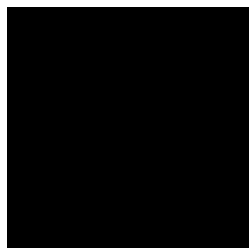


Univerzita Karlova

2. lékařská fakulta

Studijní program: **Fyziologie a patofyziologie člověka**



MUDr. Ročková Petra

**Výskyt roztroušené sklerózy u pacientů s nespecifickými
střevními záněty (IBD)**

Incidence of multiple sclerosis in patients with inflammatory
bowel diseases (IBD)

Dizertační práce

Vedoucí závěrečné práce/Školitel: **Doc. MUDr. Radan Keil, PhD.**

Praha, 2017

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou 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, 31.05.2017

MUDr. Petra Ročková

OBSAH

| | |
|--|----|
| 1 Úvod..... | 5 |
| 2 Současný stav poznání | 7 |
| 2.1 Etiologie a patogeneze nespecifických střevních zánětů | 7 |
| 2.1.1 Genetika | 7 |
| 2.1.2 Enviromentální faktory | 8 |
| 2.1.3 Mikrobiální střevní flora | 9 |
| 2.1.4 Imunopatologie..... | 11 |
| 2.1.5 Patofyziologie..... | 12 |
| 2.2 Klinický průběh..... | 14 |
| 2.3 Diagnostika..... | 15 |
| 2.4 Léčba | 16 |
| 2.5 Extraintestinální komplikace u pacientů s nespecifickými střevními záněty... | 20 |
| 2.6 Neurologické komplikace u pacientů s nespecifickými střevními záněty | 22 |
| 2.6.1 Lékově navozené neurologické komplikace u pacientů s IBD | 24 |
| 2.7 Nespecifické střevní záněty a roztroušená skleróza (RS) | 27 |
| 2.8 Etiologie a patogeneze roztroušené sklerózy | 28 |
| 2.8.1 Imunitně podmíněné mechanismy rozvoje RS..... | 31 |
| 2.9 TNF - α a roztroušená skleróza | 36 |
| 2.10 Anti TNF- α a roztroušená skleróza | 40 |
| 3 Hypotéza a cíle práce | 42 |
| 3.1 Hypotéza..... | 42 |
| 3.2 Cíle práce..... | 42 |
| 4 Metody | 43 |
| 5 Výsledky..... | 46 |
| 6 Statistická analýza celého souboru..... | 53 |
| 7 Výsledky..... | 54 |
| 8 Diskuze..... | 62 |
| 9 Závěr..... | 76 |

| | |
|--|----|
| 10 Poděkování..... | 77 |
| 11 Literatura | 78 |
| 12 Dodatek disertační práce – seznam publikací autora práce..... | 92 |

1 Úvod

Crohnova choroba (CD) patří spolu s ulcerosní kolitidou (UC) mezi nespecifické střevní záněty (IBD). Jedná se o chronická idiopatická zánětlivá onemocnění gastrointestinálního traktu vedoucí k dlouhodobému poškození struktur a funkce zažívacího ústrojí¹. U Crohnovy choroby se zánět vyskytuje kdekoli v oblasti zažívacího traktu, nejčastěji však v terminálním ileu a v tračníku. Zánět zde postihuje celou střevní stěnu na rozdíl od ulcerosní kolitidy, kde je izolován na oblast mukózy, a postihuje nejčastěji sliznici rekta a distálního tračníku².

Celosvětově se výskyt nespecifických střevních zánětů pohybuje v širokém rozmezí mezi 0,5-24,5 případů na 100 000 obyvatel. Počet nemocných je výrazně vyšší ve státech severní Ameriky, severní Evropy, obecně v zemích s vyšším ekonomickým standardem oproti Africe, Latinské Americe a Asijským státům³. Se zlepšující se socioekonomickou situací v rozvojových zemích ale incidence nespecifických střevních zánětů v těchto oblastech narůstá⁴. V Evropě je nespecifickým střevním zánětem postiženo zhruba 2,2 miliónu lidí s incidencí 70-100 případů na 100 000 obyvatel³. Onemocnění se projevuje nejčastěji mezi 15-30 lety, 10% pacientů je mladších 18ti let. Crohnovou chorobou jsou častěji postiženy ženy⁵.

Donedávna byla Crohnova choroba považována za typický příklad autoimunitního onemocnění, v současné době je však zřejmé, že se jedná o multifaktoriální onemocnění s velmi složitou patogenezí, na jehož vzniku se podílejí jak faktory imunopatologické, tak genetické, enviromentální a psychologické, dále je již jistý vliv mikrobiálního střevního osídlení a infekcí⁶.

