.

5.2 Další projekty v souvislosti s IBD u dětí

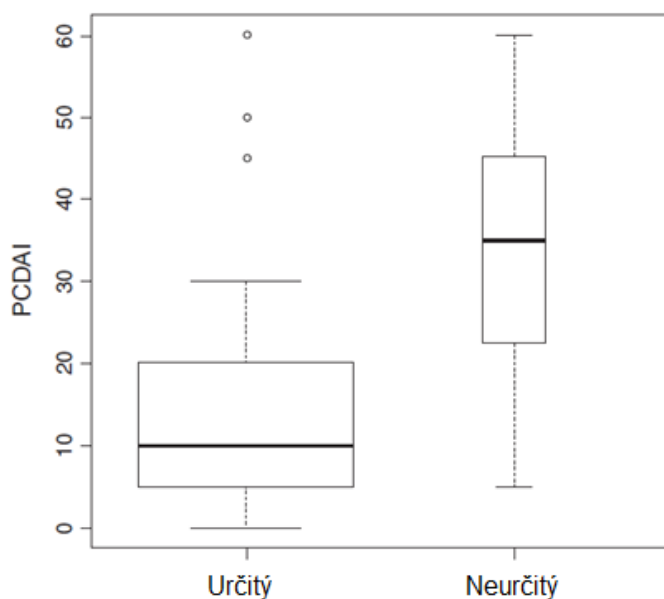
5.2.1 Aktivita onemocnění u dětí s IBD je důležitým faktorem pro „neurčitý“ výsledek Interferon- γ release assay (Hradský O. et al, 2014)

Shrnutí

Článek se zabývá identifikací faktorů, které mohou ovlivňovat výsledek Interferon- γ release assay (IGRA). Tento test se využívá pro screening latentní tuberkulózy (TB) před a během BL podávané dětem s IBD. Neurčitý výsledek představovat problém v managementu IBD a způsobit i odklad zahájení terapie. Studií, které by se zabývaly faktory, jež mají vliv na výsledek tohoto testu, je velmi málo.

Do studie bylo zařazeno 72 dětí s IBD (59 s CD, 11 s UC a 2 s IBDU), které byly indikovány k BL a musely tedy být otestovány na přítomnost latentní TB infekce [anamnéza, kožní test s tuberkulinem, RTG hrudníku a IGRA, konkrétně QuantiFERON – TB Gold (QTF)]. Test QTF byl opakován v ročních intervalech.

Zaznamenali jsme 165 výsledků, z toho bylo 3 % pozitivních, 87 % negativních a 10 % neurčitých. Během sledování došlo u 4 pacientů ke konverzi negativního QTF na pozitivní a u 4 pacientů k reverzi. U pacientů s neurčitým výsledkem jsme zaznamenali nižší aktuální Z-skóre váhy k výšce ($p = 0,022$), vyšší počet krevních destiček ($p = 0,00017$) a nižší hladiny sérového ALB ($p = 0,015$) ve srovnání s pacienty s pozitivním či negativním výsledkem. Současně byl také neurčitý výsledek asociován s aktivitou onemocnění u pacientů s CD popsanou PCDAI ($p = 0,000043$) (obrázek 5.1), u UC takováto asociace nalezena nebyla. Pokud využijeme k testování lineární smíšený model, nalezneme asociaci s léčbou KS ($p = 0,00028$), léčbou anti-TNF- α ($p = 0,038$) a aktivitou onemocnění (PCDAI/PUCAI > 10) ($p = 0,014$). U imunomodulátorů asociace nalezena nebyla. PCDAI bylo v subanalýze pacientů s CD po adjustaci na prediktory jediným nezávislým faktorem rizika neurčitého výsledku ($p = 0,00037$). Z výsledků se tedy zdá, že ačkoli jsou KS považovány za nejvíce rizikový faktor pro neurčitý výsledek, aktivita onemocnění hraje také významnou roli a nemělo by být zapomináno i na možný podíl malnutrice.



Legenda: PCDAI = Pediatric Crohn's Disease Activity Index

Obrázek 5.1 – Rozdíl v aktivitě onemocnění u pacientů s CD s určitým (pozitivním nebo negativním) výsledkem IGRA a u pacientů s neurčitým výsledkem

5.2.2 Séroprevalence viru Epstein-Barrové, cytomegaloviru a polyomavirů u dětí s IBD (Hradský O. et al., 2015)

Shrnutí

Článek se zabývá zjišťováním prevalence séropozitivity viru Epstein-Barrové (EBV), cytomegaloviru (CMV) u dětských pacientů s IBD, zjištěním virové nálože u těchto virů a navíc u BK a JC polyomavirů a souvislost těchto výsledků s terapeutickými režimy.

Imunosupresivní terapie je obecně asociována s vyšším rizikem infekčních a nádorových komplikací jako jsou např. lymfoproliferativní onemocnění. EBV hraje významnou roli u vzniku některých typů těchto chorob. Rizikovými faktory, které zjistily některé studie, jsou konkrétně léčba AZA, mužské pohlaví a věk pod 35 let. U CMV data u dětí zcela chybí, u dospělých byla zachycena reaktivace viru při léčbě IFX. Nedostatek dat u dětské populace platí i pro JC a BK virus.

Do studie bylo zařazeno 106 dětí (68 % s CD, 29 % s UC a 3 % IBDU). Pacienti byli na různé léčbě, které zahrnovala 5-ASA, KS, AZA a IFX (či jejich kombinaci). U všech pacientů byly testovány protilátky proti EBV proteinům (VCA IgM a IgG, EA IgG a EBNA IgG) a proti CMV (anti-CMV IgM a IgG). Jakákoli přítomnost některé z protilátek byla hodnocena jako

séropozitivita. Ze vzorku plné krve byla následně extrahována DNA (pomocí Qiagen, Valencia, CA). A virová nálož byla ověřována pomocí PCR technologie.

EBV

Z celkově 106 pacientů bylo EBV séropozitivních 68, se stoupajícím počtem pozitivních pacientů ve vyšší věkové kategorii – 41 % ve věkové kategorii pod 10 let vs. 81 % ve věkové kategorii 15–19 let (obrázek 5.2). Při využití modelu mnohočetné statistické regrese (s adjustací na pohlaví, věk a závažnost onemocnění pomocí PCDAI), byla tato séropozitivita asociovaná s léčbou AZA ($p = 0,005$). Pouze 15 pacientů mělo detekovatelné kopie DNA EBV, nebyla zachycena žádná asociace mezi léčebnými režimy a virovou náloží.

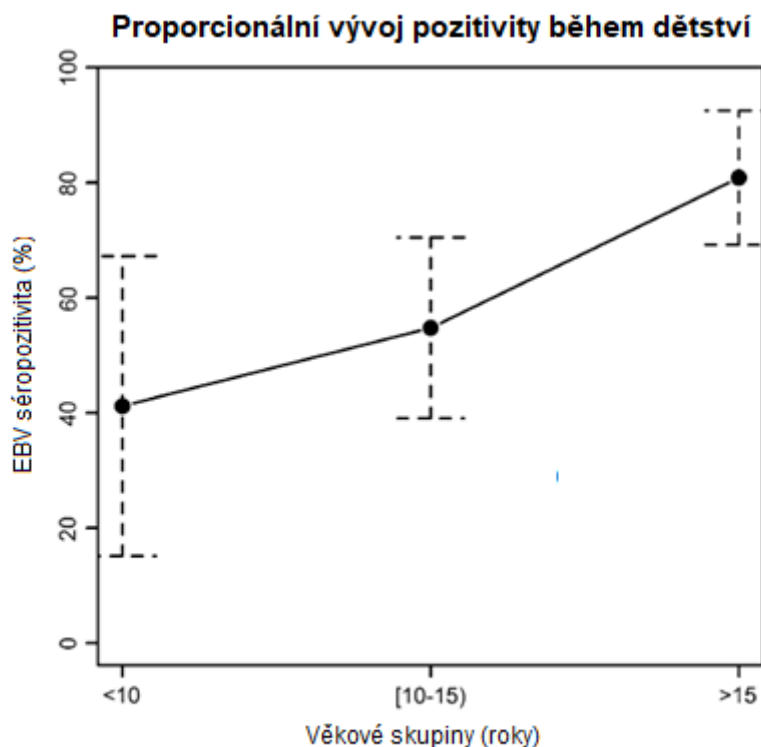
CMV

Séropozitivních pacientů pro CMV bylo zachyceno – 38 % ve skupině pod 10 let, 26 % ve skupině 10–15 let a 22 % ve skupině 16–19 let. Nenašli jsme asociaci mezi věkem nebo léčebnými režimy u těchto pacientů. Nikdo z nich současně neměl detekovatelnou DNA CMV ve vzorku krve.

BK a JC viry

Pro JC virus byly PCR testy u všech pacientů negativní, u BK viru jsme zachytili 3 pacienty ve věku 14,5–18 let. Všichni tito pacienti měli CD a byli léčeni kombinací IFX a AZA. Další asociace pro malý vzorek pozitivních pacientů testovány nebyly.

Dle doporučení ECCO by léčba thiopuriny neměla probíhat u EBV-séronegativních mužů pod 35 let. Dat o séroprevalenci u dětské populace je velmi málo. V naší studii jsme prokázali stoupající výskyt séropozitivity EBV s věkem dítěte a souvislost s léčbou AZA. Je potřeba dalších studií, zejména k ozřejmění souvislosti EBV asociovaných lymfoproliferativních onemocnění a těchto výsledků.



Legenda: EBV = virus Epstein-Barrové

Obrázek 5.2 – Prevalence séropozitivity EBV ve věkových skupinách

5.2.3 Porovnání délky trvání remise u dětí s Crohnovou chorobou na terapii azathioprinem a enterální výživou nebo kortikoidy (Hradský O. et al., 2016)

Shrnutí

Cílem retrospektivní studie bylo porovnat délku trvání remise u dvou skupin pacientů s rozdílnou indukční terapií – EEN a KS, při současné léčbě imunomodulátorem (AZA, 6-MP). Druhým cílem bylo stanovení možných prediktorů relapsu onemocnění.

Efektivita EEN jako indukční léčby u nově diagnostikované CD byla jasně prokázána, a proto postupně téměř nahradila KS jako léčbu první volby.

Bylo identifikováno 127 pacientů, kteří byli nově diagnostikováni s CD mezi lety 2008 a 2012 z dat uložených v nemocničním informačním systému. Vstupní kritéria zahrnovala věk pod 18 let, dosažení remise buď EEN nebo KS do 12 týdnů od diagnózy, stanovenou diagnózu dle RPC nebo PC, zahájení léčby AZA během prvních týdnů od diagnózy a podpis informovaného

souhlasu. Tato kritéria splnilo 76 pacientů, 11 bylo vyloučeno pro PCD/intoleranci AZA/chybějící data.

V 6. a 12. týdnu byl stav hodnocen pomocí PGA a retrospektivně bylo dopočítáno PCDAI. Relaps byl definován jako zvýšení aktivity onemocnění natolik, že bylo potřeba terapii upravit (nasazení KS/EEN, anti-TNF- α terapie, chirurgické řešení). Hodnotili jsme klinické, laboratorní a antropometrické parametry a současně také dávku AZA (mg/kg/den). F-CPT byl analyzován z důvodu chybějících dat pouze u skupiny léčené EEN.

Výsledky jsou shrnuté v následující tabulce 5.4:

Tabulka 5.4 – Výsledky studie

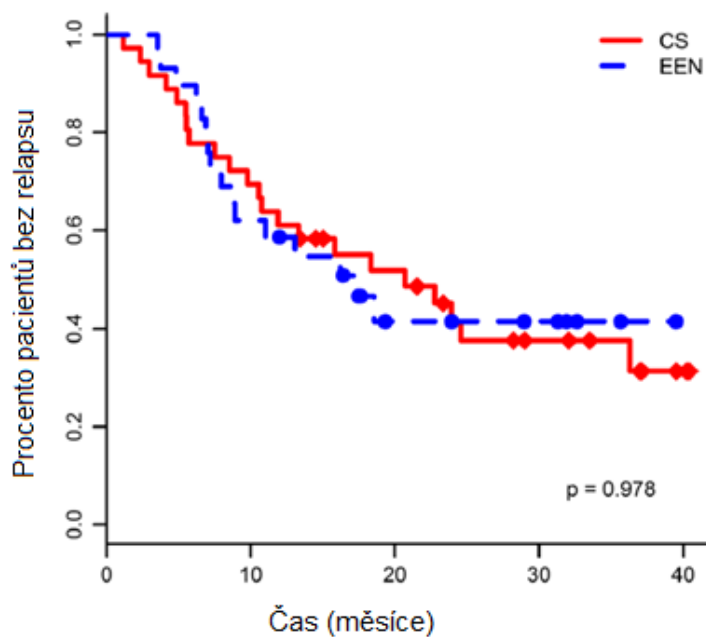
		Celkem	EEN	KS	p
PCDAI	D	30 (25–37,5)	35 (27,5–37,5)	30 (21,88–35,62)	0,267
	R	10 (7,5–12,5)	10 (10–12,5)	10 (6,88–10,62)	0,580
CRP (mg/l)	D	19 (9,3–40,4)	19 (10,5–57)	17,85 (5,4–36,35)	0,298
	R	2,3 (0,9–6,1)	2,3 (0,9–5,6)	2,65 (0,38–6,12)	0,338
FW (mm/h)	D	32 (24–49)	33 (25–52)	30,5 (22,75–43,5)	0,603
	R	15 (8–21)	20 (15–30)	10 (5,75–15,5)	<0,001
PLT (x 10⁹/l)*	D	486 (408–597)	487 (442–628)	480,5 (406–587,25)	0,410
	R	405 (313–476)	375 (291–450)	434 (351,25–490,25)	0,086
HGB (g/dl)	D	11,5 (10,7–12,3)	11,5 (10,7–12,2)	11,55 (10,7–12,33)	0,503
	R	12,3 (11,6–13,1)	12,2 (11,6–12,8)	12,5 (11,52–13,43)	0,273
Albumin (g/l)	D	40,5 (38,2–43)	41,6 (39,1–43,2)	40,25 (38,1–42,92)	0,933
	R	44,9 (42,9–46,4)	45 (43,8–46,4)	44,2 (42,6–46,3)	0,622
SD Z skóre pro výšku^x	D	-0,79 (-1,64–0,04)	-0,98 (-1,57–0,48)	-0,47 (-1,81–0,31)	0,094
	R	-0,85 (-1,72–0,03)	-0,97 (-1,72–0,4)	-0,54 (-1,62–0,24)	0,142
SD Z skóre pro váhu	D	-1,12 (-1,74–0,42)	-1,12 (-1,8–0,2)	-1,12 (-1,74–0,55)	0,725
	R	-0,5 (-1,22–0,32)	-0,69 (-1,22–0,09)	-0,35 (-1,13–0,33)	0,360
AZA (mg/kg/den)	D	1,42 (1,2–1,63)	1,49 (1,31–1,7)	1,31 (1,04–1,6)	0,008
	R	1,7 (1,43–1,98)	1,92 (1,51–2,04)	1,62 (1,34–1,77)	0,117

Hodnoty jsou uváděny jako mediány (IQR)

Legenda: AZA = azathioprin, CRP = C-reaktivní protein, D = diagnóza, EEN = výlučná enterální výživa, FW = sedimentace erytrocytů, HGB = hemoglobin, KS = kortikosteroidy, PCDAI = Pediatric Crohn's disease activity index, PLT = trombocyty, R = remise, SD = směrodatná odchylka

Dle našich výsledků, neměl nastavený léčebný režim indukční terapie na délku trvání remise vliv ($p = 0,978$) (obrázek 5.3). A to ani po adjustaci na prediktory, které by mohly tvořit mezi oběma skupinami rozdíl. Ani porovnání prediktorů v regresním modelu, nenalezlo žádnou asociaci.

Při hodnocení jednotlivých sledovaných parametrů se jako nezávislé prediktory ukázaly – nižší věk v době diagnózy, nižší Z skóre výšky v době diagnózy, postižení horního zažívacího traktu (L4) a zvýšení trombocytů nad $440 \times 10^9/l$.



Legenda: CS = kortikosteroidy, EEN = výlučná enterální výživa

Obrázek 5.3 – Porovnání léčby kortikosteroidy a EEN a proporce pacientů bez relapsu onemocnění

5.2.4 Substitute 2000 IU cholekalciferolu u dětí s IBD je asociována se zlepšením trabekulární minerální kostní density a svalové síly (Hradský O. et al., 2017)

Shrnutí

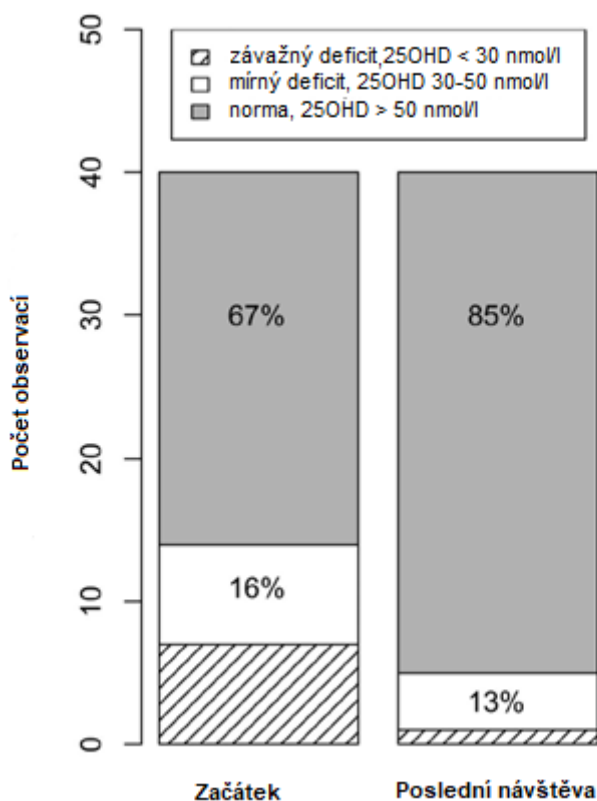
Cílem této práce bylo zhodnotit změny na kostech pomocí periferního kvantitativního CT (pQCT) a dynamických svalových funkcí pomocí mechanografie u pediatrických pacientů poté, co 12 měsíců užívali 2000 IU cholekalciferolu denně. Sekundárním cílem bylo hodnocení změn hladiny 25-OHD a případné nalezení prediktorů k určení pacientů, kteří by byli vhodní k substituci tohoto vitamínu.