Neurologické komplikace u pacientů s nespecifickými střevními záněty zůstávají poddiagnostikovány. Jedná se zejména o poškození periferního nervového systému charakteru polyneuropatie, demyelinizační onemocnění CNS a cévní mozkové příhody vyplývající především z protrombotického stavu.

Roztroušená skleróza (RS) je onemocněním postihující především mladé pacienty s téměř identickým spektrem rizikových faktorů jako je tomu u

nespecifických střevních zánětů a s podobnými imunopatologickými mechanismy. Její incidence celosvětově výrazně narůstá, postižení jsou především obyvatelé severního mírného pásma ekonomicky vyspělých zemí. Jedná se o jednu z neurologických komplikací, která se u pacientů s nespecifickými střevními záněty vyskytuje s vyšší četností než u zdravé populace. Koincidence těchto dvou autoagresivních chorob se dostala do středu zájmu i s ohledem na rozšíření moderní biologické léčby, která může ovlivnit rozvoj demyelinizačního onemocnění u pacientů s nespecifickými střevními záněty.

Stále ale chybí data definující přesný vztah mezi rozvojem obou chorob i důkazy o působení biologické terapie.

2 Současný stav poznání

2.1 Etiologie a patogeneze nespecifických střevních zánětů

2.1.1 Genetika

Role genetických faktorů je nápadnější u pacientů s Crohnovou chorobou. Je prokázána zejména kumulací případů v jednotlivých rodinách a vyšší incidencí u homozygotních dvojčat⁷. V šedesátých letech dvacátého století byl prvním popsáným genem souvisejícím s Crohnovou chorobou gen NOD2/CARD15, respektive jeho varianty na chromozómu 16⁸. NOD2 je intracelulární protein, který rozpoznává bakteriální produkty a aktivuje mechanismy vrozené imunity. Mutace v genu NOD2 byla prokázána až u 30% pacientů s Crohnovou chorobou⁸. Do současnosti bylo v rozsáhlých genomových studiích popsáno nejméně 163 variantních genů asociovaných s nespecifickými střevními záněty a další stále přibývají. 110 genů je spojováno s Crohnovou chorobou a ulcerosní kolitidou, 30 genů je jedinečných pro Crohnovu chorobu⁹. Zajímavé jsou výsledky studií popisující mutace v genech kódujících prozánětlivé cytokiny¹⁰. Například polymorfismus v oblasti pro TNF- α může vést k změně expresi tohoto cytokinu. Bylo již potvrzeno, že čím větší je počet rizikových alel u jednoho pacienta, tím je větší riziko manifestace choroby¹¹.

Přes velmi nadějně výsledky však zůstává faktem, že pouze 25% pacientů s nespecifickým střevním zánětem je nositelem některé rizikové alely. Zároveň pouze 5-10% pacientů s nespecifickým střevním zánětem udává výskyt podobně postiženého příbuzného¹². Vysvětlením mohou být zatím neznámé interakce mezi rizikovými geny nebo interakce s vlivy prostředí a dalšími rizikovými faktory.

2.1.2 Enviromentální faktory

Faktory měnícího se prostředí hrají v etiopatogeneze nespecifických střevních zánětů poměrně zásadní roli. Důkazem je výrazný nárůst incidence těchto onemocnění po druhé světové válce. Ještě před sto lety nebyla v literatuře žádná zmínka o idiopatických střevních zánětech. Dalším jasným důkazem jsou výsledky migračních studií, kde bylo prokázáno, že dospělí, kteří se přestěhují z oblastí nízkého výskytu Crohnovy choroby (rozvojové země) do oblastí s vysokým rizikem (severní Evropa, USA), mají stále stejné, nízké riziko rozvoje choroby narozdíl od jejich potomků, kteří již mají riziko stejně vysoké jako původní obyvatelstvo¹³.

Existuje množství rizikových faktorů, které jsou spojovány s rozvojem IBD. Zajímavé souvislosti byly prokázány u kouření. Ulcerosní kolitida postihuje zvláště nekuřáky a bývalé kuřáky. Kouření zde zlepšuje průběh a snižuje potřebu podávání kortikosteroidů či nutnost operačních zákroků až o 40% v porovnání s nekuřáky. Naproti tomu u pacientů s Crohnovou chorobou je kouření spojeno s agresivním průběhem choroby, horší odpovědí na imunosupresivní i biologickou terapii. Ukončení kouření má zde velmi příznivý vliv na průběh choroby. Podstata odlišného vlivu kouření na obě choroby nebyla dosud spolehlivě objasněna, spekuluje se o vlivu kouření na aktivaci dendritických buněk ve sliznici střeva, které řídí aktivitu slizničního imunitního systému¹⁴.

Z dietních faktorů se uvažuje zejména o vyšší spotřebě rafinovaných cukrů, roli hraje i nedostatek vlákniny ve stravě a vysoký přísun sirných sloučenin v živočišných produktech¹⁵. Sirné sloučeniny jsou substrátem pro tvorbu těkavých látek ze skupiny merkaptanů, které jsou výrazně toxické pro epitelální buňky střeva, mohou alterovat funkci některých signálních proteinů a zvyšovat antigenicitu jiných sloučenin¹⁶. Dietní zvyklosti matky ovlivňují riziko rozvoje zánětu střev u jejích potomků. Bylo potvrzeno, že děti obézních matek mají již intrauterinně perzistentní zánětlivé změny na střevní sliznici včetně fibrózy, takové děti se tedy mohou narodit s klinicky němým nespecifickým střevním zánětem, který se naplno projeví

v pozdějších letech¹⁷. Nejen celkové složení jídelníčku, ale i některá aditiva obsažená v tzv. západní stravě mohou zvyšovat riziko střevního zánětu. Nedávné studie ukázaly, že například sladidlo maltodextrin zvyšuje adhezenci bakterie E. Coli k epiteliálním buňkám sliznice vedoucí k excesivní kolonizaci a růstu těchto bakterií, což může stimulovat imunitní odpověď vedoucí pak k rozvoji zánětlivých změn¹⁸. Spekuluje se i o vlivu některých léků (antikoncepce).

Dalším rizikovým faktorem je psychický stres. Až do 30. let minulého století byla Crohnova choroba považována za čistě psychosomatické onemocnění. Psycho – neuro-imunologické studie dokázaly, že behaviorální faktory (emoce, psychický stres) mohou významně ovlivňovat imunitní systém jednotlivce na úrovni lokální (slizniční) i systémové imunitní odpovědi. Pacienti s nespecifickými střevními záněty v remisi mají významně vyšší riziko exacerbace choroby, jsou-li vystaveni stresu, nebo pokud se u nich vyvine depresivní porucha. Tyto výzkumné závěry jsou podpořeny letitou klinickou zkušeností, kdy emocionálně nepříznivé události, jako je například smrt blízkého člověka nebo rozvod, mohou být provokujícím momentem vzplanutí střevního zánětu¹⁹.

2.1.3 Mikrobiální střevní flora

Složení střevní mikroflóry je ovlivňováno mnoha faktory a tvoří se od prvních dnů života. Zásadní je tzv. senzitivní perioda prvních několika let života jednotlivce, kdy nabývá potřebnou diverzitu, v dospělosti se stabilizuje a ve stáří začíná rozmanitost střevní mikroflóry klesat. Je zřejmé, že čím bohatší je střevní mikroflóra co do počtu bakteriálních druhů, diverzity a komplexity, tím zdravější a efektivnější je slizniční i systémová imunita jedince. Byl potvrzen zásadní rozdíl mezi ve skladbě bakterií u dětí narozených vaginální cestou oproti dětem porozených sekci. Expozice různým škodlivinám, potravinám a lékům hraje významnou roli. Například užívání antibiotik v prvním roce života zvyšuje riziko rozvoje nespecifických střevních zánětů v dospělosti²⁰. Zásadní roli hrají dietní zvyklosti v dětství. Děti z primitivních

venkovských oblastí Afriky mají výrazně vyšší zastoupení příznivých bakteriálních kmenů z kmene Firmicutes oproti dětem z Evropských měst²¹.

V mnoha studiích byla popsána nižší druhová diverzita tzv. komenzálních bakterií tvořící mikroflóru pacientů s Crohnovou chorobou²². Tento jev se označuje jako dysbiosis²³. Bylo potvrzeno, že různé bakteriální kmeny mají odlišnou schopnost vyvolat střevní zánět. U pacientů s Crohnovou chorobou je nápadně vyšší výskyt různých kmenů *Escherichia coli* a *Actinobacteriae*, naproti tomu je snížený výskyt kmene Firmicutes, kam patří *Lactobacilli* a *Clostridia*. Jednotlivé bakteriální složky, jako jsou lipopolysacharidy, peptidoglykany či flageliny se mohou vázat na buňky imunitního systému a stimulovat tak sekreci prozánětlivých cytokinů a kyslíkových radikálů²⁴.