IBD je asociováno se změnami kostí a zvýšeným rizikem fraktur. Deficit vitamínu D je u pacientů IBD je častý, některé studie popsaly obecně nižší vitamin D v porovnání se zdravou populací.

Do studie bylo zařazeno 70 pacientů ve věku 5–19 let, kteří byli diagnostikováni dle RPC nebo PC a měli zájem se studie zúčastnit. Retrospektivně byla zjištěna základní anamnestická data, vč. Montrealské klasifikace při diagnóze. Na počátku studie byl proveden krevní odběr a analýza kostních parametrů a svalových funkcí. Toto bylo provedeno také mezi 12–24 měsíci užívání substitute vitamínu D (medián 13,8). Pacienti měli klinickou kontrolu každé 2–3 měsíce.

U pacientů bylo hodnoceno – PUCAI/PCDAI, FW, CRP, ALB, parathormon, kalcium v séru, 25-OHD, krevní obraz. Z antropometrických parametrů byla zaznamenávána výška, váha a BMI. Analýza kostní hmoty z nedominantní tibie byla provedena pomocí pQCT a hodnocení dynamické svalové funkce pomocí mechanografie.

Během sledování jsme z měřených hladin vitamínu D zachytili asociaci mezi substitucí a těmito hladinami v lineárním smíšeném modelu ($p < 0,001$). Po substituci mělo 76 % pacientů 25-OHD nad 50 nmol/l a 98 % nad 30 nmol/l. Porovnání zastoupení v jednotlivých skupinách dle hladin 25-OHD je popsáno na obrázku 5.4.



Obrázek 5.4 – Procentuální zastoupení pacientů a jejich hladin 25-OHD na počátku sledování a po substituci

Při hodnocení kostních parametrů jsme zaznamenali jejich zlepšení při poslední kontrole a to pro Z skóre trabekulární kostní minerální denzity, CSA kortikální kosti a kortikální tloušťku ($p < 0,001$). Při měření svalových funkcí jsme signifikantní změnu zaznamenali u maximální svalové síly a maximální svalové síly adjustované na tělesnou hmotu ($p < 0,001$, resp. $p = 0,002$)

Neprokázali jsme žádný dostatečně silný prediktor, na jehož základě by se dali identifikovat pacienti, pro které by byla substituce vitamínem D vhodná, nicméně na základě výsledků považujeme za vhodné toto zvážit u všech dětských pacientů s IBD.

5.2.5 Zhodnocení terapie infliximabem u dětí s Crohnovou chorobou pomocí prediktorů jeho hladin (Ohem J. et al., 2018)

Shrnutí

Cílem této studie bylo zhodnotit význam měření hladin a protilátek proti IFX u dětských pacientů s IBD.

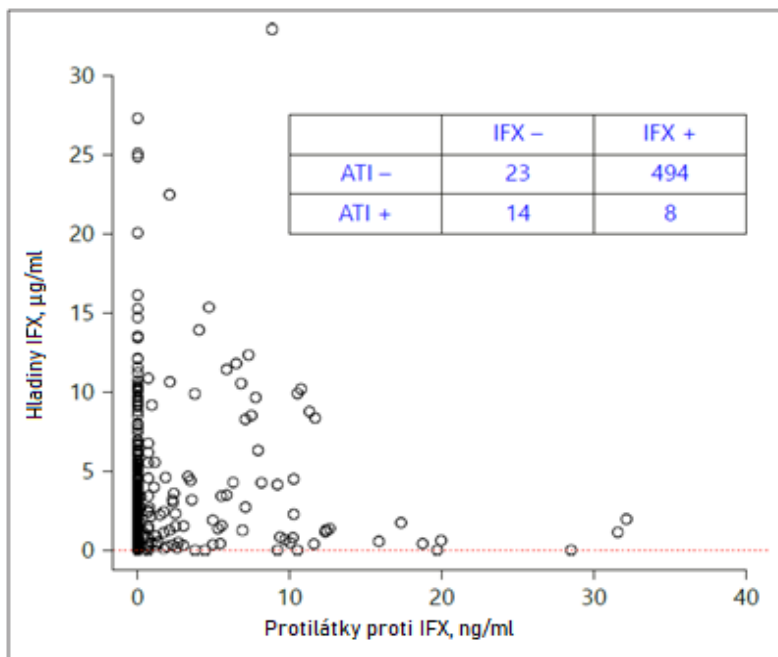
U dospělých je ověřena souvislost mezi hladinou IFX a aktivitou onemocnění a přítomnost protilátek proti IFX predikuje selhání terapie. IFX byl jako první lék biologické terapie schválen u dětí. Je považován za bezpečný a účinný jak v indukční, tak udržovací léčbě.

Do této prospektivní observační studie bylo zařazeno 65 pacientů s CD na udržovací léčbě IFX. Od těchto pacientů byly opakovaně získávány vzorky krve, stolice a probíhalo také zaznamenávání klinických dat. Vstupní kritéria byl věk pod 18 let, diagnóza dle PC nebo dle RPC, udržovací léčba IFX (i pacienti na intenzifikovaném režimu). Laboratorní remise byla definována jako $CRP \leq 5$ mg/l, pro hodnocení prediktivní role hladin a protilátek proti IFX byla remise definována i pro $FW \leq 20$ mm/hod a $F-CPT \leq 100$ μ g/g. Pozitivita protilátek byla definována jako > 30 ng/ml.

Bylo zjištěno, že nižší hladiny IFX jsou asociovány s přítomností protilátek proti IFX (OR 0,027, 95% CI 0,009–0,077) (obrázek 5.5). U pacientů, kteří měli nižší hladiny, bylo zachyceno vyšší CRP, FW i F-CPT. Pokud bychom využili jako marker aktivity onemocnění hladinu IFX $\geq 1,1$ μ g/ml a $CRP \leq 5$ mg/l, dosáhneme 50 % senzitivity a 74 % specificity. Při využití F-CPT (≤ 100 μ g/g) dosáhneme stejného výsledku u hladin IFX 3,5 μ g/ml. Asociace mezi přítomností protilátek a definovanými parametry remise nalezena nebyla.

Nezávisle na definovaných remisích byla nalezena asociace nižších koncentrací sérového ALB a hladin protilátek proti IFX (OR 1.364, 95% CI 1.169–1.593), $p < 0.001$).

Na základě těchto výsledků lze říci, že u dětských pacientů, stejně jako u dospělých, existuje asociace mezi hladinami IFX a přítomností protilátek proti němu. Současně existuje také asociace mezi hladinou IFX a aktivitou onemocnění.



Legenda: ATI = protilátky proti infliximabu, IFX = infliximab

Obrázek 5.5 – Vztah mezi hladinami IFX a přítomností protilátek proti IFX

5.2.6 Fekální kalprotektin není u dětí s Crohnovou nemocí vhodným markerem k predikci časné špatné odpovědi na exkluzivní enterální výživu (Čopová I. et al., 2018)

Shrnutí

Cílem této studie bylo zhodnotit, zda je možné využít hodnoty F-CPT v době diagnózy a 2 týdny po nasazení terapie EEN k predikci odpovědi na léčbu v 6 týdnech od jejího zahájení.

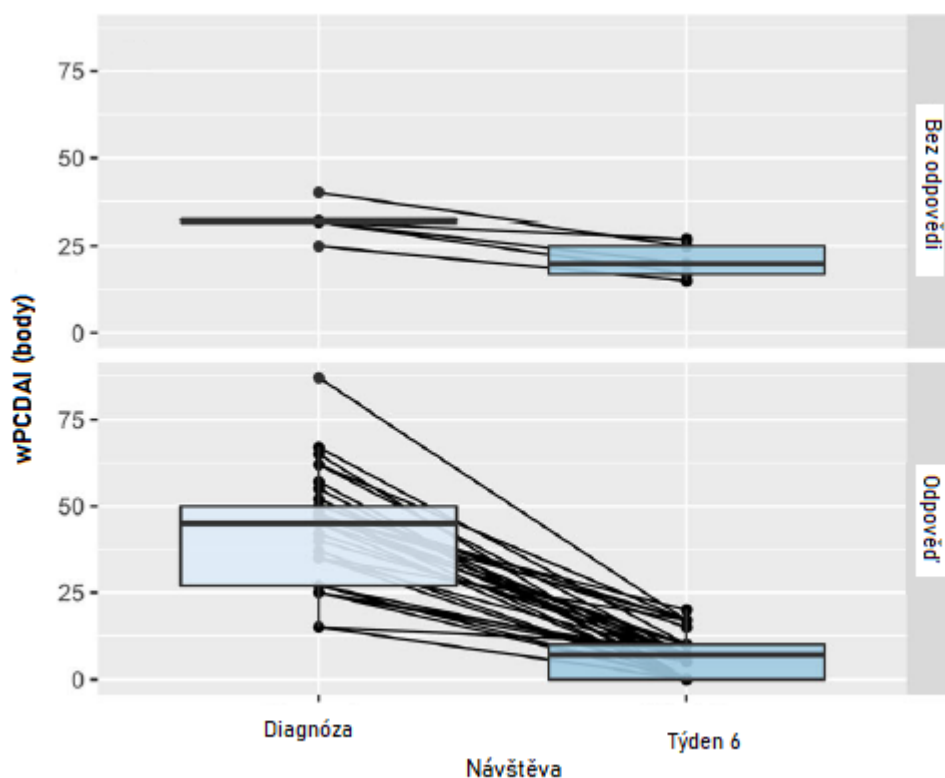
Výlučná enterální výživa je metodou první volby v léčbě lumenální formy CD. Je účinným prostředkem k dosažení klinické remise, stejně jako KS, a oproti nim má výrazně lepší slizniční hojení. Současně také zlepšuje nutriční stav pacienta.

V této prospektivní observační studii byly odebírány vzorky stolice ve výše zmíněných týdnech od pacientů u nově diagnostikovaných pacientů mezi lety 2015 a 2017. Všichni pacienti současně dostávali udržovací léčbu AZA. Do studie nebyli zahrnuti pacienti s aktivní PCD nebo ti, kteří byli dříve léčeni KS nebo anti-TNF- α . K hodnocení klinické remise byl použit index wPCDAI. Klinická remise byla definována jako wPCDAI < 12,5, k dalšímu hodnocení remise bylo využito CRP (< 5 mg/l) a F-CPT (< 150 μ g/g). Jako odpověď na léčbu stav, kdy bylo

wPCDAI v 6. týdnu léčby menší nebo rovno 12,5 anebo došlo k poklesu wPCDAI o 17,5. Do studie bylo zahrnuto 38 pacientů.

Na počátku léčby bylo u 19 pacientů onemocnění vyhodnoceno jako mírná forma, u 13 jako středně závažná forma a u 6 jako těžká forma. 87 % pacientů na léčbu odpovědělo a 68 % dosáhlo v 6. týdnu léčby klinické remise.

V 6. týdnu léčby měla většina pacientů hodnoty F-CPT nad 300 $\mu\text{g/g}$, pouze 4 splnili podmínku hodnoty pod 150 $\mu\text{g/g}$. Hodnoty F-CPT ve druhém týdnu léčby nepredikovaly odpověď na léčbu v týdnu 6 (OR 0,9996013, 95% CI 0,9988623–1,000162, $p = 0,18$). Tyto hodnoty ale byly schopné predikovat ty pacienty, kteří nedosáhli klinické remise v 6. týdnu léčby (OR 0,9993066, 95% CI 0,9985436–0,9998284, $p = 0,006$) (obrázek 5.6)



Legenda: wPCDAI = Weighted Pediatric Crohn Disease Activity Index

Obrázek 5.6 – Vývoj aktivity onemocnění od zahájení léčby do kontroly v 6. týdnu od jejího zahájení

Závěrem lze tedy zhodnotit, že F-CPT samostatně není vhodným prediktorem pro hodnocení odpovědi na léčbu na konci intervalu určeného pro indukci remise, a to zřejmě kvůli jeho pomalejšímu poklesu.

5.2.7 Bezpečnost terapie anti-TNF- α během těhotenství z hlediska dlouhodobých důsledků pro exponované děti: Multicentrická, kontrolovaná observační studie (Đuricová D. et al., 2019)

Shrnutí

Cílem studie bylo ověřit možný dlouhodobý vliv anti-TNF- α terapie u těhotných žen s IBD na vývoj jejich dětí. Primárně se zaměřením na hodnocení imunitního systému (infekce, alergie, odpověď na vakcinaci).

Do studie byly zařazeny děti ve věku minimálně 1 rok, které byly in utero vystaveny anti-TNF- α terapii matky. Jako kontrolní skupina byly zvoleny stejně staré děti bez této expozice, které navštěvovaly PLDD v rámci preventivních prohlídek. Mezi sledovaná data patřily perinatální informace, kojení, růst a psychomotorický vývoj dítěte, očkování, výskyt infekcí (pouze při léčbě ATB či nutnosti hospitalizace) a případný rozvoj alergie. Současně byly také zaznamenány informace o matce – diagnóza, typ anti-TNF- α , konkomitantní terapie. Z laboratorních parametrů byla hodnocena koncentrace anti-TNF- α léčiva v pupečnickové krvi a u dětí byl odebírán také vzorek krve při kontrole. V tomto vzorku se vyšetřoval krevní obraz s diferenciálním rozpočtem, hladiny sérových imunoglobulinů (IgA, IgG, IgM) a odpověď na vakcinaci (živé a neživé vakcíny).

Celkem se studie zúčastnilo 72 dětí exponovaných anti-TNF- α in utero a 69 zdravých dětí bez této expozice. Z hodnocení perinatálních dat vyplývá, že expozice in utero byla asociována s nižší porodní hmotností (3120 vs 3400 g, $p = 0,001$), častějším porodem císařským řezem (66,7 % vs 15,9 %, $p < 0,001$) a také byly tyto děti kratší dobu kojeny (5 vs 11 měsíců, $p = 0,001$).

U exponovaných dětí nebyl během prvního roku života vyšší výskyt infekčních komplikací, které by vyžadovaly antibiotickou léčbu nebo hospitalizaci, toto platilo i během celé doby sledování. Výskyt alergií byl u obou skupin téměř shodný (29,2 % vs 29 % dětí), nejčastějším projevem byla atopická dermatitida. Vakcinaci dle očkovacího kalendáře podstoupily všechny děti z kontrolní skupiny a 64 exponovaných dětí. U těch byla častěji pozorována reakce po očkování, nicméně toto může být zkresleno subjektivním hodnocením pediatrem či matkou dítěte (23,9 % vs. 11,6 %). Přibližně kolem 3. roku věku byla u exponovaných dětí hodnocena sérologická odpověď na očkování (u 49 na neživé vakcíny a u 37 na živé vakcíny). Více než 95 % mělo adekvátní odpověď, kromě proti dvěma onemocněním (HiB a příušnice). U kontrol bylo vyšetřeno pouze 16 dětí, a to později, ve věku přibližně 6,5 roku. Pro příušnice byl nalezen také nižší titr protilátek, u HiB bylo vyšetřeno méně než 90 % vzorků a protektivní hranice dosáhlo pouze 12,5 % z nich.

Mezi růstovými parametry a hodnocením psychomotorického vývoje nebyl pozorován rozdíl mezi oběma skupinami.

Závěrem lze tedy říci, že děti matek s IBD, které byly léčeny anti-TNF- α v těhotenství, nemají vyšší riziko rozvoje alergií, infekčních komplikací a poruch růstu či vývoje, oproti kontrolní skupině dětí zdravých matek bez IBD či léčby anti-TNF- α preparáty. Pro potvrzení vlivu na perinatální parametry jsou potřeba další studie.

5.2.8 Využitelnost monitorování thiopurinových metabolitů u dětských pacientů s Crohnovou chorobou na kombinované terapii (Pospíšilová K. et al., 2021)

Shrnutí

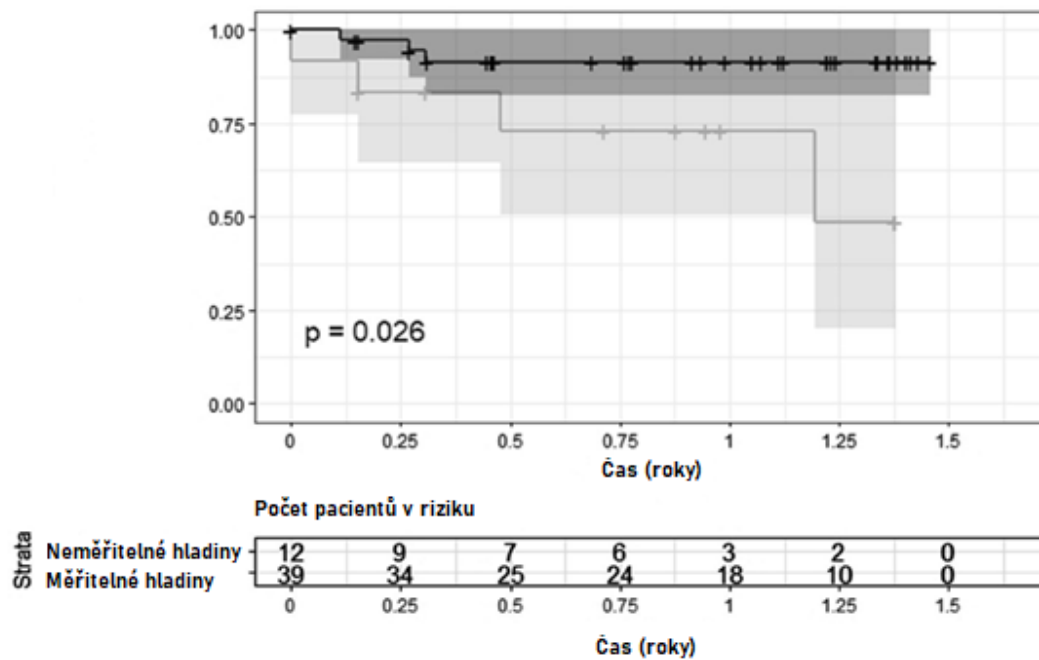
Cílem práce bylo zhodnotit vztah mezi hladinami thiopurinových metabolitů a hladinou IFX, přítomností protilátek proti IFX a compliance s touto léčbou u dětských pacientů s CD.

U dospělých pacientů je prokázána souvislost mezi konkomitantní terapií AZA, nižšími hladinami protilátek proti IFX a vyšší hladinou samotného IFX. U dětí tato data zatím chybí. Aktivními metabolity AZA jsou 6-thioguanin nukleotidy (6-TGN), efektivní hodnoty v kombinované terapii jsou u dospělých stanoveny na $> 125 \text{ pmol/ } 8 \times 10^8$, pro monoterapii jsou vyšší, $> 230 \text{ pmol/ } 8 \times 10^8$. U dětí se předpokládá podobný vztah těchto hodnot.

Do studie bylo zařazeno 63 pacientů s CD, kteří byli léčeni kombinovanou terapií AZA+IFX po minimální dobu 3 měsíců. Prospektivně byla odebírána při každé kontrole anamnestická data a laboratorní vzorky. Klinický stav byl hodnocen pomocí wPCDAI, kromě sledovaných hladin 6-TGN a IFX a protilátek proti IFX, se vyšetřoval počet leukocytů a krevních destiček, CRP, FW a F-CPT.

Mezi hladinami IFX a 6-TGN v erytrocytech byla nalezena signifikantní asociace při použití cut-off hodnoty $230 \text{ pmol/ } 8 \times 10^8$ ($p = 0,046$), u hodnoty $125 \text{ pmol/ } 8 \times 10^8$ tato asociace nalezena nebyla. U protilátek proti IFX nebyl výsledek signifikantní ani pro jednu hodnotu cut-off. Jako další outcome byla sledována možná ztráta odpovědi na léčbu (LOR) IFX, a to u podskupiny 54 pacientů, tyto pacienti byli rozděleni do dvou skupin. První skupina měla hladiny 6-TGN pod sledovaný limit a druhá v tomto limitu. Sedm pacientů potřebovalo zásadní změnu terapie, tedy splnilo kritéria pro LOR. Signifikantně vyšší počet pacientů byl ve skupině „nedetekovatelných“ hladin 6-TGN ($p = 0,026$) (obrázek 5.7). Nebyla nalezena asociace mezi hladinami CRP, FW, F-CPT, wPCDAI a 6-TGN. Při hodnocení compliance pacientů bylo vyšetřeno 295 vzorků, z nichž 76 mělo nízkou hladinu 6-TGN. U 17 z nich šlo velmi

pravděpodobně o nízkou dávku AZA, u zbývajících pacientů (20 % celkového počtu) se mohlo jednat o non-compliance.



Obrázek 5.7 – Riziko ztráty odpovědi na léčbu v souvislosti s hladinou 6-TGN (Kaplan-Meierova křivka)

Na základě výsledků studie lze předpokládat, že 6-TGN je jedním z možných markerů ztráty odpovědi na léčbu IFX. Současně lze také 6-TGN využít k optimalizaci terapie a sledování compliance pacientů.

5.2.9 Rizikové faktory dermatologických komplikací anti-TNF- α terapie u kohorty dětských pacientů s IBD (Hradský O. et al., 2021)

Shrnutí

Cílem práce bylo pokusit se identifikovat rizikové faktory kumulativní incidence dermatologických komplikací u dětských pacientů s IBD, kteří byly léčeni BL, a to IFX nebo ADA.

Obě tato léčiva patří mezi anti-TNF- α preparáty a mají randomizovanými kontrolovanými studiemi prokázanou velmi dobrou účinnost v indukci i udržování remise u dětí s CD. Využívají se jak u dětí s vysoce rizikovým typem onemocnění jako léčba první volby, tak i u dětí, kde

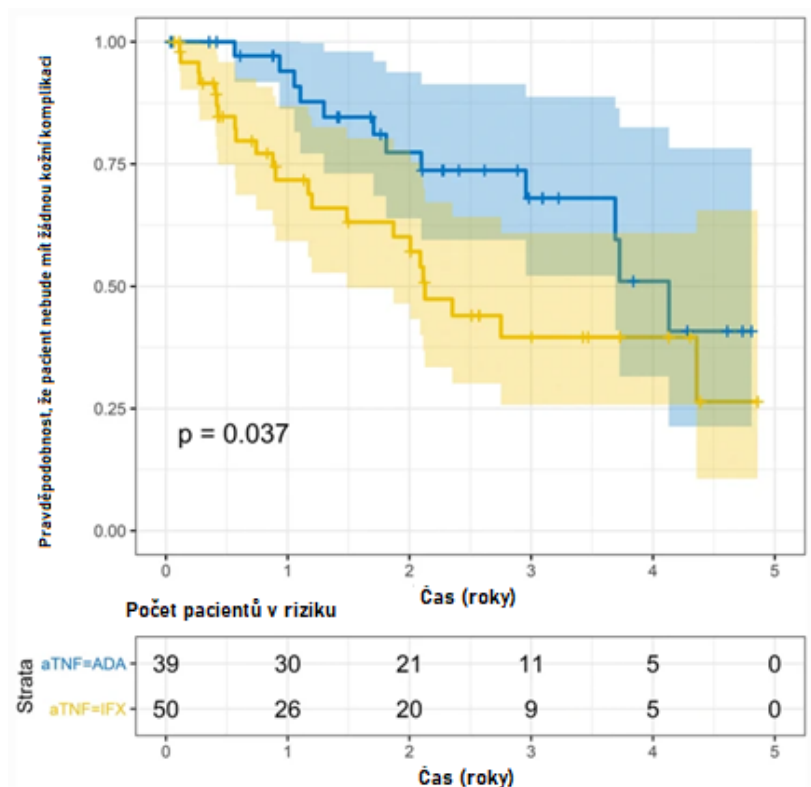
předchozí terapie selhala. Dermatologické komplikace patří mezi nejčastější nežádoucí účinky této terapie. U dětí, ačkoli dat není mnoho, se projevují jako psoriatické léze, atopická dermatitida nebo kožní infekce. Byly také definovány prediktory, které se zdály jako nejvíce pravděpodobné.

Do studie bylo zařazeno 100 dětských pacientů s IBD, kteří dostávali IFX nebo ADA jako terapii první volby. Data byla hodnocena retrospektivně, jednalo se o demografická data, klasifikaci a popis onemocnění, data z osobní a rodinné dermatologické anamnézy, klinické informace, základní laboratoř a konkomitantní medikace. Toto bylo sledováno od doby diagnózy v intervalech 2-3 měsíců, a to minimálně po dva roky.

Ze 100 pacientů splnilo vstupní kritéria 89, z toho 50 bylo léčeno IFX a 39 ADA. U 35 pacientů jsme během sledování zaznamenaly rozvoj některé z kožních komplikací léčby. Nejčastěji se jednalo o atopickou dermatitidu, kterou pacient dříve netrpěl (20 %) a psoriatickou dermatitidu (15 %).

Jediným nalezeným prediktorem asociovaným s rozvojem dermatologických komplikací, byla terapie IFX ($p = 0,04$). Pro samostatnou skupinu psoriatických lézí nebyla žádná signifikantní asociace nalezena. Pro atopickou dermatitidu byla nalezena signifikantní asociace s terapií IFX ($p = 0,01$) a atopická dermatitida v rodinné anamnéze ($p = 0,021$). Pokud hodnotíme vztah mezi stavem pacienta a výskytem dermatologické komplikace, tak byla asociace nalezena opět u terapie IFX ($p = 0,008$) a nižšího CRP ($p = 0,046$).

Tyto výsledky, viz obrázek 5.8, korespondují s nálezem jediné další pediatrické studie, která se věnuje kožním komplikacím u dětí a obsahuje obě tato léčiva, ovšem asociace byla nalezena pro psoriatické léze. U dospělých pacientů tato souvislost studiemi potvrzena nebyla, incidence výskytu dermatologických komplikací léčby je také nižší.



Legenda: ADA = adalimumab, aTNF – tumor necrosis factor alpha, IFX = infliximab

Obrázek 5.8 – Kumulativní incidence dermatologických komplikací u dětí s IBD léčených anti-TNF- α (ADA vs. IFX)

5.2.10 Adalimumab vs. infliximab u pediatrických pacientů s Crohnovou nemocí: Analýza pomocí propensity score a prediktory nutnosti eskalace terapie (Bronsky J. et al., 2022)

Shrnutí

Cílem studie bylo porovnat dobu, která uplyne do nutnosti eskalace terapie u dětí s CD, léčených buď ADA nebo IFX. Současně také vyhledávala pacienty, kteří primárně neodpověděli na léčbu, prediktory nutnosti eskalace terapie a relapsu a hodnotila bezpečnost, farmakokinetiku a účinnost konkomitantní léčby thiopuriny.

Do studie byli zařazeni pacienti naivní k anti-TNF- α léčbě, kteří ji zahájili mezi lety 2013 a 2017 dle standardního protokolu. Výběr konkrétního léku byl zejména na rozhodnutí pacienta, a to po důkladném vysvětlení všech hledisek ošetřujícím lékařem. Jako minimální doba sledování bylo stanoveno 24 měsíců. Intenzifikace léčby závisela na rozhodnutí lékaře, který postupoval na základě klinických a laboratorních dat. Jako druhý faktor byly brány v potaz

hladiny a případné protilátky proti danému léčivu. Pacient neodpověděl na léčbu, pokud nedošlo ke zlepšení určených klinických a laboratorních parametrů do období mezi 12. a 16. týdnem od zahájení BL. Jako změna terapie bylo hodnoceno více modalit (switch na jiný typ BL, chirurgický výkon, pokus o indukci jiným léčivem či úpravou režimu BL). Pro potřeby další analýzy byl relaps onemocnění definován jako nutnost zkrácení intervalu nebo zvýšení dávky ADA nebo IFX.

Celkem bylo v tomto období léčeno BL 100 naivních pacientů, 75 splnilo vstupní kritéria studie. Do hodnocení pomocí propensity score matching (skóre náchylnosti) bylo zařazeno 62 pacientů.

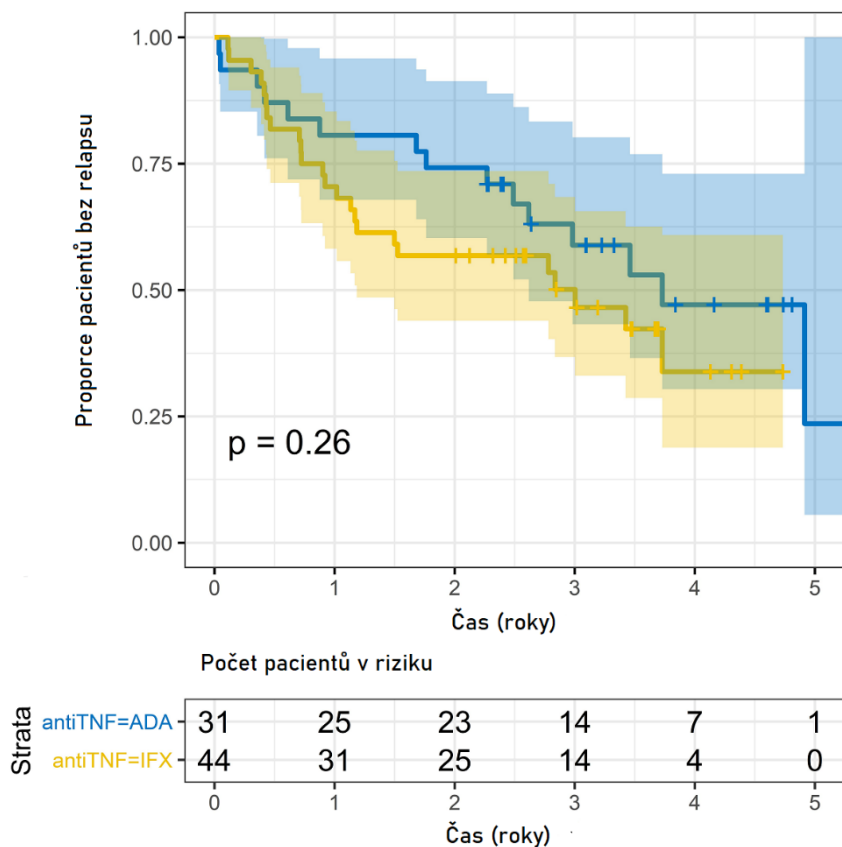
Pokud jde o charakteristiky pacientů, pak byl jediný rozdíl mezi pacienty, a to v přítomnosti IBD v rodinné anamnéze (více u skupiny s IFX, $p = 0,03$). Během 3 let sledování dospělo k nutnosti eskalaci terapie 50 % pacientů. Nebyl nalezen rozdíl mezi typy terapie, a to ani při využití propensity score ($p = 0,26$, resp. $p = 0,2$) – obrázek 5.9.

U pacientů, kteří primárně neodpověděli na léčbu, nebyl nalezen rozdíl v závislosti na podávaném léku, ani v jejich laboratorních parametrech.

Mezi prediktory nutnosti eskalace terapie, které byly pomocí univariátní analýzy nalezeny, patřily pozitivní protilátky p-ANCA a negativní protilátky ASCA ($p < 0,0001$). Naopak vliv neměl fenotyp onemocnění, konkomitantní imunomodulační terapie nebo analýza pro konkrétní typ léku.

Při hodnocení výskytu závažných nežádoucích událostí nebyl zaznamenán rozdíl mezi oběma skupinami, nicméně při použití propensity score matching byli ale ve skupině IFX byli nalezeni 3 pacienti s pneumonií, kdežto ve skupině ADA žádný ($p = 0,03$). Jeden pacient na ADA měl také natolik závažné nežádoucí účinky dermatologického charakteru, že musela být tato léčba ukončena. Jeden pacient na IFX prodělal alergickou reakci na léčivo.

Studie prokázala, že obě léčiva (ADA, IFX) jsou bezpečná a srovnatelně účinná u dětských pacientů, a to i na základě použití propensity score matching. Zajímavým prediktorem rizika eskalace terapie by mohla být pozitivita p-ANCA a negativita ASCA, která ale vyžaduje ověření v dalších studiích.



Legenda: ADA = adalimumab, aTNF – tumor necrosis factor alpha, IFX = infliximab

Obrázek 5.9 – Doba do nutnosti eskalace terapie při srovnání léčiv u celé skupiny pacientů

5.3 Projekty z tématu gastroenterologie mimo oblast IBD

5.3.1. Pro vynechání biopsie, dle nových kritérií ESPGHAN pro diagnostiku celiakie u dětí, je zásadní přítomnost symptomů (Nevoral J. et al., 2013)

Shrnutí

Cílem studie bylo ověřit přesnost sérologického testování v kombinaci s klinickými symptomy dle nových doporučení ESPGHAN pro diagnostiku celiakie. Retrospektivně bylo zhodnoceno 345 pacientů ve věku od 16 měsíců do 19 let. U těchto pacientů jsme sledovali přítomnost klinických symptomů, pozitivitu protilátek proti tkáňové transglutamináze (anti-TG) ve třídě IgA a pozitivitu protilátek proti endomysiu (EMA) ve třídě IgA. Z 345 pacientů, kteří podstoupili biopsii, mělo 213 dětí titry anti-TG 10x vyšší než je norma a pozitivní EMA

protilátky. 99 dětí mělo k předchozím dvěma nálezům navíc jasné symptomy, které lze připsat celiakii. U asymptomatických pacientů s výše uvedenými nálezy byla specificita histologické klasifikace dle Marshe (2–3) pouze 85 %, u symptomatických pacientů 99 %. Naše výsledky prokázaly, že 28% pacientů ze zkoumaného souboru by nemuselo, při použití nových ESPGHAN kritérii pro diagnostiku celiakie, podstoupit biopsii. Díky vysoké přesnosti serologických testů v kombinaci s klinickými symptomy se zdá, že tato kritéria jsou použitelná i bez použití vyšetření HLA.

6. Diskuze

Diskuze bude rozdělena dle jednotlivých sledovaných parametrů a markerů.

6.1 Endoskopický relaps onemocnění

Studií hodnotících ER onemocnění u dětských pacientů s CD po ICR není mnoho. Recentní studie z roku 2021 (n = 78) zjistila po dvou letech od operace ER u 46 % pacientů (Spencer E. A. et al, 2021). Podobné výsledky měla i další studie, kde ER byl nalezen u 51 %, nicméně průměrná doba mezi operací a endoskopií byla 38 měsíců a ne všichni pacienti dostávali imunosupresivní terapii (Hukkinen M. et al., 2016). Výrazně vyšší míru relapsu (87 %) popisuje studie z roku 2014, kde ale byla delší doba sledování, pacienti měli různou pooperační terapii a ne všichni podstoupili endoskopické vyšetření (Bobanga I. D. et al, 2014).

U dospělých je dostupných více studií. Velmi zajímavé výsledky přinesla randomizovaná kontrolovaná studie, kdy 6 měsíců po ICR mělo ER 45 % ze všech pacientů, resp. 21 % pacientů z tzv. skupiny s vysokým rizikem, a tedy léčené imunosupresivní léčbou (AZA, ADA). Mezi rizikové faktory patřil i nižší věk, což by tedy platilo i pro dětské pacienty (De Cruz P. et al., 2015). V dalších studiích se pohybuje míra ER mezi 21–47 % v závislosti na čase endoskopické kontroly a podávané léčbě (Kotze P. G. et al., 2015, Auzolle C. et al., 2018). V našich projektech jsme vyhodnotili ER 6 měsíců po ICR u 38 % (projekt č. 1) a 52 % (projekt č. 2), což odpovídá výsledkům ostatních studií.

6.2 CRP

CRP lze považovat za dobrý marker aktivního onemocnění, nicméně ve srovnání s F-CPT, je jeho přesnost u pacientů po ICR horší, jak potvrzují studie a také doporučení ESPGHAN pro chirurgickou léčbu u CD (De Cruz P et al., 2021, Wright E. K. et al., 2015). V našem prvním projektu jsme signifikantní asociaci mezi CRP v době operace či v době endoskopie s ER, nenalezli. V druhém projektu ano, ale pouze v době kontrolní endoskopie, ne v době operace. Toto může odrážet možné přetrvávání systémového zánětu i přes odstranění zánětlivě změněného úseku střeva. Na základě našich výsledků se tedy zdá, že CRP není vhodným markerem pro predikci ER.

6.3 Albumin

Nižší hladina ALB (jako markeru nutričního stavu pacienta) byla opakovaně prokázána jako rizikový faktor peri- nebo pooperačních komplikací napříč obory. Souvislost byla prokázána v kardiouchirurgii (Karas P. L. et al., 2015, Berbel-Franco D. et al., 2020), ortopedii (Kamath A. F. et al., 2017, Kishawi D. et al., 2020), ale také ve střevní chirurgii (Galata C. et al., 2019).