Zajímavá je rovněž spojitost střevní mikroflóry a vitamínu D. Vliv tohoto vitamínu na střevní mikroflóru je nyní v popředí zájmu výzkumníků a například v nedávné rozsáhlé studii byla potvrzena souvislost polymorfismu receptorů pro vitamín D na povrchu střevních imunitních buněk se složením střevní mikroflóry²⁵.

Ve snaze o ovlivnění složení střevní mikroflóry bylo vyvinuto několik možných strategií s různou mírou úspěšnosti. V několika pracích byla pacientům podávána ATB či probiotika, stále aktuální jsou práce s transplantací stolice od zdravých dárců či podávání defenzinů. Přes občasné povzbudivé výsledky jednotlivých studií, žádná z výše uvedených metod nedosahuje dosud konzistentních úspěchů a objevují se i práce o možném škodlivém vlivu jednotlivých postupů²⁶.

2.1.4 Imunopatologie

Donedávna byl výzkum patogeneze nespecifických střevních zánětů soustředěn téměř výhradně na studium prozánětlivých imunitně podmíněných mechanismů. Dnes je však evidentní, že imunitní odpovědi u nespecifických střevních zánětů je třeba dávat do kontextu s dalšími faktory jako jsou již zmíněné genetické a enviromentální faktory. Na vzniku nespecifických střevních zánětů se podílí chybná reakce mechanismů vrozené i získané imunity na komenzální střevní mikroflóru²⁷. Mechanismy vrozené imunity jsou pravděpodobně více odpovědné za patogenезi střevního zánětu než mechanismy imunity získané, nicméně je zřejmé, že zásadní je interakce imunitních i neimunitních buněk, které společně participují na komplexní odpovědi systémů vrozené i získané imunity.

Mezi nejdůležitější mechanismy patří systém tzv. toll like receptorů (TLR), které jsou exprimovány na povrchu imunitních a epitelálních buněk. Za fyziologických podmínek se části bakterií váží na příslušné TLR a blokují případný vstup patogenního mikroorganismu do vnitřního prostředí. Porucha v rozpoznávání znaků patogenní a vlastní střevní mikroflóry je jednou z příčin rozvoje chronického zánětu střev²⁸. Dalším významným činitelem jsou antimikrobiální polypeptidy, které jsou vylučovány na povrch sliznic a jsou zodpovědné za udržování slizniční bariéry. Patří sem katelicidiny a defenziny, které mají výrazné antimikrobiální účinky a intenzivně komunikují s imunitním systémem. Jsou produkovány Panethovými buňkami a kolonocyty. U nemocných s Crohnovou chorobou byl potvrzen snížený výskyt defenzinů, což podporuje bakteriální invazi do sliznice. U pacientů s ulcerósní kolitidou sice ke snížení defenzinů nedochází, nicméně jejich funkce je narušena absencí kvalitního hlenu nutného pro udržení se defenzinů ve sliznici²⁹.

Místem, kde probíhá získaná imunitní reakce ve střevě jsou především Payerovy pláty a lymfatické folikuly. Speciální epitelální buňky přenášejí antigeny do lymfatické tkáně, kde následná aktivace makrofágů a dendritických buněk v lamina propria mucosae stimuluje prozánětlivou odpověď prostřednictvím aktivace a

proliferace T a B lymfocytů. Naivní T lymfocyty podléhají diferenciaci do Th-1 nebo Th-2 klonů³⁰.

Crohnova choroba je predominantně spojena s aktivací Th1 a Th17 lymfocytů, která vede ke zvýšené produkci prozánětlivých cytokinů jako jsou IL-12, IFN- γ , TNF a IL-17³⁰. Ulcerosní kolitida je naproti tomu spojena s aktivací Th2 lymfocytů, která vede ke zvýšené produkci IL-5, TGF- β a IL-13. Zvýšená syntéza IL-13 speciálními NK T lymfocyty (Natural Killer) v lamina propria mucosae se ukazuje jako dominantní faktor zánětu střeva u ulcerosní kolitidy³¹. Tyto popisované rozdíly jsou však do určité míry uměle vytvořené, protože v zánětlivé sliznici se vyskytují výše uvedené cytokiny u obou chorob a rozdíl je dán spíše kvantitativním zastoupením než kvalitativním. Nicméně toto paradigma může být užitečné pro studium obou chorob zejména s ohledem na vývoj nových biologických léčiv se zaměřením na ovlivnění jednotlivých cytokinů.

U obou chorob byla také popsána zvýšená aktivace eosinofilů ve slizničním exsudátu a v lamina propria mucosae. Eosinofily sekretují prozánětlivé proteiny, které mají přímý toxický vliv na střevní sliznici a rovněž přispívají k produkci toxických kyslíkových radikálů³². Dalšími producenty kyslíkových radikálů jsou makrofágy. Výsledky z biopsií tračnicku potvrdily korelaci mezi množstvím těchto toxických radikálů a aktivitou choroby³³.

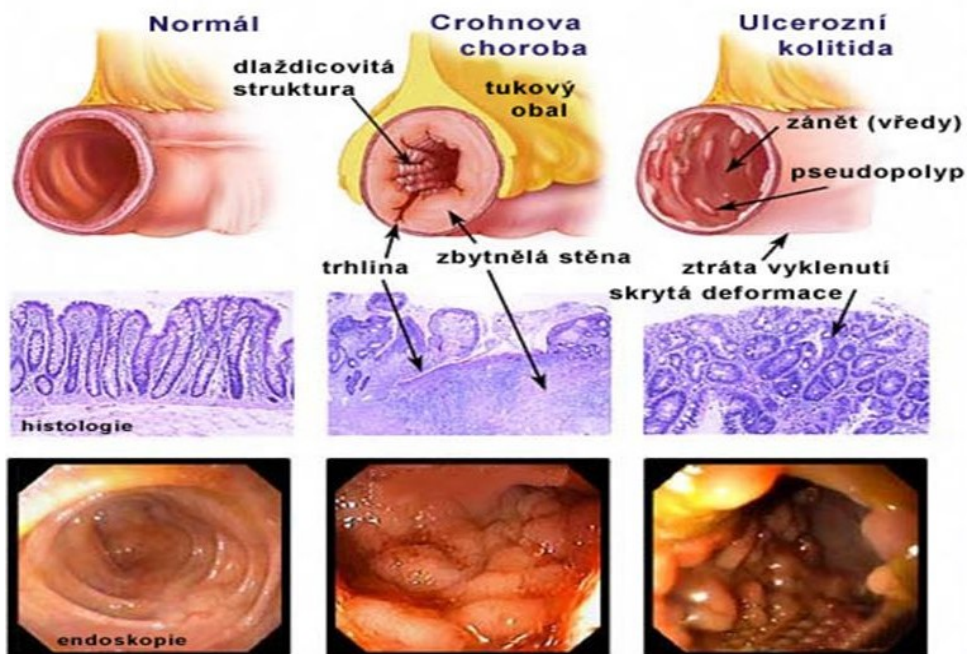
2.1.5 Patofyziologie

Crohnova choroba začíná zánětem a tvorbou abscesů progredujících v aftoidní vředy. Tyto slizniční změny způsobují otok mukózy, lymfedém a šíření zánětu mimo sliznici do celé střevní stěny, což způsobuje charakterický vzhled střeva do podoby „dlažebních kostek“. Extenzivní zánět může vést k hypertrofii lamina muscularis mucosae, fibróze a zúžení průsvitu střeva vedoucí až k jeho obstrukci. Dochází ke zvětšování mesenterických uzlin, časté jsou píštěle³⁴. Abscesy a píštěle komunikují s okolními strukturami. U žen může docházet k enterovaginálním fistulám

s obrazem fekálního vaginálního výtoky, enterovesikální fistuly vedou k opakovaným zánětům urogenitálního traktu a k pneumaturii. Vývoj píštělí v mesenteriu způsobuje rozvoj intraabdominálních či retroperitoneálních abscesů. Zánětlivé granulomy se tvoří v lymfatických uzlinách, v peritoneu, v játrech a ve všech vrstvách střevní stěny. Přítomnost granulomů však pravděpodobně nekoreluje s klinickým průběhem choroby³⁵. Tvorba granulomů je patognomická pro Crohnovu chorobu, vyskytuje se však pouze u 50% pacientů³⁶.

Ulcerosní kolitida se většinou objevuje v oblasti rekta, kde může přetrvávat jako proktitida, nebo dochází k jejímu proximálnímu šíření. Narozdíl od Crohnovy choroby je zde zánět izolovaný na oblast mukózy a submukózy. V počátečních stádiích ztrácí mukóza svůj charakterický cévní obraz, je zarudlá, později granulární a křehká až drolivá. Větší slizniční vředy s purulentním obsahem jsou typické pro agresivní fáze choroby. Mezi vředy vidáme ostrůvky hyperplastické zánětlivé sliznice, tzv. pseudopolypy. Píštěle a abscesy nejsou součástí obrazu ulcerosní kolitidy² (Obrázek 1).