V projektu č. 1 jsme u všech pacientů zaznamenali hladiny ALB v mezích normy. Nicméně pacienti, u kterých došlo k ER při kontrole v 6 měsících od ICR, měli ve srovnání s pacienty bez relapsu, hladiny ALB statisticky signifikantně nižší (byť v normálním rozmezí pro běžnou populaci).

V projektu č. 2 jsme také zaznamenali asociaci mezi nižšími hladinami ALB v době operace a ER, ovšem pouze při adjustaci pacientů na BL. Tento nálezn může souviset s jejich horším nutričním stavem, a tedy intenzifikovanou terapií či horším průběhem onemocnění. U pacientů bez BL byla tato souvislost statisticky pouze hraniční.

6.4 Fekální kalprotektin

F-CPT byl již opakovaně testován jako marker relapsu onemocnění po provedení ICR či jiného resekcčního výkonu. Ve studii u dětských pacientů ($n = 22$) bylo zjištěno, že nárůst o $79 \mu\text{g/g}$ (či hodnota nad $139 \mu\text{g/g}$) oproti hodnotám těsně po operaci koreluje s nálezem ER a nárůst o $21 \mu\text{g/g}$ (nebo hodnota nad $101 \mu\text{g/g}$) koreluje s nálezem histologického relapsu (Hukkinen M. et al., 2016). U dospělých pacientů potvrdila využitelnost F-CPT jako markeru postoperační rekurence metaanalýza (Qiu Y. et al. 2015, Tham Y. S. et al., 2018). Zde byly vhodné hodnoty pro určení ER stanoveny na $150 \mu\text{g/g}$, a to se senzitivitou 70 % a specificitou 69 %. Dle doporučení ESPGHAN je hodnota pro určení správného času pro provedení endoskopie stanovena u dětí na $> 100 \mu\text{g/g}$ (Amil-Dias J. et al., 2017).

V našem prvním projektu jsme tato zjištění potvrdili jen částečně, 3 pacienti měli nález ER i přes nízký F-CPT ($2 < 250 \mu\text{g/g}$ a $1 < 100 \mu\text{g/g}$). Nicméně z 21 pacientů jsme získali vzorek stolice na vyšetření pouze od 62 % z nich, což může výsledek ovlivnit. Ve druhém projektu jsme již tuto asociaci potvrdili, ale v tomto souboru jsme opět zachytili 3 pacienty s přítomností ER a hodnotami F-CPT $< 100 \mu\text{g/g}$.

6.5 Tkáňový kalprotektin

V projektu č. 2 jsme se zabývali imunohistochemickým stanovením CPT v resekcčních okrajích střeva odstraněného při ICR. Využití této kombinace metody a studovaného vzorku není časté.

Studie zabývající se přímo pacienty a resekáty po ICR prakticky neexistují ani u dětí, ani u dospělých. U IBD pacientů (42 CD, 113 UC) byl v rámci jedné studie vyšetřován počet CPT-positivních buněk ve střevní sliznici z bioptických vzorků a porovnávali nález se zdravými kontrolami. U pacientů s IBD byl počet těchto buněk oproti kontrolám signifikantně vyšší (Fukunaga S. et al., 2018). Pacientům s UC se věnovala také jedna starší studie. Autoři srovnávali 3 skupiny pacientů – aktivní UC, UC v remisi a zdravé kontroly. Vzorky skupiny pacientů s aktivní UC měly signifikantně vyšší koncentraci CPT oproti kontrolám či UC v remisi ($p < 0,01$) (Liu W. B. et al., 2005). Ve studii našeho výzkumného týmu (Fabián O. et al., 2019) byla potvrzena dobrá korelace mezi histopatologickým nálezem a T-CPT u dětských pacientů s UC.

V naší studii jsme předpokládali pozitivní korelaci mezi vyšším počtem CPT-positivních buněk v okrajích resekátu a počtem pacientů s ER, tedy s Rutgeerts skóre ≥ 2 . Oproti původní hypotéze jsme našli asociaci negativní, a to zejména v proximálním okraji resekátu. Pro tento nález nemáme žádné patofyziologické vysvětlení, nicméně mohl být způsobený statistickou odchylkou díky nižšímu počtu vyšetřovaných pacientů. Současně lze také uvažovat o vlivu délky resekce. Standardně se dle doporučení resekuje střevo v makroskopicky „zdravé“ tkáni, v určité vzdálenosti od zánětlivých změn. Nelze tedy vyloučit i podíl mikroskopického zánětu, který není viditelný při operaci. Stejný výsledek jsme zaznamenali i při adjustaci na BL, nezdá se tedy, že by jedním ze zavádějících faktorů byl typ pooperační léčby. Nelze také vyloučit, že námi zvolená metoda hodnocení histopatologického vzorku, tedy počet CPT-positivních buněk v nejméně postižené části vzorku, není optimální. Z výsledků naší studie tedy nelze pro predikci ER po ICR toto vyšetření doporučit.

6.6 Histopatologické nálezy

Na základě publikovaných dat patří mezi nález predikující ER přítomnost myenterické plexitidy (Misteli H. et al., 2015, Lemmens B. et al., 2017, Ferrante M. et al., 2006). Tento nález jsme v naší studii nepotvrdili. Naopak jsme našli dosud nepopsanou asociaci mezi přítomností chronické či floridní peritonitidy a ER, nicméně pro potvrzení tohoto nálezu jsou třeba další studie.

7. Závěr

Ačkoli není u pediatrických pacientů s CD dostupných příliš mnoho dat, která by se týkala ER po ICR, zdá se, že je podobně častý jako u dospělých (38–87 % dle studií). Tomuto rozmezí odpovídají i výsledky našich projektů – 38 % a 52 %. A to i přesto, že všichni zařazení pacienti byli hodnoceni jako vysoce riziková a i po operaci dostávali imunosupresivní léčbu. Naopak předoperační terapie, dle našich výsledků, na míru relapsu vliv nemá a je možné, při splnění určitých podmínek, nepokračovat v BL.

CRP je snadno dostupný a levný marker, který je vhodný pro monitorování aktivity onemocnění. Dle našich výsledků nicméně není ideální využívat jej k predikci či včasné detekci relapsu onemocnění po ICR, asociaci jsme našli pouze u pacientů, kteří postupovali kontrolní endoskopií.

Zajímavým prediktorem, který je dle našeho názoru do budoucna nadějný, je sérový ALB. Dle našich výsledků jeho koncentrace v době operace koreluje s vyšším rizikem relapsu onemocnění 6 měsíců po ICR. Přestože jsme nezaznamenali koncentrace mimo normu, pacienti s relapsem onemocnění na léčbě AZA jej měli předoperačně významně nižší, totéž se týkalo v druhém projektu pacientů na anti-TNF- α terapii (tedy předpokládaný těžší průběh onemocnění). Tato naše hypotéza se tedy potvrdila.

Předpokládaný význam využití fekálního kalprotektinu jsme v prvním projektu nepotvrdili, nicméně toto mohlo souviset s nízkým počtem vzorků, které jsme měli k dispozici. V druhém projektu již zvýšení F-CPT během sledování znamenalo statisticky signifikantní přítomnost endoskopického relapsu.

Zcela novým sledovaným markerem bylo imunohistochemické stanovení CPT ve střevních buňkách resekátů po ICR. Studie na toto téma dosud publikována nebyla. Oproti původní hypotéze očekávaná vyšší hodnota CPT-positivních buněk v distálním i proximálním okraji nekorelovala s nálezy endoskopického relapsu při kontrole v 6 měsících. Podle tohoto markeru tedy nelze v současné době predikovat případné zvýšené riziko endoskopického relapsu 6 měsíců po ICR.

Ideálním schématem pro pooperační sledování pacientů je tedy monitorace F-CPT v kombinaci s dalšími zánětlivými markery (např. CRP) a klinickým stavem.

8. Souhrn

Incidence IBD v pediatrické populaci celosvětově narůstá, konkrétní a ovlivnitelné rizikové faktory tohoto multifaktoriálního onemocnění, i přes intenzivní výzkum v mnoha oblastech, v současné době neznáme.

Chirurgické řešení CD je nedílnou součástí její terapie, ačkoli není považováno za kauzální. Dle některých dat v dětském věku podstoupí operační výkon až 1/3 pacientů. Právě nižší věk při diagnóze onemocnění má vyšší riziko rozvoje komplikací a závažnějšího průběhu. Nejčastějším prováděným výkonem je ileocékální resekce, léčebné protokoly se u dětí a dospělých liší. Dospělí pacienti, kteří jsou považováni za nízké rizikové, lze ponechat bez imunosupresivní terapie. Pediatrické pacienty naopak považujeme za více rizikové, a proto jsou léčeni imunosupresivní medikací i po operaci. Standardně se provádí kontrolní endoskopické vyšetření 6–9 měsíců od ICR.

Brzká detekce počínajícího relapsu onemocnění po předchozím operačním výkonu je zásadním faktorem pro včasnou úpravu terapie. F-CPT je známý jako velmi dobrý marker, který předchází rozvoji klinických příznaků, jak bylo potvrzeno mnoha studiemi u dospělých a méně u dětských pacientů. Toto zjištění jsme také v projektu č.2 potvrdili. Při trvající elevaci F-CPT je nutné provést kontrolní endoskopii dříve, než ve stanoveném intervalu. CRP je markerem spíše systémové aktivity zánětu, nicméně k brzkému hodnocení relapsu onemocnění nebo jeho predikci po operaci u pacientů po ICR není, jak potvrdila i velká studie u dospělých pacientů - POCER.

Imunohistochemické měření CPT ve tkáních je velmi málo užívanou metodou. U pacientů po ICR pro hodnocení resekatu nejsou známa žádná dostupná data. Dle našich výsledků vyšší počet CPT-pozitivních buněk v resekcích okrajích resekatu nekoreluje s rozvojem endoskopického relapsu onemocnění.

9. Summary

The incidence of IBD in pediatric population is growing worldwide and the specific and controllable risk factors of this multifactorial disease are currently unknown despite intensive research in many areas.

Although it is not considered causal, the CD surgical procedures are an integral part of the therapy. Certain data suggests that in their childhood, up to 1/3 of patients undergo a surgical intervention. The low age of patients at the time of diagnosis is the risk factor potentially leading towards development of complications and difficult course of the disease.

The most frequently performed procedure is ileocecal resection, for which the therapeutic protocols differ between children and adults. Adult patients, which are considered to be low risk, do not have to use immunosuppressive therapy. Pediatric patients, on the other hand, are perceived to be at a higher risk, and thus are subject to immunosuppressive therapy even after undergoing surgery. Standardly, the control endoscopy is performed 6-9 months after the ICR. Early detection of onset relapse of the disease after previous surgical intervention is a crucial factor for timely change in therapy. F-CPT is regarded as a good marker which precedes development of clinical symptoms, as has been confirmed by many studies in adults, and fewer studies in pediatric patients. This finding was also confirmed in project no. 2 of this thesis. In case of persistent elevation of F-CPT, it is necessary/imperative to perform control endoscopy earlier than in previously established interval. CRP serves mostly as a marker of systemic activity of inflammation, however it is not useful for early evaluation of relapse or its prediction in patients after ICR, as confirmed by the extensive study in adult patients – POCER. Immunohistochemical measurement of CPT in tissue is a scarcely used method. There are no known data available for evaluation of resection in patients after ICR. According to our results, higher levels of CPT-positive cells in resection margins do not correlate with development of endoscopic relapse of the disease.

10. Použitá literatura

1. American gastroenterological association medical position statement: perianal Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2003;125(5):1503-7. doi:10.1016/j.gastro.2003.08.024.
2. Inflammatory bowel disease in children and adolescents: recommendations for diagnosis--the Porto criteria. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2005;41(1):1-7. doi:10.1097/01.mpg.0000163736.30261.82.
3. Abildtrup M, Kingsley GH, Scott DL. Calprotectin as a biomarker for rheumatoid arthritis: a systematic review. *The Journal of rheumatology*. 2015;42(5):760-70. doi:10.3899/jrheum.140628.
4. Adler J, Dong S, Eder SJ, Dombkowski KJ. Perianal Crohn Disease in a Large Multicenter Pediatric Collaborative. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2017;64(5):e117-e24. doi:10.1097/mpg.0000000000001447.
5. Agaoglu RT, Celik OY, Yakut K, Celen S, Caglar AT. Maternal serum calprotectin level in intrahepatic cholestasis of pregnancy. *The journal of obstetrics and gynaecology research*. 2021;47(10):3456-63. doi:10.1111/jog.14925.
6. Alempijević T, Štulić M, Popovic D, Culafic D, Dragasevic S, Milosavljevic T. The role of fecal calprotectin in assessment of hepatic encephalopathy in patients with liver cirrhosis. *Acta gastro-enterologica Belgica*. 2014;77(3):302-5.
7. Alende-Castro V, Alonso-Sampedro M, Vazquez-Temprano N, Tuñez C, Rey D, García-Iglesias C et al. Factors influencing erythrocyte sedimentation rate in adults: New evidence for an old test. *Medicine*. 2019;98(34):e16816. doi:10.1097/md.00000000000016816.
8. Aloï M, D'Arcangelo G, Bramuzzo M, Gasparetto M, Martinelli M, Alvisi P et al. Effect of Early Versus Late Azathioprine Therapy in Pediatric Ulcerative Colitis. *Inflammatory bowel diseases*. 2016;22(7):1647-54. doi:10.1097/mib.0000000000000828.
9. Ambe PC, Gödde D, Bönicke L, Papadakis M, Störkel S, Zirngibl H. Calprotectin could be a potential biomarker for acute appendicitis. *Journal of translational medicine*. 2016;14(1):107. doi:10.1186/s12967-016-0863-3.
10. Ambe R, Campbell L, Cagir B. A comprehensive review of stricturoplasty techniques in Crohn's disease: types, indications, comparisons, and safety. *Journal of gastrointestinal surgery : official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract*. 2012;16(1):209-17. doi:10.1007/s11605-011-1651-2.
11. Amil-Dias J, Kolacek S, Turner D, Pærregaard A, Rintala R, Afzal NA et al. Surgical Management of Crohn Disease in Children: Guidelines From the Paediatric IBD Porto Group of ESPGHAN. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2017;64(5):818-35. doi:10.1097/mpg.0000000000001562.
12. Annese V, Andreoli A, Andriulli A, Dinca R, Gionchetti P, Latiano A et al. Familial expression of anti-Saccharomyces cerevisiae Mannan antibodies in Crohn's disease and ulcerative colitis: a GISC study. *The American journal of gastroenterology*. 2001;96(8):2407-12. doi:10.1111/j.1572-0241.2001.04043.x.
13. Aomatsu T, Imaeda H, Matsumoto K, Kimura E, Yoden A, Tamai H et al. Faecal chitinase 3-like-1: a novel biomarker of disease activity in paediatric inflammatory bowel disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2011;34(8):941-8. doi:10.1111/j.1365-2036.2011.04805.x.
14. Assa A, Bronsky J, Kolho KL, Zarubova K, de Meij T, Ledder O et al. Anti-TNF α Treatment After Surgical Resection for Crohn's Disease Is Effective Despite Previous Pharmacodynamic Failure. *Inflammatory bowel diseases*. 2017;23(5):791-7. doi:10.1097/mib.0000000000001050.
15. Auzolle C, Nancey S, Tran-Minh ML, Buisson A, Pariente B, Stefanescu C et al. Male gender, active smoking and previous intestinal resection are risk factors for post-operative endoscopic recurrence in Crohn's disease: results from a prospective cohort study. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2018;48(9):924-32. doi:10.1111/apt.14944.
16. Ayling RM, Kok K. Fecal Calprotectin. *Advances in clinical chemistry*. 2018;87:161-90. doi:10.1016/bs.acc.2018.07.005.
17. Azramezani Kopi T, Shahrokh S, Mirzaei S, Asadzadeh Aghdai H, Amini Kadijani A. The role of serum calprotectin as a novel biomarker in inflammatory bowel diseases: a review study. *Gastroenterology and hepatology from bed to bench*. 2019;12(3):183-9.
18. Baba R, Yashiro K, Nagasako K, Obata H. Significance of serum sialic acid in patients with Crohn's disease. *Gastroenterologia Japonica*. 1992;27(5):604-10. doi:10.1007/bf02774974.
19. Baldassarre ME, Altomare MA, Fanelli M, Carbone D, Di Bitonto G, Mautone A et al. Does calprotectin represent a regulatory factor in host defense or a drug target in inflammatory disease? *Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets*. 2007;7(1):1-5. doi:10.2174/187153007780059441.
20. Banerjee S, Bishop WP. Evolution of thiopurine use in pediatric inflammatory bowel disease in an academic center. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2006;43(3):324-30. doi:10.1097/01.mpg.0000228135.31793.9f.

21. Bemelman WA, Warusavitarne J, Sampietro GM, Serclova Z, Zmora O, Luglio G et al. ECCO-ESCP Consensus on Surgery for Crohn's Disease. *Journal of Crohn's & colitis*. 2018;12(1):1-16. doi:10.1093/ecco-jcc/jjx061.
22. Benchimol EI, Fortinsky KJ, Gozdyra P, Van den Heuvel M, Van Limbergen J, Griffiths AM. Epidemiology of pediatric inflammatory bowel disease: a systematic review of international trends. *Inflammatory bowel diseases*. 2011;17(1):423-39. doi:10.1002/ibd.21349.
23. Berbel-Franco D, Lopez-Delgado JC, Putzu A, Esteve F, Torrado H, Farrero E et al. The influence of postoperative albumin levels on the outcome of cardiac surgery. *Journal of cardiothoracic surgery*. 2020;15(1):78. doi:10.1186/s13019-020-01133-y.
24. Bernell O, Lapidus A, Hellers G. Risk factors for surgery and postoperative recurrence in Crohn's disease. *Annals of surgery*. 2000;231(1):38-45. doi:10.1097/0000658-200001000-00006.
25. Beyazit Y, Koklu S, Tas A, Purnak T, Sayilir A, Kurt M et al. Serum adenosine deaminase activity as a predictor of disease severity in ulcerative colitis. *Journal of Crohn's & colitis*. 2012;6(1):102-7. doi:10.1016/j.crohns.2011.07.010.
26. Biancone L, Fantini M, Tosti C, Bozzi R, Vavassori P, Pallone F. Fecal alpha 1-antitrypsin clearance as a marker of clinical relapse in patients with Crohn's disease of the distal ileum. *European journal of gastroenterology & hepatology*. 2003;15(3):261-6. doi:10.1097/00042737-200303000-00009.
27. Birimberg-Schwartz L, Zucker DM, Akiv A, Cucchiara S, Cameron FL, Wilson DC et al. Development and Validation of Diagnostic Criteria for IBD Subtypes Including IBD-unclassified in Children: a Multicentre Study From the Pediatric IBD Porto Group of ESPGHAN. *Journal of Crohn's & colitis*. 2017;11(9):1078-84. doi:10.1093/ecco-jcc/jjx053.
28. Black S, Kushner I, Samols D. C-reactive Protein. *The Journal of biological chemistry*. 2004;279(47):48487-90. doi:10.1074/jbc.R400025200.
29. Bobanga ID, Bai S, Swanson MA, Champagne BJ, Reynolds HJ, Delaney CP et al. Factors influencing disease recurrence after ileocolic resection in adult and pediatric onset Crohn's disease. *American journal of surgery*. 2014;208(4):591-6. doi:10.1016/j.amjsurg.2014.06.008.
30. Bonheur JL, Braunstein J, Korelitz BI, Panagopoulos G. Anal skin tags in inflammatory bowel disease: new observations and a clinical review. *Inflammatory bowel diseases*. 2008;14(9):1236-9. doi:10.1002/ibd.20458.
31. Borrelli O, Cordischi L, Cirulli M, Paganelli M, Labalestra V, Uccini S et al. 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*. 2006;4(6):744-53. doi:10.1016/j.cgh.2006.03.010.
32. Botana-Rial M, Vázquez-Iglesias L, Casado-Rey P, Cadena MP, Andrade-Olivie MA, Abal-Arca J et al. Validation of Calprotectin As a Novel Biomarker For The Diagnosis of Pleural Effusion: a Multicentre Trial. *Scientific reports*. 2020;10(1):5679. doi:10.1038/s41598-020-62388-y.
33. Boyle BM, Kappelman MD, Colletti RB, Baldassano RN, Milov DE, Crandall WV. Routine use of thiopurines in maintaining remission in pediatric Crohn's disease. *World journal of gastroenterology*. 2014;20(27):9185-90. doi:10.3748/wjg.v20.i27.9185.
34. Bronsky J, Copova I, Kazeka D, Lerchova T, Mitrova K, Pospisilova K et al. Adalimumab versus infliximab in pediatric patients with Crohn's disease: A propensity-score analysis and predictors of treatment escalation. *Clinical and translational gastroenterology*. 2022. doi:10.14309/ctg.0000000000000490.
35. Buisson A, Vazeille E, Minet-Quinard R, Goutte M, Bouvier D, Goutorbe F et al. Faecal chitinase 3-like 1 is a reliable marker as accurate as faecal calprotectin in detecting endoscopic activity in adult patients with inflammatory bowel diseases. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2016;43(10):1069-79. doi:10.1111/apt.13585.
36. Cakir M, Ozgenç F, Yusekkaya HA, Ecevit CO, Yagci RV. Steroid response in moderate to severe pediatric ulcerative colitis: a single center's experience. *World journal of pediatrics : WJP*. 2011;7(1):50-3. doi:10.1007/s12519-011-0245-0.
37. Carlsen K, Malham M, Hansen LF, Petersen JJH, Paerregaard A, Houen G et al. Serum Calprotectin in Adolescents With Inflammatory Bowel Disease-A Pilot Investigation. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2019;68(5):669-75. doi:10.1097/mpg.0000000000002244.
38. Clerc F, Novokmet M, Dotz V, Reiding KR, de Haan N, Kammeijer GSM et al. Plasma N-Glycan Signatures Are Associated With Features of Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology*. 2018;155(3):829-43. doi:10.1053/j.gastro.2018.05.030.
39. Colman RJ, Lawton RC, Dubinsky MC, Rubin DT. Methotrexate for the Treatment of Pediatric Crohn's Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *Inflammatory bowel diseases*. 2018;24(10):2135-41. doi:10.1093/ibd/izy078.
40. 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. *European journal of pediatrics*. 2018;177(11):1685-93. doi:10.1007/s00431-018-3228-5.
41. Costa F, Mumolo MG, Ceccarelli L, Bellini M, Romano MR, Sterpi C et al. Calprotectin is a stronger predictive marker of relapse in ulcerative colitis than in Crohn's disease. *Gut*. 2005;54(3):364-8. doi:10.1136/gut.2004.043406.
 42. Costello R, Patel R, Humphreys J, McBeth J, Dixon WG. Patient perceptions of glucocorticoid side effects: a cross-sectional survey of users in an online health community. *BMJ open*. 2017;7(4):e014603. doi:10.1136/bmjopen-2016-014603.
 43. Czub E, Herzig KH, Szaflarska-Popawska A, Kiehne K, Socha P, Woś H et al. Fecal pyruvate kinase: a potential new marker for intestinal inflammation in children with inflammatory bowel disease. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2007;42(10):1147-50. doi:10.1080/00365520701320513.
 44. da Silva JSV, Seres DS, Sabino K, Adams SC, Berdahl GJ, City SW et al. ASPEN Consensus Recommendations for Refeeding Syndrome. *Nutrition in clinical practice : official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition*. 2020;35(2):178-95. doi:10.1002/ncp.10474.
 45. Dai C, Jiang M, Sun MJ, Cao Q. Fecal Lactoferrin for Assessment of Inflammatory Bowel Disease Activity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of clinical gastroenterology*. 2020;54(6):545-53. doi:10.1097/mcg.0000000000001212.
 46. Day AS, Judd T, Lemberg DA, Leach ST. Fecal M2-PK in children with Crohn's disease: a preliminary report. *Digestive diseases and sciences*. 2012;57(8):2166-70. doi:10.1007/s10620-012-2215-3.
 47. de Bruyn M, Arijis I, De Hertogh G, Ferrante M, Van Assche G, Rutgeerts P et al. Serum Neutrophil Gelatinase B-associated Lipocalin and Matrix Metalloproteinase-9 Complex as a Surrogate Marker for Mucosal Healing in Patients with Crohn's Disease. *Journal of Crohn's & colitis*. 2015;9(12):1079-87. doi:10.1093/ecco-jcc/jjv148.
 48. De Cruz P, Hamilton AL, Burrell KJ, Gorelik A, Liew D, Kamm MA. Endoscopic Prediction of Crohn's Disease Postoperative Recurrence. *Inflammatory bowel diseases*. 2021. doi:10.1093/ibd/izab134.
 49. De Cruz P, Kamm MA, Hamilton AL, Ritchie KJ, Krejany EO, Gorelik A et al. Crohn's disease management after intestinal resection: a randomised trial. *Lancet (London, England)*. 2015;385(9976):1406-17. doi:10.1016/s0140-6736(14)61908-5.
 50. de Haan JJ, Smeets MB, Pasterkamp G, Arslan F. Danger signals in the initiation of the inflammatory response after myocardial infarction. *Mediators of inflammation*. 2013;2013:206039. doi:10.1155/2013/206039.
 51. de Zoeten EF, Pasternak BA, Mattei P, Kramer RE, Kader HA. Diagnosis and treatment of perianal Crohn disease: NASPGHAN clinical report and consensus statement. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2013;57(3):401-12. doi:10.1097/MPG.0b013e3182a025ee.
 52. D'Inca R, Dal Pont E, Di Leo V, Benazzato L, Martinato M, Lamboglia F et al. Can calprotectin predict relapse risk in inflammatory bowel disease? *The American journal of gastroenterology*. 2008;103(8):2007-14. doi:10.1111/j.1572-0241.2008.01870.x.
 53. Donato R, Cannon BR, Sorci G, Riuzzi F, Hsu K, Weber DJ et al. Functions of S100 proteins. *Current molecular medicine*. 2013;13(1):24-57.
 54. Dragoni G, Innocenti T, Galli A. Biomarkers of Inflammation in Inflammatory Bowel Disease: How Long before Abandoning Single-Marker Approaches? *Digestive diseases (Basel, Switzerland)*. 2021;39(3):190-203. doi:10.1159/000511641.
 55. Duricova D, Dvorakova E, Hradsky O, Mitrova K, Durilova M, Kozeluhova J et al. Safety of Anti-TNF-Alpha Therapy During Pregnancy on Long-term Outcome of Exposed Children: A Controlled, Multicenter Observation. *Inflammatory bowel diseases*. 2019;25(4):789-96. doi:10.1093/ibd/izy294.
 56. El-Asmar K, El-Shafei E, Abdel-Latif M, AbouZeid A, El-Behery M. Surgical aspects of inflammatory bowel diseases in pediatric and adolescent age groups. *International journal of colorectal disease*. 2016;31(2):301-5. doi:10.1007/s00384-015-2388-2.
 57. Ellemunter H, Engelhardt A, Schüller K, Steinkamp G. Fecal Calprotectin in Cystic Fibrosis and Its Relation to Disease Parameters: A Longitudinal Analysis for 12 Years. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2017;65(4):438-42. doi:10.1097/mpg.0000000000001544.
 58. Fabian O, Hradsky O, Lerchova T, Mikus F, Zamecnik J, 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. *Pathology, research and practice*. 2019;215(12):152689. doi:10.1016/j.prp.2019.152689.
 59. Fabian O, Hradsky O, Potuznikova K, Kalfusova A, Krskova L, Hornofova L et al. Low predictive value of histopathological scoring system for complications development in children with Crohn's disease. *Pathology, research and practice*. 2017;213(4):353-8. doi:10.1016/j.prp.2017.01.009.
 60. Fairclough E, Cairns E, Hamilton J, Kelly C. Evaluation of a modified early warning system for acute medical admissions and comparison with C-reactive protein/albumin ratio as a predictor of patient outcome. *Clinical medicine (London, England)*. 2009;9(1):30-3. doi:10.7861/clinmedicine.9-1-30.

61. Feagan BG, McDonald JW, Panaccione R, Enns RA, Bernstein CN, Ponich TP et al. Methotrexate in combination with infliximab is no more effective than infliximab alone in patients with Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2014;146(3):681-8.e1. doi:10.1053/j.gastro.2013.11.024.
62. Ferrante M, de Hertogh G, Hlavaty T, D'Haens G, Penninckx F, D'Hoore A et al. The value of myenteric plexitis to predict early postoperative Crohn's disease recurrence. *Gastroenterology*. 2006;130(6):1595-606. doi:10.1053/j.gastro.2006.02.025.
63. Fouda I, Obaid ZM, Hegazy SF, Samir Abd Al-Samie H, Nofal A. Calprotectin in acne vulgaris: A possible contributory role. *Journal of cosmetic dermatology*. 2021;20(2):621-5. doi:10.1111/jocd.13574.
64. Fukunaga S, Kuwaki K, Mitsuyama K, Takedatsu H, Yoshioka S, Yamasaki H et al. Detection of calprotectin in inflammatory bowel disease: Fecal and serum levels and immunohistochemical localization. *International journal of molecular medicine*. 2018;41(1):107-18. doi:10.3892/ijmm.2017.3244.
65. Galata C, Kienle P, Weiss C, Seyfried S, Reißfelder C, Hardt J. Risk factors for early postoperative complications in patients with Crohn's disease after colectomy surgery other than ileocecal resection or right hemicolectomy. *International journal of colorectal disease*. 2019;34(2):293-300. doi:10.1007/s00384-018-3196-2.
66. Galgut BJ, Lemberg DA, Day AS, Leach ST. The Value of Fecal Markers in Predicting Relapse in Inflammatory Bowel Diseases. *Frontiers in pediatrics*. 2017;5:292. doi:10.3389/fped.2017.00292.
67. García-Sánchez V, Iglesias-Flores E, González R, Gisbert JP, Gallardo-Valverde JM, González-Galilea A et al. Does fecal calprotectin predict relapse in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis? *Journal of Crohn's & colitis*. 2010;4(2):144-52. doi:10.1016/j.crohns.2009.09.008.
68. Ghavami S, Rashedi I, Dattilo BM, Eshraghi M, Chazin WJ, Hashemi M et al. S100A8/A9 at low concentration promotes tumor cell growth via RAGE ligation and MAP kinase-dependent pathway. *Journal of leukocyte biology*. 2008;83(6):1484-92. doi:10.1189/jlb.0607397.
69. Gisbert JP, Bermejo F, Pérez-Calle JL, Taxonera C, Vera I, McNicholl AG et al. Fecal calprotectin and lactoferrin for the prediction of inflammatory bowel disease relapse. *Inflammatory bowel diseases*. 2009;15(8):1190-8. doi:10.1002/ibd.20933.
70. Goodhand JR, Kamperidis N, Rao A, Laskaratos F, McDermott A, Wahed M et al. Prevalence and management of anemia in children, adolescents, and adults with inflammatory bowel disease. *Inflammatory bowel diseases*. 2012;18(3):513-9. doi:10.1002/ibd.21740.
71. Goyal A, Zheng Y, Albenberg LG, Stoner NL, Hart L, Alkhoury R et al. Anemia in Children With Inflammatory Bowel Disease: A Position Paper by the IBD Committee of the North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2020;71(4):563-82. doi:10.1097/mpg.0000000000002885.
72. Gross SR, Sin CG, Barraclough R, Rudland PS. Joining S100 proteins and migration: for better or for worse, in sickness and in health. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. 2014;71(9):1551-79. doi:10.1007/s00018-013-1400-7.
73. Gupta N, Cohen SA, Bostrom AG, Kirschner BS, Baldassano RN, Winter HS et al. Risk factors for initial surgery in pediatric patients with Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2006;130(4):1069-77. doi:10.1053/j.gastro.2006.02.003.
74. Hanafy AS, Mohamed MS, Alnagar AA. Ascitic Calprotectin as an early predictor of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhotic ascites. *Journal of cancer research and clinical oncology*. 2020;146(12):3207-14. doi:10.1007/s00432-020-03363-y.
75. Hanai H, Iida T, Takeuchi K, Arai H, Arai O, Abe J et al. Nutritional therapy versus 6-mercaptopurine as maintenance therapy in patients with Crohn's disease. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. 2012;44(8):649-54. doi:10.1016/j.dld.2012.03.007.
76. Hashemi R, Majidi A, Motamed H, Amini A, Najari F, Tabatabaey A. Erythrocyte Sedimentation Rate Measurement Using as a Rapid Alternative to the Westergren Method. *Emergency (Tehran, Iran)*. 2015;3(2):50-3.
77. Heller F, Frischmann S, Grünbaum M, Zidek W, Westhoff TH. Urinary calprotectin and the distinction between prerenal and intrinsic acute kidney injury. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*. 2011;6(10):2347-55. doi:10.2215/cjn.02490311.
78. Hirten RP, Shah S, Sachar DB, Colombel JF. The Management of Intestinal Penetrating Crohn's Disease. *Inflammatory bowel diseases*. 2018;24(4):752-65. doi:10.1093/ibd/izx108.
79. Hojsak I, Mišak Z, Jadrešin O, Močić Pavić A, Kolaček S. Methotrexate is an efficient therapeutic alternative in children with thiopurine-resistant Crohn's disease. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2015;50(10):1208-13. doi:10.3109/00365521.2015.1031166.
80. Hradsky O, Copova I, Zarubova K, Durilova M, Nevorál J, Maminak M et al. Seroprevalence of Epstein-Barr Virus, Cytomegalovirus, and Polyomaviruses in Children with Inflammatory Bowel Disease. *Digestive diseases and sciences*. 2015;60(11):3399-407. doi:10.1007/s10620-015-3764-z.