Obrázek 1



2.2 Klinický průběh

Rozvoj klinických obtíží vyplývá především z lokalizace akutního zánětu. U Crohnovy choroby je u zhruba 45% pacientů postiženo ileum i tračník, 20% případů je izolováno na oblast tlustého střeva, 33% pacientů má postižení pouze tenkého střeva a 5% pacientů trpí postižením gastroduodenálního regionu. U pacientů s postižením tenkého střeva se setkáváme s příznaky malabsorbce jako jsou profuzní průjmy, křeče a bolesti v epigastriu, úbytek váhy spojený zejména s proteinovým deficitem a anorexie. Průjmy jsou většinou bez příměsi krve a přechodné. Při postižením primárně tlustého střeva vídáme častěji difuzní bolesti břišní krajiny s krvavými hlenovými průjmy, tyto příznaky jsou pak obtížně odlišitelné od potíží pacientů s ulcerosní kolitidou. Pacienti s primárně gastroduodenálním postižením referují zejména nauzeu, zvracení a anorexii. Kombinace výše zmíněných dějů může vést k rozvoji profuzního krvácení z vředů, obstrukci střeva, postižení perianální oblasti způsobuje krvácení z konečníku. Hluboké vředy jsou příčinou rozvoje píštělí, které se snadno infikují. Nespecifické střevní záněty zvyšují u postižených pacientů riziko rozvoje karcinomu střeva. Crohnova choroba je častou příčinou rozvoje karcinomu tenkého střeva, zatímco ulcerosní kolitida bývá spíše původcem kolorektálního karcinomu³⁷. Metaanalýzy potvrdily kumulativní riziko rozvoje karcinomu u Crohnovy choroby 3% v prvních 10 ti letech trvání choroby a 8% po 30 letech choroby³⁵.

Ulcerosní kolitida se většinou prezentuje krvavými průjmy různé intenzity. Relaps choroby provází prudké nucení na stolicí s křečemi v hypogastriu. Pokud je postižen proximální úsek tlustého střeva, mohou se průjmy vyskytovat i více než 10x za den a jsou provázeny silnými křečemi. Pacienti mají často horečky, nezřídka příznaky toxémie. Kumulativní riziko rozvoje karcinomu u ulcerosní kolitidy je 2% po 10 letech trvání choroby a 18% po 30 letech choroby³⁸.

2.3 Diagnostika

Diagnostika nespecifických střevních zánětů je postavena na kombinaci klinických obtíží, laboratorních hodnot, histologických a radiologických nálezů. Již nativní RTG snímek břicha či CT mohou být užitečné v odhalení střevní obstrukce či abscesů. Magneticko rezonanční enterografie může odlišit zánět od fibrózy. Endoskopie s pomocí speciální kapsle je nejcitlivější non invazivní metodou zobrazující zejména stav tenkého střeva, nicméně s ohledem na cenu a dostupnost nepatří k běžně užívaným metodám. Zlatým standardem v diagnostice nespecifických střevních zánětů je endoskopická a kolonoskopická vizualizace spolu s biopsií, která dobře odliší jednotlivé typy zánětu a vyloučí i nádorové postižení střeva³⁹.

Laboratorní screening je nespecifický. Krevní obraz může ukázat anemii či leukocytosu, běžně se u pacientů setkáváme s poklesem hladiny železa či s elevací jaterních testů. Akutní markery zánětu jako je zvýšená hladina CRP (C reaktivní protein) může korelovat s aktivitou choroby, nicméně ani nízká hladina CRP probíhající střevní zánět nevylučuje. Vyšetření stolice na přítomnost patogenů, parazitů a Clostridium difficile toxinu je využíváno před zahájením imunosupresivní terapie. Některé imunologické markery, jako je například ASCA (screeningové vyšetření protilátek proti kvasinkám Saccharomyces cerevisiae) mohou pomoci k potvrzení diagnózy.