81. Hradsky O, Copova I, Zarubova K, Nevoral J, Bronsky J. Time to Relapse in Children with Crohn's Disease Treated with Azathioprine and Nutritional Therapy or Corticosteroids. *Digestive diseases and sciences*. 2016;61(7):2041-50. doi:10.1007/s10620-016-4103-8.
82. 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. *European journal of pediatrics*. 2021;180(9):3001-8. doi:10.1007/s00431-021-04077-0.
83. Hradsky O, Ohem J, Zarubova K, Mitrova K, Durilova M, Kotalova R et al. Disease activity is an important factor for indeterminate interferon- γ release assay results in children with inflammatory bowel disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2014;58(3):320-4. doi:10.1097/mpg.0000000000000205.
84. Hradsky O, Soucek O, Maratova K, Matyskova J, Copova I, Zarubova K et al. Supplementation with 2000 IU of Cholecalciferol Is Associated with Improvement of Trabecular Bone Mineral Density and Muscle Power in Pediatric Patients with IBD. *Inflammatory bowel diseases*. 2017;23(4):514-23. doi:10.1097/mib.0000000000001047.
85. Hsu K, Champaiboon C, Guenther BD, Sorenson BS, Khammanivong A, Ross KF et al. ANTI-INFECTIVE PROTECTIVE PROPERTIES OF S100 CALGRANULINS. *Anti-inflammatory & anti-allergy agents in medicinal chemistry*. 2009;8(4):290-305. doi:10.2174/187152309789838975.
86. Hukkinen M, Pakarinen MP, Merras-Salmio L, Koivusalo A, Rintala R, Kolho KL. Fecal calprotectin in the prediction of postoperative recurrence of Crohn's disease in children and adolescents. *Journal of pediatric surgery*. 2016;51(9):1467-72. doi:10.1016/j.jpedsurg.2016.01.017.
87. Husain N, Tokoro K, Popov JM, Naides SJ, Kwasny MJ, Buchman AL. Neopterin concentration as an index of disease activity in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Journal of clinical gastroenterology*. 2013;47(3):246-51. doi:10.1097/MCG.0b013e3182582cdb.
88. Hyams J, Crandall W, Kugathasan S, Griffiths A, Olson A, Johanns J et al. Induction and maintenance infliximab therapy for the treatment of moderate-to-severe Crohn's disease in children. *Gastroenterology*. 2007;132(3):863-73; quiz 1165-6. doi:10.1053/j.gastro.2006.12.003.
89. Hyams JS, Griffiths A, Markowitz J, Baldassano RN, Faubion WA, Jr., Colletti RB et al. Safety and efficacy of adalimumab for moderate to severe Crohn's disease in children. *Gastroenterology*. 2012;143(2):365-74.e2. doi:10.1053/j.gastro.2012.04.046.
90. Hyams JS, Lerer T, Mack D, Bousvaros A, Griffiths A, Rosh J et al. Outcome following thiopurine use in children with ulcerative colitis: a prospective multicenter registry study. *The American journal of gastroenterology*. 2011;106(5):981-7. doi:10.1038/ajg.2010.493.
91. Chande N, Patton PH, Tsoulis DJ, Thomas BS, MacDonald JK. Azathioprine or 6-mercaptopurine for maintenance of remission in Crohn's disease. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2015(10):Cd000067. doi:10.1002/14651858.CD000067.pub3.
92. Chang S, Malter L, Hudesman D. Disease monitoring in inflammatory bowel disease. *World journal of gastroenterology*. 2015;21(40):11246-59. doi:10.3748/wjg.v21.i40.11246.
93. Chen CC, Huang JL, Chang CJ, Kong MS. Fecal calprotectin as a correlative marker in clinical severity of infectious diarrhea and usefulness in evaluating bacterial or viral pathogens in children. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2012;55(5):541-7. doi:10.1097/MPG.0b013e318262a718.
94. Chen YH, Wang L, Feng SY, Cai WM, Chen XF, Huang ZM. The Relationship between C-Reactive Protein/Albumin Ratio and Disease Activity in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology research and practice*. 2020;2020:3467419. doi:10.1155/2020/3467419.
95. Choy PY, Bissett IP, Docherty JG, Parry BR, Merrie A, Fitzgerald A. Stapled versus handsewn methods for ileocolic anastomoses. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2011(9):Cd004320. doi:10.1002/14651858.CD004320.pub3.
96. Imai Y, Kuba K, Neely GG, Yaghubian-Malhami R, Perkmann T, van Loo G et al. Identification of oxidative stress and Toll-like receptor 4 signaling as a key pathway of acute lung injury. *Cell*. 2008;133(2):235-49. doi:10.1016/j.cell.2008.02.043.
97. Jarlborg M, Courvoisier DS, Lamacchia C, Martinez Prat L, Mahler M, Bentow C et al. Serum calprotectin: a promising biomarker in rheumatoid arthritis and axial spondyloarthritis. *Arthritis research & therapy*. 2020;22(1):105. doi:10.1186/s13075-020-02190-3.
98. Jaspers GJ, Verkade HJ, Escher JC, de Ridder L, Taminiau JA, Rings EH. Azathioprine maintains first remission in newly diagnosed pediatric Crohn's disease. *Inflammatory bowel diseases*. 2006;12(9):831-6. doi:10.1097/01.mib.0000232470.00703.67.
99. Johnson LM, White SK, Schmidt RL. Are calprotectin and lactoferrin equivalent screening tests for inflammatory bowel disease? *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2020;510:191-5. doi:10.1016/j.cca.2020.07.021.
100. Jones J, Loftus EV, Jr., Panaccione R, Chen LS, Peterson S, McConnell J et al. Relationships between disease activity and serum and fecal biomarkers in patients with Crohn's disease. *Clinical gastroenterology and hepatology*

- : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association. 2008;6(11):1218-24. doi:10.1016/j.cgh.2008.06.010.
101. Joshi S, Lewis SJ, Creanor S, Ayling RM. Age-related faecal calprotectin, lactoferrin and tumour M2-PK concentrations in healthy volunteers. *Annals of clinical biochemistry*. 2010;47(Pt 3):259-63. doi:10.1258/acb.2009.009061.
 102. Jou JM, Lewis SM, Briggs C, Lee SH, De La Salle B, McFadden S. ICSH review of the measurement of the erythrocyte sedimentation rate. *International journal of laboratory hematology*. 2011;33(2):125-32. doi:10.1111/j.1751-553X.2011.01302.x.
 103. Kallel L, Ayadi I, Matri S, Fekih M, Mahmoud NB, Feki M et al. Faecal calprotectin is a predictive marker of relapse in Crohn's disease involving the colon: a prospective study. *European journal of gastroenterology & hepatology*. 2010;22(3):340-5. doi:10.1097/MEG.0b013e32832bab49.
 104. Kamath AF, Nelson CL, Elkassabany N, Guo Z, Liu J. Low Albumin Is a Risk Factor for Complications after Revision Total Knee Arthroplasty. *The journal of knee surgery*. 2017;30(3):269-75. doi:10.1055/s-0036-1584575.
 105. Kaplan M, Ates I, Akpınar MY, Yuksel M, Kuzu UB, Kacar S et al. Predictive value of C-reactive protein/albumin ratio in acute pancreatitis. *Hepatobiliary & pancreatic diseases international : HBPDI*. 2017;16(4):424-30. doi:10.1016/s1499-3872(17)60007-9.
 106. Karas PL, Goh SL, Dhital K. Is low serum albumin associated with postoperative complications in patients undergoing cardiac surgery? *Interactive cardiovascular and thoracic surgery*. 2015;21(6):777-86. doi:10.1093/icvts/ivv247.
 107. Kathiresan S, Larson MG, Vasani RS, Guo CY, Gona P, Keaney JF, Jr. et al. Contribution of clinical correlates and 13 C-reactive protein gene polymorphisms to interindividual variability in serum C-reactive protein level. *Circulation*. 2006;113(11):1415-23. doi:10.1161/circulationaha.105.591271.
 108. Kell DB, Heyden EL, Pretorius E. The Biology of Lactoferrin, an Iron-Binding Protein That Can Help Defend Against Viruses and Bacteria. *Front Immunol*. 2020;11:1221. doi:10.3389/fimmu.2020.01221.
 109. Kishawi D, Schwarzman G, Mejia A, Hussain AK, Gonzalez MH. Low Preoperative Albumin Levels Predict Adverse Outcomes After Total Joint Arthroplasty. *The Journal of bone and joint surgery American volume*. 2020;102(10):889-95. doi:10.2106/jbjs.19.00511.
 110. Kolho KL, Alftan H. Concentration of fecal calprotectin in 11,255 children aged 0-18 years. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2020;55(9):1024-7. doi:10.1080/00365521.2020.1794026.
 111. Kolho KL, Alftan H, Hämäläinen E. Effect of bowel cleansing for colonoscopy on fecal calprotectin levels in pediatric patients. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2012;55(6):751-3. doi:10.1097/MPG.0b013e31825f4c77.
 112. Koray M, Atalay B, Akgul S, Oguz FS, Mumcu G, Saruhanoglu A. Relationship between salivary calprotectin levels and recurrent aphthous stomatitis: A preliminary study. *Nigerian journal of clinical practice*. 2018;21(3):271-5. doi:10.4103/njcp.njcp_23_17.
 113. Kotze PG, Yamamoto T, Danese S, Suzuki Y, Teixeira FV, de Albuquerque IC et al. Direct retrospective comparison of adalimumab and infliximab in preventing early postoperative endoscopic recurrence after ileocaecal resection for Crohn's disease: results from the MULTIPER database. *Journal of Crohn's & colitis*. 2015;9(7):541-7. doi:10.1093/ecco-jcc/jjv055.
 114. Kristensen V, Malmström GH, Skar V, Røseth A, Moum B. Clinical importance of faecal calprotectin variability in inflammatory bowel disease: intra-individual variability and standardisation of sampling procedure. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2016;51(5):548-55. doi:10.3109/00365521.2015.1117650.
 115. Kugathasan S, Denson LA, Walters TD, Kim MO, Marigorta UM, Schirmer M et al. Prediction of complicated disease course for children newly diagnosed with Crohn's disease: a multicentre inception cohort study. *Lancet (London, England)*. 2017;389(10080):1710-8. doi:10.1016/s0140-6736(17)30317-3.
 116. Kushner I, Rzewnicki D, Samols D. What does minor elevation of C-reactive protein signify? *The American journal of medicine*. 2006;119(2):166.e17-28. doi:10.1016/j.amjmed.2005.06.057.
 117. Kyle BD, Agbor TA, Sharif S, Chauhan U, Marshall J, Halder SLS et al. Faecal Calprotectin, CRP and Leucocytes in IBD Patients: Comparison of Biomarkers With Biopsy Results. *Journal of the Canadian Association of Gastroenterology*. 2021;4(2):84-90. doi:10.1093/jcag/gwaa009.
 118. Langhorst J, Boone J, Lauche R, Rueffer A, Dobos G. Faecal Lactoferrin, Calprotectin, PMN-elastase, CRP, and White Blood Cell Count as Indicators for Mucosal Healing and Clinical Course of Disease in Patients with Mild to Moderate Ulcerative Colitis: Post Hoc Analysis of a Prospective Clinical Trial. *Journal of Crohn's & colitis*. 2016;10(7):786-94. doi:10.1093/ecco-jcc/jjw044.
 119. Lazzarini M, Martellosi S, Magazzù G, Pellegrino S, Lucanto MC, Barabino A et al. Effect of thalidomide on clinical remission in children and adolescents with refractory Crohn disease: a randomized clinical trial. *Jama*. 2013;310(20):2164-73. doi:10.1001/jama.2013.280777.
 120. Leclerc E, Fritz G, Vetter SW, Heizmann CW. Binding of S100 proteins to RAGE: an update. *Biochimica et biophysica acta*. 2009;1793(6):993-1007. doi:10.1016/j.bbamcr.2008.11.016.

121. Lee JL, Yoon YS, Yu CS. Treatment Strategy for Perianal Fistulas in Crohn Disease Patients: The Surgeon's Point of View. *Annals of coloproctology*. 2021;37(1):5-15. doi:10.3393/ac.2021.02.08.
122. Lee YG, Hong J, Lee PH, Lee J, Park SW, Kim D et al. Serum Calprotectin Is a Potential Marker in Patients with Asthma. *Journal of Korean medical science*. 2020;35(43):e362. doi:10.3346/jkms.2020.35.e362.
123. Lemmens B, de Buck van Overstraeten A, Arijs I, Sagaert X, Van Assche G, Vermeire S et al. Submucosal Plexitis as a Predictive Factor for Postoperative Endoscopic Recurrence in Patients with Crohn's Disease Undergoing a Resection with Ileocolonic Anastomosis: Results from a Prospective Single-centre Study. *Journal of Crohn's & colitis*. 2017;11(2):212-20. doi:10.1093/ecco-jcc/jjw135.
124. Levine A, Koletzko S, Turner D, Escher JC, Cucchiara S, de Ridder L et al. ESPGHAN revised porto criteria for the diagnosis of inflammatory bowel disease in children and adolescents. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2014;58(6):795-806. doi:10.1097/mpg.0000000000000239.
125. Levine JS, Burakoff R. Extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology & hepatology*. 2011;7(4):235-41.
126. Li T, Chen RR, Gong HP, Wang BF, Wu XX, Chen YQ et al. FGL2 regulates IKK/NF- κ B signaling in intestinal epithelial cells and lamina propria dendritic cells to attenuate dextran sulfate sodium-induced colitis. *Molecular immunology*. 2020;117:84-93. doi:10.1016/j.molimm.2019.11.001.
127. Lillehei CW, Leichtner A, Bousvaros A, Shamberger RC. Restorative proctocolectomy and ileal pouch-anal anastomosis in children. *Diseases of the colon and rectum*. 2009;52(9):1645-9. doi:10.1007/DCR.0b013e3181a8fd5f.
128. Lippi G, Sanchis-Gomar F. Procalcitonin in inflammatory bowel disease: Drawbacks and opportunities. *World journal of gastroenterology*. 2017;23(47):8283-90. doi:10.3748/wjg.v23.i47.8283.
129. Liu WB, Lü YM, Jin Z, Yang XL. [Expression of calprotectin in colon mucosa and fecal of patients with ulcerative colitis]. *Beijing da xue xue bao Yi xue ban = Journal of Peking University Health sciences*. 2005;37(2):179-82.
130. Lubega J, Davies TJ. A comparison of serum mucoprotein with serum alpha 1 acid glycoprotein, haptoglobin, and alpha 1 antitrypsin assays in monitoring inflammatory bowel disease. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 1990;188(1):59-69. doi:10.1016/0009-8981(90)90146-j.
131. Machahua C, Guler SA, Horn MP, Planas-Cerezales L, Montes-Worboys A, Geiser TK et al. Serum calprotectin as new biomarker for disease severity in idiopathic pulmonary fibrosis: a cross-sectional study in two independent cohorts. *BMJ open respiratory research*. 2021;8(1). doi:10.1136/bmjresp-2020-000827.
132. Maiden L, Thjodleifsson B, Theodors A, Gonzalez J, Bjarnason I. A quantitative analysis of NSAID-induced small bowel pathology by capsule enteroscopy. *Gastroenterology*. 2005;128(5):1172-8. doi:10.1053/j.gastro.2005.03.020.
133. Malham M, Carlsen K, Riis L, Paerregaard A, Vind I, Fenger M et al. Plasma calprotectin is superior to serum calprotectin as a biomarker of intestinal inflammation in ulcerative Colitis. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2019;54(10):1214-9. doi:10.1080/00365521.2019.1665097.
134. Mao R, Xiao YL, Gao X, Chen BL, He Y, Yang L et al. Fecal calprotectin in predicting relapse of inflammatory bowel diseases: a meta-analysis of prospective studies. *Inflammatory bowel diseases*. 2012;18(10):1894-9. doi:10.1002/ibd.22861.
135. Maor I, Rainis T, Lanir A, Lavy A. Adenosine deaminase activity in patients with Crohn's disease: distinction between active and nonactive disease. *European journal of gastroenterology & hepatology*. 2011;23(7):598-602. doi:10.1097/MEG.0b013e328346e205.
136. Markowitz J, Grancher K, Kohn N, Lesser M, Daum F. A multicenter trial of 6-mercaptopurine and prednisone in children with newly diagnosed Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2000;119(4):895-902. doi:10.1053/gast.2000.18144.
137. Menees SB, Powell C, Kurlander J, Goel A, Chey WD. A meta-analysis of the utility of C-reactive protein, erythrocyte sedimentation rate, fecal calprotectin, and fecal lactoferrin to exclude inflammatory bowel disease in adults with IBS. *The American journal of gastroenterology*. 2015;110(3):444-54. doi:10.1038/ajg.2015.6.
138. Miller DT, Zee RY, Suk Danik J, Kozlowski P, Chasman DI, Lazarus R et al. Association of common CRP gene variants with CRP levels and cardiovascular events. *Annals of human genetics*. 2005;69(Pt 6):623-38. doi:10.1111/j.1529-8817.2005.00210.x.
139. Misteli H, Koh CE, Wang LM, Mortensen NJ, George B, Guy R. Myenteric plexitis at the proximal resection margin is a predictive marker for surgical recurrence of ileocaecal Crohn's disease. *Colorectal disease : the official journal of the Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland*. 2015;17(4):304-10. doi:10.1111/codi.12896.
140. Mori A, Mitsuyama K, Sakemi R, Yoshioka S, Fukunaga S, Kuwaki K et al. Evaluation of Serum Calprotectin Levels in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *The Kurume medical journal*. 2021;66(4):209-15. doi:10.2739/kurumemedj.MS664009.
141. Morowitz DA, Allen LW, Kirsner JB. Thrombocytosis in chronic inflammatory bowel disease. *Annals of internal medicine*. 1968;68(5):1013-21. doi:10.7326/0003-4819-68-5-1013.

142. Mosli MH, Zou G, Garg SK, Feagan SG, MacDonald JK, Chande N et al. C-Reactive Protein, Fecal Calprotectin, and Stool Lactoferrin for Detection of Endoscopic Activity in Symptomatic Inflammatory Bowel Disease Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *The American journal of gastroenterology*. 2015;110(6):802-19; quiz 20. doi:10.1038/ajg.2015.120.
143. Naismith GD, Smith LA, Barry SJ, Munro JI, Laird S, Rankin K et al. A prospective evaluation of the predictive value of faecal calprotectin in quiescent Crohn's disease. *Journal of Crohn's & colitis*. 2014;8(9):1022-9. doi:10.1016/j.crohns.2014.01.029.
144. Nancey S, Boschetti G, Moussata D, Cotte E, Peyras J, Cuerq C et al. Neopterin is a novel reliable fecal marker as accurate as calprotectin for predicting endoscopic disease activity in patients with inflammatory bowel diseases. *Inflammatory bowel diseases*. 2013;19(5):1043-52. doi:10.1097/MIB.0b013e3182807577.
145. Nancey S, Perret-Liaudet A, Moussata D, Graber I, Boschetti G, Renaud B et al. Urinary neopterin is a valuable tool in monitoring Crohn's disease activity. *Inflammatory bowel diseases*. 2008;14(11):1548-54. doi:10.1002/ibd.20510.
146. Nevorál J, Kotalová R, Hradský O, Valtrova V, Zarubová K, Lastovická J et al. Symptom positivity is essential for omitting biopsy in children with suspected celiac disease according to the new ESPGHAN guidelines. *European journal of pediatrics*. 2013. doi:10.1007/s00431-013-2215-0.
147. Nguyen DL, Palmer LB, Nguyen ET, McClave SA, Martindale RG, Bechtold ML. Specialized enteral nutrition therapy in Crohn's disease patients on maintenance infliximab therapy: a meta-analysis. *Therapeutic advances in gastroenterology*. 2015;8(4):168-75. doi:10.1177/1756283x15578607.
148. Nikolaus S, Schulte B, Al-Massad N, Thieme F, Schulte DM, Bethge J et al. Increased Tryptophan Metabolism Is Associated With Activity of Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology*. 2017;153(6):1504-16.e2. doi:10.1053/j.gastro.2017.08.028.
149. Nikolaus S, Waetzig GH, Butzin S, Ziolkiewicz M, Al-Massad N, Thieme F et al. Evaluation of interleukin-6 and its soluble receptor components sIL-6R and sgp130 as markers of inflammation in inflammatory bowel diseases. *International journal of colorectal disease*. 2018;33(7):927-36. doi:10.1007/s00384-018-3069-8.
150. Ning L, Li S, Gao J, Ding L, Wang C, Chen W et al. Tenascin-C Is Increased in Inflammatory Bowel Disease and Is Associated with response to Infliximab Therapy. *BioMed research international*. 2019;2019:1475705. doi:10.1155/2019/1475705.
151. Ohem J, Hradský O, Zarubová K, Copová I, Bukovská P, Prusa R et al. Evaluation of Infliximab Therapy in Children with Crohn's Disease Using Trough Levels Predictors. *Digestive diseases (Basel, Switzerland)*. 2018;36(1):40-8. doi:10.1159/000477962.
152. Oikonomou KA, Kapsoritakis AN, Theodoridou C, Karangelis D, Germenis A, Stefanidis I et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in inflammatory bowel disease: association with pathophysiology of inflammation, established markers, and disease activity. *Journal of gastroenterology*. 2012;47(5):519-30. doi:10.1007/s00535-011-0516-5.
153. Okada K, Okabe M, Kimura Y, Itoh H, Ikemoto M. Serum S100A8/A9 as a Potentially Sensitive Biomarker for Inflammatory Bowel Disease. *Laboratory medicine*. 2019;50(4):370-80. doi:10.1093/labmed/lmz003.
154. Olafsdottir I, Nemeth A, Lörinc E, Toth E, Agardh D. Value of Fecal Calprotectin as a Biomarker for Juvenile Polyps in Children Investigated With Colonoscopy. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2016;62(1):43-6. doi:10.1097/mpg.0000000000000893.
155. Oord T, Hornung N. Fecal calprotectin in healthy children. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 2014;74(3):254-8. doi:10.3109/00365513.2013.879732.
156. Palder SB, Shandling B, Bilik R, Griffiths AM, Sherman P. Perianal complications of pediatric Crohn's disease. *Journal of pediatric surgery*. 1991;26(5):513-5. doi:10.1016/0022-3468(91)90694-o.
157. Patel V, Wang Y, MacDonald JK, McDonald JW, Chande N. Methotrexate for maintenance of remission in Crohn's disease. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2014;2014(8):Cd006884. doi:10.1002/14651858.CD006884.pub3.
158. Peterson CG, Eklund E, Taha Y, Raab Y, Carlson M. A new method for the quantification of neutrophil and eosinophil cationic proteins in feces: establishment of normal levels and clinical application in patients with inflammatory bowel disease. *The American journal of gastroenterology*. 2002;97(7):1755-62. doi:10.1111/j.1572-0241.2002.05837.x.
159. Peura S, Fall T, Almqvist C, Andolf E, Hedman A, Pershagen G et al. Normal values for calprotectin in stool samples of infants from the population-based longitudinal born into life study. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 2018;78(1-2):120-4. doi:10.1080/00365513.2017.1420216.
160. Pigneur B, Seksik P, Viola S, Viala J, Beaugerie L, Girardet JP et al. Natural history of Crohn's disease: comparison between childhood- and adult-onset disease. *Inflammatory bowel diseases*. 2010;16(6):953-61. doi:10.1002/ibd.21152.
161. Pinto-Lopes P, Afonso J, Pinto-Lopes R, Rocha C, Lago P, Gonçalves R et al. Serum Dipeptidyl Peptidase 4: A Predictor of Disease Activity and Prognosis in Inflammatory Bowel Disease. *Inflammatory bowel diseases*. 2020;26(11):1707-19. doi:10.1093/ibd/izz319.