2.4 Léčba

Cílem terapie nespecifických střevních zánětů je navození remise a dlouhodobá stabilizace choroby. Zlatým standardem v léčbě relapsu nespecifických střevních zánětů zůstávají kortikosteroidy, které působí bloádou syntézy kyseliny arachidonové, čímž inhibují syntézu prostaglandinů a leukotrienů⁴⁰. V dlouhodobé terapii se u mírných forem choroby využívají 5-aminosalicyláty, které rovněž inhibují produkci leukotrienů a prostaglandinů prostřednictvím inhibice bakteriálních peptidů, které jsou zodpovědné za chemotaxi neutrofilů, podílí se na odstraňování metabolitů oxidačních radikálů a inhibují aktivaci NK buněk. Některé z preparátů (Mesalazine) dále interferují se syntézou Il-1, Il-2 a TNF- α . Dalším starším preparátem je purinový analog – 6-merkaptopurin, který zpomaluje proliferaci lymfocytů inhibicí DNA syntézy. Z imunosupresiv je v současné době nejvíce využíván azathioprine, který působí bloádou purinového metabolismu a inhibuje tak syntézu DNA a RNA. U pacientů s vrozeně nedostatečnou funkcí enzymu Thiopurin N-methyl transferáza (TPMT) však dochází po nasazení azathioprinu k rozvoji silných nežádoucích účinků, zejména nauzey a zvracení. Je doporučeno vyšetření aktivity tohoto enzymu před samotným zahájením terapie. Dalšími vedlejšími účinky užívání imunosupresivní terapie jsou zejména dřeňový útlum, hepatopatie, pankreatitida a vyšší riziko rozvoje některým forem lymfomů⁴¹.

Antibiotika, zejména metronidazol a ciprofloxacin jsou u Crohnovy choroby důležitá v léčbě abdominálních a perianálních abscesů.

V terapii IBD se posledních 15 let stále více uplatňuje biologická léčba, jejíž vývoj se stal prioritou farmaceutického průmyslu. Podstatou biologické léčby je cílený regulační zásah do biologických procesů provázejících vznik a vývoj léčených chorob. Jedná se o vysoce účinné látky biologické povahy, které jsou shodné či velmi podobné s látkami produkovány v samotném organismu. V současné době je mezi prvními deseti nejprodávány léky sedm preparátů označovaných za biologickou léčbu a průmysl jejich výroby roste o 13,5% ročně⁴².

Zásadním patofyziologickým rozdílem mezi zdravým a zánětem postiženým střevem je masivní infiltrace imunitních buněk jako jsou T lymfocyty, neutrofilové, makrofágy a další. Imunitní odpověď s sebou nese zvýšení hladin prozánětlivých cytokinů, které mohou být cílem nové biologické terapie.

V léčbě nespecifických střevních zánětů se v současné době široce využívá monoklonální protilátka proti tumor necrosis faktoru alfa (anti TNF- α)⁴³. V České republice je momentálně k dispozici chimerická monoklonální protilátka anti TNF- α (infliximab) a plně humanizovaná monoklonální protilátka anti TNF- α (adalimumab). Jedná se o vysoce účinné preparáty, užívané v léčbě jak Crohnovy choroby, tak ulcerosní kolitidy, revmatoidní artritidy, Bechtěrevovy choroby a dalších⁴⁴. Ne všichni pacienti však profitují z této terapie ať už z důvodu polymorfismu v Fc γ receptoru IIIA genu nebo produkce neutralizačních protilátek. Podle výsledků studií je primární neodpovídavost uváděna u 13-40% pacientů⁴⁵. Sekundární ztráta účinnosti v průběhu terapie je pak udávána u dalších 23-46% pacientů v průběhu prvního roku terapie⁴⁶.

Existuje mnoho faktorů predikujících účinnost/selhání terapie anti TNF- α u jednotlivých pacientů. Jako klíčové se jeví včasné zahájení terapie, kdy ještě nedochází k rozvoji fibrotických změn, které jsou protizánětlivým působením anti TNF- α málo ovlivnitelné⁴⁷. To vysvětluje i obecně nižší účinnost preparátu anti TNF- α u starších pacientů a obecně vyšší účinnost u dětských pacientů⁴⁸. U pacientů s vysoce aktivním zánětlivým procesem doprovázeným zvýšenou hladinou C reaktivního proteinu (CRP) byla opakovaně potvrzena vysoká účinnost anti TNF- α . Na druhou stranu byly publikovány i práce popisující horší outcome u pacientů se vstupně vysokou hladinou CRP⁴⁹. Pozitivní i negativní efekt vysokého CRP je možno vysvětlit na jednu stranu pozitivní odpovědí na léčbu u prokazatelně dominantního zánětlivého procesu ve střevě, ale na druhou stranu potvrzenou vysokou aktivitou choroby a rychlou eliminací léčiva u vysoce aktivního zánětu⁵⁰. Zatímco před léčbou je tedy hladina CRP jako prediktor dobré odpovědi na léčbu sporná, potvrdila se hladina CRP jako velmi dobrý marker odpovídavosti na léčbu po zahájení terapie.