162. Polites SF, Potter DD, Moir CR, Zarroug AE, Stephens MC, Tung J et al. Long-term outcomes of ileal pouch-anal anastomosis for pediatric chronic ulcerative colitis. *Journal of pediatric surgery*. 2015;50(10):1625-9. doi:10.1016/j.jpedsurg.2015.03.044.
163. 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. *Paediatric drugs*. 2021;23(2):183-94. doi:10.1007/s40272-021-00439-1.
164. Poullis A, Foster R, Mendall MA, Shreeve D, Wiener K. Proton pump inhibitors are associated with elevation of faecal calprotectin and may affect specificity. *European journal of gastroenterology & hepatology*. 2003;15(5):573-4; author reply 4. doi:10.1097/00042737-200305000-00021.
165. Prideaux L, De Cruz P, Ng SC, Kamm MA. Serological antibodies in inflammatory bowel disease: a systematic review. *Inflammatory bowel diseases*. 2012;18(7):1340-55. doi:10.1002/ibd.21903.
166. Punati J, Markowitz J, Lerer T, Hyams J, Kugathasan S, Griffiths A et al. Effect of early immunomodulator use in moderate to severe pediatric Crohn disease. *Inflammatory bowel diseases*. 2008;14(7):949-54. doi:10.1002/ibd.20412.
167. Qin G, Tu J, Liu L, Luo L, Wu J, Tao L et al. Serum Albumin and C-Reactive Protein/Albumin Ratio Are Useful Biomarkers of Crohn's Disease Activity. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*. 2016;22:4393-400. doi:10.12659/msm.897460.
168. Qiu Y, Mao R, Chen BL, He Y, Zeng ZR, Xue L et al. Fecal calprotectin for evaluating postoperative recurrence of Crohn's disease: a meta-analysis of prospective studies. *Inflammatory bowel diseases*. 2015;21(2):315-22. doi:10.1097/mib.0000000000000262.
169. Ramsay ES, Lerman MA. How to use the erythrocyte sedimentation rate in paediatrics. *Archives of disease in childhood Education and practice edition*. 2015;100(1):30-6. doi:10.1136/archdischild-2013-305349.
170. Reese GE, Constantinides VA, Simillis C, Darzi AW, Orchard TR, Fazio VW et al. Diagnostic precision of anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies and perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease. *The American journal of gastroenterology*. 2006;101(10):2410-22. doi:10.1111/j.1572-0241.2006.00840.x.
171. Resegotti A, Astegiano M, Farina EC, Ciccone G, Avagnina G, Giustetto A et al. Side-to-side stapled anastomosis strongly reduces anastomotic leak rates in Crohn's disease surgery. *Diseases of the colon and rectum*. 2005;48(3):464-8. doi:10.1007/s10350-004-0786-6.
172. Riello L, Talbotec C, Garnier-Lengliné H, Pigneur B, Svahn J, Canioni D et al. Tolerance and efficacy of azathioprine in pediatric Crohn's disease. *Inflammatory bowel diseases*. 2011;17(10):2138-43. doi:10.1002/ibd.21612.
173. Roca M, Rodriguez Varela A, Donat E, Cano F, Hervas D, Armisen A et al. Fecal Calprotectin and Eosinophil-derived Neurotoxin in Healthy Children Between 0 and 12 Years. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2017;65(4):394-8. doi:10.1097/mpg.0000000000001542.
174. Romeo E, Jasonni V, Caldaro T, Barabino A, Mattioli G, Vignola S et al. Strictureplasty and intestinal resection: different options in complicated pediatric-onset Crohn disease. *Journal of pediatric surgery*. 2012;47(5):944-8. doi:10.1016/j.jpedsurg.2012.01.054.
175. Rosen MJ, Dhawan A, Saeed SA. Inflammatory Bowel Disease in Children and Adolescents. *JAMA pediatrics*. 2015;169(11):1053-60. doi:10.1001/jamapediatrics.2015.1982.
176. Røseth AG, Fagerhol MK, Aadland E, Schjønsby H. Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. A methodologic study. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 1992;27(9):793-8. doi:10.3109/00365529209011186.
177. Ruummele FM, Rosh J, Faubion WA, Dubinsky MC, Turner D, Lazar A et al. Efficacy of Adalimumab for Treatment of Perianal Fistula in Children with Moderately to Severely Active Crohn's Disease: Results from IMaGInE 1 and IMaGInE 2. *Journal of Crohn's & colitis*. 2018;12(10):1249-54. doi:10.1093/ecco-jcc/jjy087.
178. Ruffolo C, Scarpa M, Bassi N. Infliximab, azathioprine, or combination therapy for Crohn's disease. *The New England journal of medicine*. 2010;363(11):1086-7; author reply 7-8. doi:10.1056/NEJMc1005805.
179. Rugtveit J, Fagerhol MK. Age-dependent variations in fecal calprotectin concentrations in children. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2002;34(3):323-4; author reply 4-5. doi:10.1097/00005176-200203000-00022.
180. Rutgeerts P, Geboes K, Vantrappen G, Beyls J, Kerremans R, Hiele M. Predictability of the postoperative course of Crohn's disease. *Gastroenterology*. 1990;99(4):956-63. doi:10.1016/0016-5085(90)90613-6.
181. Rutgeerts P, Geboes K, Vantrappen G, Kerremans R, Coenegrachts JL, Coremans G. Natural history of recurrent Crohn's disease at the ileocolonic anastomosis after curative surgery. *Gut*. 1984;25(6):665-72. doi:10.1136/gut.25.6.665.
182. Sahin Y, Yucetas U, Ates HA, Erkan E, Yucetas E, Temiz MZ et al. Improving the diagnosis of high grade and stage bladder cancer by detecting increased urinary calprotectin expression in tumor tissue and tumor-associated inflammatory response. *Investigative and clinical urology*. 2019;60(5):343-50. doi:10.4111/icu.2019.60.5.343.

183. Saito S, Kato J, Hiraoka S, Horii J, Suzuki H, Higashi R et al. DNA methylation of colon mucosa in ulcerative colitis patients: correlation with inflammatory status. *Inflammatory bowel diseases*. 2011;17(9):1955-65. doi:10.1002/ibd.21573.
184. Sajjadi M, Gholamrezaei A, Daryani NE. No association between serum adenosine deaminase activity and disease activity in Crohn's disease. *Digestive diseases and sciences*. 2015;60(6):1755-60. doi:10.1007/s10620-014-3510-y.
185. Seringec Akkececi N, Yildirim Cetin G, Gogebakan H, Acipayam C. The C-Reactive Protein/Albumin Ratio and Complete Blood Count Parameters as Indicators of Disease Activity in Patients with Takayasu Arteritis. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*. 2019;25:1401-9. doi:10.12659/msm.912495.
186. Shabani F, Farasat A, Mahdavi M, Gheibi N. Calprotectin (S100A8/S100A9): a key protein between inflammation and cancer. *Inflammation Research*. 2018;67:1-12. doi:10.1007/s00011-018-1173-4.
187. Shi H, Zuo Y, Yalavarthi S, Gockman K, Zuo M, Madison JA et al. Neutrophil calprotectin identifies severe pulmonary disease in COVID-19. *Journal of leukocyte biology*. 2021;109(1):67-72. doi:10.1002/jlb.3covcra0720-359r.
188. Scherckenbach LA, Stumpf JL. Methotrexate for the Management of Crohn's Disease in Children. *The Annals of pharmacotherapy*. 2016;50(1):60-9. doi:10.1177/1060028015613527.
189. Simillis C, Purkayastha S, Yamamoto T, Strong SA, Darzi AW, Tekkis PP. A meta-analysis comparing conventional end-to-end anastomosis vs. other anastomotic configurations after resection in Crohn's disease. *Diseases of the colon and rectum*. 2007;50(10):1674-87. doi:10.1007/s10350-007-9011-8.
190. Sipponen T, Kolho KL. Faecal calprotectin in children with clinically quiescent inflammatory bowel disease. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2010;45(7-8):872-7. doi:10.3109/00365521003782389.
191. Sjöberg D, Holmström T, Larsson M, Nielsen AL, Holmquist L, Rönnblom A. Anemia in a population-based IBD cohort (ICURE): still high prevalence after 1 year, especially among pediatric patients. *Inflammatory bowel diseases*. 2014;20(12):2266-70. doi:10.1097/mib.0000000000000191.
192. Solem CA, Loftus EV, Jr., Tremaine WJ, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Sandborn WJ. Correlation of C-reactive protein with clinical, endoscopic, histologic, and radiographic activity in inflammatory bowel disease. *Inflammatory bowel diseases*. 2005;11(8):707-12. doi:10.1097/01.mib.0000173271.18319.53.
193. Sominen HK, Venkateswaran S, Kilaru V, Marigorta UM, Mo A, Okou DT et al. Blood-Derived DNA Methylation Signatures of Crohn's Disease and Severity of Intestinal Inflammation. *Gastroenterology*. 2019;156(8):2254-65.e3. doi:10.1053/j.gastro.2019.01.270.
194. Spencer EA, Jarchin L, Rolfes P, Khaitov S, Greenstein A, Dubinsky MC. Outcomes of Primary Ileocolic Resection for Pediatric Crohn Disease in the Biologic Era. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2021;73(6):710-6. doi:10.1097/mpg.0000000000003241.
195. Stanke-Labesque F, Pofelski J, Moreau-Gaudry A, Bessard G, Bonaz B. Urinary leukotriene E4 excretion: a biomarker of inflammatory bowel disease activity. *Inflammatory bowel diseases*. 2008;14(6):769-74. doi:10.1002/ibd.20403.
196. Suárez Ferrer C, Abadía Barno M, Martín Arranz E, Jochems A, García Ramírez L, Poza Cordon J et al. The use of serum calprotectin as a biomarker for inflammatory activity in inflammatory bowel disease. *Revista espanola de enfermedades digestivas : organo oficial de la Sociedad Espanola de Patologia Digestiva*. 2019;111(10):744-9. doi:10.17235/reed.2019.5797/2018.
197. Şumnu Ş, Mehtap Ö, Mersin S, Toptaş T, Görür G, Gedük A et al. Serum calprotectin (S100A8/A9) levels as a new potential biomarker of treatment response in Hodgkin lymphoma. *International journal of laboratory hematology*. 2021;43(4):638-44. doi:10.1111/ijlh.13559.
198. Swaminath A, Feathers A, Ananthkrishnan AN, Falzon L, Li Ferry S. Systematic review with meta-analysis: enteral nutrition therapy for the induction of remission in paediatric Crohn's disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2017;46(7):645-56. doi:10.1111/apt.14253.
199. Sýkora J, Pomahačová R, Kreslová M, Cvalínová D, Štych P, Schwarz J. Current global trends in the incidence of pediatric-onset inflammatory bowel disease. *World journal of gastroenterology*. 2018;24(25):2741-63. doi:10.3748/wjg.v24.i25.2741.
200. Szalai AJ, Wu J, Lange EM, McCrory MA, Langefeld CD, Williams A et al. Single-nucleotide polymorphisms in the C-reactive protein (CRP) gene promoter that affect transcription factor binding, alter transcriptional activity, and associate with differences in baseline serum CRP level. *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)*. 2005;83(6):440-7. doi:10.1007/s00109-005-0658-0.
201. Šerclová Z, Ryska O, Bortlík M, Duricova D, Gürlich R, Lisý P et al., editors. *Doporuc en h postupy chirurgick h f by pacientx s nespecifick | mi str evnl mi zd nh ty l. c d st: pr edoperac ni pu i prava Guidelines of surgical treatment of patients with inflammatory bowel diseases@ part 1: pr... operative preparation*2015.
202. Tahara T, Hirata I, Nakano N, Nagasaka M, Nakagawa Y, Shibata T et al. Comprehensive DNA Methylation Profiling of Inflammatory Mucosa in Ulcerative Colitis. *Inflammatory bowel diseases*. 2017;23(1):165-73. doi:10.1097/mib.0000000000000990.

203. Takayama Y, Aoki R, Uchida R, Tajima A, Aoki-Yoshida A. Role of CXC chemokine receptor type 4 as a lactoferrin receptor. *Biochemistry and cell biology = Biochimie et biologie cellulaire*. 2017;95(1):57-63. doi:10.1139/bcb-2016-0039.
204. Takeuchi O, Hoshino K, Kawai T, Sanjo H, Takada H, Ogawa T et al. Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components. *Immunity*. 1999;11(4):443-51. doi:10.1016/s1074-7613(00)80119-3.
205. Tekkis PP, Purkayastha S, Lanitis S, Athanasiou T, Heriot AG, Orchard TR et al. A comparison of segmental vs subtotal/total colectomy for colonic Crohn's disease: a meta-analysis. *Colorectal disease : the official journal of the Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland*. 2006;8(2):82-90. doi:10.1111/j.1463-1318.2005.00903.x.
206. Teng X, Yang Y, Liu L, Yang L, Wu J, Sun M et al. Evaluation of inflammatory bowel disease activity in children using serum trefoil factor peptide. *Pediatric research*. 2020;88(5):792-5. doi:10.1038/s41390-020-0812-y.
207. Tham YS, Yung DE, Fay S, Yamamoto T, Ben-Horin S, Eliakim R et al. Fecal calprotectin for detection of postoperative endoscopic recurrence in Crohn's disease: systematic review and meta-analysis. *Therapeutic advances in gastroenterology*. 2018;11:1756284818785571. doi:10.1177/1756284818785571.
208. Thoreson R, Cullen JJ. Pathophysiology of inflammatory bowel disease: an overview. *The Surgical clinics of North America*. 2007;87(3):575-85. doi:10.1016/j.suc.2007.03.001.
209. Thorsvik S, Damås JK, Granlund AV, Flo TH, Bergh K, Østvik AE et al. Fecal neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker for inflammatory bowel disease. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2017;32(1):128-35. doi:10.1111/jgh.13598.
210. Tibble J, Sigthorsson G, Foster R, Sherwood R, Fagerhol M, Bjarnason I. Faecal calprotectin and faecal occult blood tests in the diagnosis of colorectal carcinoma and adenoma. *Gut*. 2001;49(3):402-8. doi:10.1136/gut.49.3.402.
211. Tibble JA, Sigthorsson G, Bridger S, Fagerhol MK, Bjarnason I. Surrogate markers of intestinal inflammation are predictive of relapse in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2000;119(1):15-22. doi:10.1053/gast.2000.8523.
212. Tilakaratne S, Lemberg DA, Leach ST, Day AS. C-reactive protein and disease activity in children with Crohn's disease. *Digestive diseases and sciences*. 2010;55(1):131-6. doi:10.1007/s10620-009-1017-8.
213. Tishkowsky K, Gupta V. Erythrocyte Sedimentation Rate. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing
Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC.; 2021.
214. Toh JW, Stewart P, Rickard MJ, Leong R, Wang N, Young CJ. Indications and surgical options for small bowel, large bowel and perianal Crohn's disease. *World journal of gastroenterology*. 2016;22(40):8892-904. doi:10.3748/wjg.v22.i40.8892.
215. Tøn H, Brandsnes, Dale S, Holtlund J, Skuibina E, Schjønsby H et al. Improved assay for fecal calprotectin. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2000;292(1-2):41-54. doi:10.1016/s0009-8981(99)00206-5.
216. Tsianos EV, Katsanos KH, Tsianos VE. Role of genetics in the diagnosis and prognosis of Crohn's disease. *World journal of gastroenterology*. 2012;18(2):105-18. doi:10.3748/wjg.v18.i2.105.
217. Tung J, Loftus EV, Jr., Freese DK, El-Youssef M, Zinsmeister AR, Melton LJ, 3rd et al. A population-based study of the frequency of corticosteroid resistance and dependence in pediatric patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Inflammatory bowel diseases*. 2006;12(12):1093-100. doi:10.1097/01.mib.0000235835.32176.85.
218. Turner D, Ruemmele FM, Orlanski-Meyer E, Griffiths AM, de Carpi JM, Bronsky J 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. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2018;67(2):257-91. doi:10.1097/mpg.0000000000002035.
219. Turner D, Ruemmele FM, Orlanski-Meyer E, Griffiths AM, de Carpi JM, Bronsky J 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. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2018;67(2):292-310. doi:10.1097/mpg.0000000000002036.
220. Turner D, Yerushalmi B, Kori M, Broide E, Mozer-Glassberg Y, Shaoul R et al. Once- Versus Twice-daily Mesalazine to Induce Remission in Paediatric Ulcerative Colitis: A Randomised Controlled Trial. *Journal of Crohn's & colitis*. 2017;11(5):527-33. doi:10.1093/ecco-jcc/jjw180.
221. Van Limbergen J, Russell RK, Drummond HE, Aldhous MC, Round NK, Nimmo ER et al. Definition of phenotypic characteristics of childhood-onset inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2008;135(4):1114-22. doi:10.1053/j.gastro.2008.06.081.

222. van Rhee PF, Aloï M, Assa A, Bronsky J, Escher JC, Fagerberg UL et al. The Medical Management of Paediatric Crohn's Disease: an ECCO-ESPGHAN Guideline Update. *Journal of Crohn's & colitis*. 2020. doi:10.1093/ecco-jcc/jjaa161.
223. Vasiliauskas EA, Kam LY, Karp LC, Gaiennie J, Yang H, Targan SR. Marker antibody expression stratifies Crohn's disease into immunologically homogeneous subgroups with distinct clinical characteristics. *Gut*. 2000;47(4):487-96. doi:10.1136/gut.47.4.487.
224. Vavricka SR, Heinrich H, Buetikofer S, Breitenmoser F, Burri E, Schneider-Yin X et al. The Vampire Study: Significant elevation of faecal calprotectin in healthy volunteers after 300 ml blood ingestion mimicking upper gastrointestinal bleeding. *United European gastroenterology journal*. 2018;6(7):1007-14. doi:10.1177/2050640618774416.
225. Velayutham R, Nair PP, Adole PS, Mehalingam V. Association of serum calprotectin with peripheral neuropathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Journal of family medicine and primary care*. 2021;10(4):1602-6. doi:10.4103/jfmpe.jfmpe_1165_20.
226. Verdier J, Breunig IR, Ohse MC, Roubrocks S, Kleinfeld S, Roy S et al. Faecal Micro-RNAs in Inflammatory Bowel Diseases. *Journal of Crohn's & colitis*. 2020;14(1):110-7. doi:10.1093/ecco-jcc/jjz120.
227. Vernier-Massouille G, Balde M, Salleron J, Turck D, Dupas JL, Mouterde O et al. Natural history of pediatric Crohn's disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology*. 2008;135(4):1106-13. doi:10.1053/j.gastro.2008.06.079.
228. Vogl T, Tenbrock K, Ludwig S, Leukert N, Ehrhardt C, van Zoelen MA et al. Mrp8 and Mrp14 are endogenous activators of Toll-like receptor 4, promoting lethal, endotoxin-induced shock. *Nature medicine*. 2007;13(9):1042-9. doi:10.1038/nm1638.
229. Voudoukis E, Karmiris K, Koutroubakis IE. Multipotent role of platelets in inflammatory bowel diseases: a clinical approach. *World journal of gastroenterology*. 2014;20(12):3180-90. doi:10.3748/wjg.v20.i12.3180.
230. Walters TD, Kim MO, Denson LA, Griffiths AM, Dubinsky M, Markowitz J et al. Increased effectiveness of early therapy with anti-tumor necrosis factor- α vs an immunomodulator in children with Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2014;146(2):383-91. doi:10.1053/j.gastro.2013.10.027.
231. Wang C, Kou Y, Han Y, Li X. Early Serum Calprotectin (S100A8/A9) Predicts Delayed Cerebral Ischemia and Outcomes after Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Journal of stroke and cerebrovascular diseases : the official journal of National Stroke Association*. 2020;29(5):104770. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.104770.
232. Wener MH, Daum PR, McQuillan GM. The influence of age, sex, and race on the upper reference limit of serum C-reactive protein concentration. *The Journal of rheumatology*. 2000;27(10):2351-9.
233. Winter DA, Karolewska-Bochenek K, Lazowska-Przeorek I, Lionetti P, Mearin ML, Chong SK et al. Pediatric IBD-unclassified Is Less Common than Previously Reported; Results of an 8-Year Audit of the EUROKIDS Registry. *Inflammatory bowel diseases*. 2015;21(9):2145-53. doi:10.1097/mib.0000000000000483.
234. Winter HS, Krzeski P, Heyman MB, Iburguen-Secchia E, Iwanczak B, Kaczmarek M et al. High- and low-dose oral delayed-release mesalamine in children with mild-to-moderately active ulcerative colitis. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2014;59(6):767-72. doi:10.1097/mpg.0000000000000530.
235. Wirtz TH, Buendgens L, Weiskirchen R, Loosen SH, Haehnsen N, Puengel T et al. Association of Serum Calprotectin Concentrations with Mortality in Critically Ill and Septic Patients. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*. 2020;10(11). doi:10.3390/diagnostics10110990.
236. Wright EK, Kamm MA, De Cruz P, Hamilton AL, Ritchie KJ, Krejany EO et al. Measurement of fecal calprotectin improves monitoring and detection of recurrence of Crohn's disease after surgery. *Gastroenterology*. 2015;148(5):938-47.e1. doi:10.1053/j.gastro.2015.01.026.
237. Wu J, Tan W, Chen L, Huang Z, Mai S. Clinicopathologic and prognostic significance of C-reactive protein/albumin ratio in patients with solid tumors: an updated systemic review and meta-analysis. *Oncotarget*. 2018;9(17):13934-47. doi:10.18632/oncotarget.24172.
238. Xia C, Braunstein Z, Toomey AC, Zhong J, Rao X. S100 Proteins As an Important Regulator of Macrophage Inflammation. *Frontiers in Immunology*. 2018;8(1908). doi:10.3389/fimmu.2017.01908.
239. Yamamoto T, Fazio VW, Tekkis PP. Safety and efficacy of strictureplasty for Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis. *Diseases of the colon and rectum*. 2007;50(11):1968-86. doi:10.1007/s10350-007-0279-5.
240. Yarur AJ, Quintero MA, Jain A, Czul F, Barkin JS, Abreu MT. Serum Amyloid A as a Surrogate Marker for Mucosal and Histologic Inflammation in Patients with Crohn's Disease. *Inflammatory bowel diseases*. 2017;23(1):158-64. doi:10.1097/mib.0000000000000991.
241. Yılmaz B, Köklü S, Yüksel O, Arslan S. Serum beta 2-microglobulin as a biomarker in inflammatory bowel disease. *World journal of gastroenterology*. 2014;20(31):10916-20. doi:10.3748/wjg.v20.i31.10916.
242. Yousuf O, Mohanty BD, Martin SS, Joshi PH, Blaha MJ, Nasir K et al. High-sensitivity C-reactive protein and cardiovascular disease: a resolute belief or an elusive link? *Journal of the American College of Cardiology*. 2013;62(5):397-408. doi:10.1016/j.jacc.2013.05.016.

243. Zarubova K, Fabian O, Hradsky O, Lerchova T, Mikus F, Dotlacil V et al. Predictive value of tissue calprotectin for disease recurrence after ileocecal resection in pediatric Crohn's disease. *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia*. 2021. doi:10.5507/bp.2021.050.
244. Zarubova K, Hradsky O, Copova I, Rouskova B, Pos L, Skaba R et al. Endoscopic Recurrence 6 Months After Ileocecal Resection in Children With Crohn Disease Treated With Azathioprine. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2017;65(2):207-11. doi:10.1097/mpg.0000000000001470.
245. Zhou G, Song Y, Yang W, Guo Y, Fang L, Chen Y et al. ASCA, ANCA, ALCA and Many More: Are They Useful in the Diagnosis of Inflammatory Bowel Disease? *Digestive diseases (Basel, Switzerland)*. 2016;34(1-2):90-7. doi:10.1159/000442934.

11. Seznam publikací

11.1 Publikace v přímé souvislosti s tématem disertační práce

Hradsky O, Ohem J, Zarubova K, Mitrova K, Durilova M, Kotalova R, Nevoral J, Zemanova I, Dryak P, Bronsky J. - Disease activity is an important factor for indeterminate interferon- γ release assay results in children with inflammatory bowel disease, *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014 Mar;58(3):320-4. **IF₂₀₂₁ = 2,839**

Hradsky O, Copova I, Zarubova K, Durilova M, Nevoral J, Maminak M, Hubacek P, Bronsky J. - Seroprevalence of Epstein-Barr Virus, Cytomegalovirus, and Polyomaviruses in Children with Inflammatory Bowel Disease., *Dig Dis Sci.* 2015 Nov;60(11):3399-407. **IF₂₀₂₁ = 3,199**

Hradsky O, Copova I, Zarubova K, Nevoral J, Bronsky J. - Time to Relapse in Children with Crohn's Disease Treated with Azathioprine and Nutritional Therapy or Corticosteroids., *Dig Dis Sci.* 2016 Jul;61(7):2041-50. **IF₂₀₂₁ = 3,199**

Zarubova K, Hradsky O, Copova I, Rouskova B, Pos L, Skaba R, Bronsky J. - Endoscopic Recurrence Six Months After Ileocecal Resection in Children with Crohn's Disease Treated with Azathioprine, *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2016 Nov 17 **IF₂₀₂₁ = 2,839**

Hradsky O, Soucek O, Maratova K, Matyskova J, Copova I, Zarubova K, Bronsky J, Sumnik Z. - Supplementation with 2000 IU of Cholecalciferol Is Associated with Improvement of Trabecular Bone Mineral Density and Muscle Power in Pediatric Patients with IBD., *Inflamm Bowel Dis.* 2017 Apr;23(4):514-523 **IF₂₀₂₁ = 5,325**

Assa A, Bronsky J, Kolho KL, Zarubova K, de Meij T, Ledder O, Sladek M, van Biervliet S, Strisciuglio C, Shamir R. - Anti-TNF α Treatment After Surgical Resection for Crohn's Disease Is Effective Despite Previous Pharmacodynamic Failure, *Inflamm Bowel Dis.* 2017 Feb 22 **IF₂₀₂₁ = 5,325**

Ohem J, Hradsky O, Zarubova K, Copova I, Bukovska P, Prusa R, Malickova K, Bronsky J. - Evaluation of Infliximab Therapy in Children with Crohn's Disease Using Trough Levels Predictors., *Dig Dis.* 2018 Aug 18. **IF₂₀₂₁ = 2,404**

Copova I, Hradsky O, Zarubova K, Gonsorcikova L, Potuznikova K, Lerchova T, Nevoral J, Bronsky J. - 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 Nov;177(11):1685-1693 **IF₂₀₂₁ = 3,183**

Duricova D, Dvorakova E, Hradsky O, Mitrova K, Durilova M, Kozeluhova J, Kohout P, Zarubova K, Bronsky J, Hradska N, Bronska E, Adamcova M, Machkova N, Hrubá V,

Bortlik M, Lukas M, Malickova K, Lukas M. - Safety of Anti-TNF-Alpha Therapy During Pregnancy on Long-term Outcome of Exposed Children: A Controlled, Multicenter Observation., *Inflamm Bowel Dis.* 2019 Mar 14;25(4):789-796. **IF₂₀₂₁ = 5,325**

Pospisilova K, Siroka J, Karaskova E, Hradsky O, Lerchova T, Zarubova K, Copova I, Gonsorcikova L, Velganova-Veghova M, Francova I, Urbanek L, Mihal V, Bronsky J. - Is it useful to monitor thiopurine metabolites in paediatric Crohn's disease patients on combination therapy? A multicenter prospective observational study. *Paediatr Drugs.* 2021 Mar;23(2):183-194 **IF₂₀₂₁ = 3,022**

Hradsky O, Kazeka D, Copova I, Lerchova T, Mitrova K, Pospisilova K, Sulovcova M, Zarubova K, Bronsky J. - Risk Factors for Dermatological Complications of Anti-TNF Therapy in a Cohort of Children with Crohn's Disease. *Eur J Pediatr.* 2021 Sep;180(9):3001-3008. doi: **IF₂₀₂₁ = 3,183**

Zarubova K, Fabian O, Hradsky O, Lerchova T, Mikus F, Dotlacil V, Pos L, Skaba R, Bronsky J. - Predictive value of tissue calprotectin for disease recurrence after ileocecal resection in pediatric Crohn's disease, *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2021 Aug 24 **IF₂₀₂₁ = 1,46**

Bronsky J, Copova I, Kazeka D, Lerchova T, Mitrova K, Pospisilova K, Sulovcova M, Zarubova K, Hradsky O.- Adalimumab versus infliximab in paediatric patients with Crohn's disease: A propensity-score analysis and predictors of relapse. *Clin Transl Gastroenterol.* 2022 Apr 1 **IF₂₀₂₁ = 3,458**

11.2 Publikace s IF bez přímé souvislosti s tématem disertační práce

Nevoral J, Kotalova R, Hradsky O, Valtrova V, Zarubova K, Lastovicka J, Neubertova E, Trnkova M, Bronsky J.- Symptom positivity is essential for omitting biopsy in children with suspected celiac disease according to the new ESPGHAN guidelines, *Eur J Pediatr.* 2013 Nov 15. **IF₂₀₂₁ = 3,183**

11.3 Publikace v časopisech bez IF

Publikace v recenzovaných časopisech:

Zarubova K, Mitrova K, Bronsky J. - Těžký průběh kortikodependentní ulcerózní kolitidy u malého dítěte před érou biologické terapie, *Gastroent Hepatol* 2015; 69(3): 253–254.

doi:10.14735/amgh2015253

Copova I, Hradsky O, Zarubova K, Gonsorcikova L, Potuznikova K, Lerchova T, Nevoral J, Bronsky J. - Význam fekálního kalprotektinu v diagnostice a sledování dospělých a dětských pacientů s idiopatickými střevními záněty, *Gastroent Hepatol* 2016; 70(6): 480–484.

Pokorna – Klimova L, Gut J, Tlusta P, Zarubova K, Bronsky J, Zeman L, Frybova B, Soukup J, Balko J, Kodetova D. – Recidivující krvácení do trávicího ústrojí, *Čes-slov Pediat* 2017; 72 (1): 45-50.

Duricova D, Dvorakova E, Hradsky O, Mitrova K, Durilova M, Kozeluhova J, Kohout P, Zarubova K, Bronsky J, Hradska N, Bronska E, Adamcova M, Machkova N, Hrubá V, Bortlík M, Lukas M, Malickova K, Lukas M. - Vliv expozice anti-TNF α in utero na vývoj imunitního systému exponovaných dětí – kontrolovaná multicentrická studie, *Gastroent Hepatol* 2018; 72(6): 479–485.

Zarubova K. - Dětská gastroenterologie a hepatologie - editorial 6/2020, *Gastroent Hepatol* 2020; 74(6): 463.

Zarubova K. - Dětská gastroenterologie a hepatologie - editorial 6/2021, *Gastroent Hepatol* 2021; 75(6): 491.

11.4 Postery a ústní sdělení

Přednášky a ústní sdělení:

Festival kazuistik Luhačovice 2013 – Zárubová K., Hradský O., Ohem J., Bronský J. – Za 5 minut 12 (kazuistika na téma růstové poruchy u pacienta s Crohnovou nemocí)

Festival kazuistik Luhačovice 2014 – Zárubová K., Kotalová R., Hradský O., Bronský J. – Časovaná bomba (kazuistika na téma prehepatální portální hypertenze)

XXX. MEZINÁRODNÍ KONGRES SKVIMP 2014 - Zárubová K., Fencel F., Konopásková K., Stýblová J., Tejnická J., Bronský J. - Nutriční intervence u pacientů s chronickým střevním pseudoobstrukčním syndromem

Pracovní dny dětské gastroenterologie, hepatologie a výživy 2014 – Zárubová K. – Hereditární pankreatitidy u dětí

Symposium dětských IBD kazuistik 2014 – Zárubová K., Škába R., Bronský J. – Méně je někdy více (kazuistika na téma závažné perianální formy Crohnovy nemoci)

Pracovní dny dětské gastroenterologie, hepatologie a výživy 2015 – Zárubová K., Hradský O., Čopová I., Škába R., Rousková B., Poš L., Bronský J. – Podávání azathioprinu jako prevence relapsu Crohnovy choroby po ileocékální resekcii u dětských pacientů – follow-up 6 měsíců

Symposium dětských IBD kazuistik 2015 – Zárubová K., Bronský J. - Jak to bylo správně? (kazuistika na téma řešení komplikací u Crohnovy choroby)

Symposium dětských IBD kazuistik 2016 – Zárubová K., Bronský J. – Pavel a Dominik (přednáška rekapitulující vývoj nemoci u dvou pacientů z předchozího symposia)

Symposium dětských IBD kazuistik 2022 – Zárubová K. – Kalprotektin u IBD jinde než ve stolici

Kurzy ČLK – dětská gastroenterologie (různá témata) – 9/2018, 10/2018, 5/2019, 12/2019, 12/2020, 3/2021, 10/2021, 12/2021, 4/2022

Kurzy ČLK – pediatrie (různá témata) – 11/2019, 11/2020

Postery:

World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Montreal 2016 – Zárubová K. et al - Azathioprine in prevention of endoscopic recurrence in children with Crohn's disease after ileocecal resection

ESPGHAN Prague 2017 – Zárubová K. et al - Endoscopic relapse-rate in Crohn's disease patients treated postoperatively by anti-TNF for residual disease.

Vědecká konference 2. Lékařské fakulty UK 2017 – Zárubová K. et al - Účinnost výlučné enterální výživy různého složení v indukci remise u dětských pacientů s Crohnovou chorobou

Vědecká konference 2. Lékařské fakulty UK 2020 – Zárubová K. et al - Význam stanovení tkáňového kalprotektinu pro predikci rekurence onemocnění po ileocékální resekcii u dětských pacientů s Crohnovou chorobou