Pokles CRP po zahájení léčby je tak spojen s dobrou odpovědí u pacientů s Crohnovou chorobou i ulcerosní kolitidou⁵¹. Dalším prediktorem odpovědi na terapii anti TNF- α je kouření, kdy bylo prokázáno selhání terapie až ve 74% mezi kuřáky oproti 5% mezi nekuřáky⁵². Tvorba neutralizačních protilátek je problémem u všech biologických preparátů a je spojena se ztrátou účinnosti. Neutralizační protilátky byly nalezeny u 47% non responderů léčených infliximabem a u 23% pacientů léčených adalimumabem⁵³. Zdá se, že tvorba neutralizačních protilátek je spojena s výskytem alely HLA DRB1⁵⁴. Jako negativní prediktivní faktor se potvrdila i nízká hladina albuminu a obezita⁵⁵. Cílem je definovat tyto faktory a optimalizovat tak terapii těmito vysoce nákladnými preparáty. Nejčastějšími nežádoucími účinky jsou infuzní reakce, vyšší riziko infekcí, bolest na hrudi a v žaludku, nespavost a velmi vzácně rozvoj hepatosplenického T lymfomu⁵⁶.

U ulcerosní kolitidy dochází stejně jako u Crohnovy choroby k významnému zvýšení exprese prozánětlivého cytokinu anti TNF- α , který je nyní nejčastějším cílem biologické terapie střevních zánětů. Dalším z cílů nové terapie je IL-13, který je produkován mononukleárními, zejména NK buňkami v lamina propria mucosae a v epitelálních buňkách zánětlivého střeva u pacientů s ulcerosní kolitidou⁵⁷. Eliminace NK buněk spolu se snížením produkce IL-13 ukázala efekt v redukci zánětu. Terapeutický efekt má i inhibice Interferonu- β , která taktéž vede ke snížení hladiny IL-13. V současnosti jsou v klinických studiích testovány 3 monoklonální protilátky proti IL-13. Výsledky jsou však zatím rozpačité⁵⁸.

V klinických studiích jsou testovány další, velmi nadějně preparáty jako jsou u roztroušené sklerozy již úspěšně používaný natalizumab (protilátka proti alfa-4 integrinu) či daclizumab (protilátka proti znaku CD25) a mnoho dalších⁴³.

Rozdíly ve složení střevní mikroflóry u pacientů s nespecifickými střevními záněty oproti zdravým kontrolám a její pravděpodobná zásadní role v patogenezi rozvoje choroby vedou k vývoji terapeutických strategií vedoucích k možnému ovlivnění složení mikroflóry s cílem potlačení chronických zánětlivých změn. Yan a kolektiv publikovali využití 2 purifikovaných proteinů z probiotické bakterie

Lactobacillus rhamnosus s potenciálem snížení apoptosy epiteliálních buněk navozené cytokinem TNF- α . Na zvířecích modelech i u pacientů s nespecifickým střevním zánětem bylo prokázáno, že podání proteinů izolovaných z této bakterie dokáže navodit remisi⁵⁹. Ve vývoji je řada dalších probiotických preparátů a bude třeba dalšími studii potvrdit potenciál těchto přípravků k ovlivnění průběhu chronického střevního zánětu.

Transplantace stolice je dalším z nadějných terapeutických postupů u pacientů s nespecifickým střevním zánětem. Principem je podání střevního obsahu zdravých dárců příjemci s chronickým střevním zánětem. Administrace probíhá endoskopicky buď cestou nasogastrickou či prostřednictvím endoskopu nebo rektálně během kolonoskopie. Cílem je navození mikrobiální rovnováhy a korekce dysbiosy. Transplantace stolice je efektivní u refrakterní infekce bakterií Clostridium difficile⁶⁰ a mohla by být účinná i u pacientů s nespecifickým zánětem střeva. K potvrzení účinnosti zatím chybí dostatečné množství dat a detailních analýz mikrobiálních změn navazujících na samotnou transplantaci⁶¹. Některé dosud publikované studie již však ukázaly dobrý efekt transplantace zejména u pacientů s ulcerózní kolitidou⁶². Slabší účinnost u pacientů s Crohnovou chorobou může být vysvětlena transmurálním postižením a významnější mírou dysbiosy u pacientů s Crohnovou chorobou⁶³.

Ve vývoji je mnoho více či méně nadějných léčebných strategií zahrnující např. možné ovlivnění Toll like receptorů, využití kmenových buněk, podávání antioxidantů a další¹⁰.

Chirurgická léčba je primárně určena pro pacienty, kteří selhávají na medikamentosní terapii, nebo pro léčbu komplikací.

2.5 Extraintestinální komplikace u pacientů s nespecifickými střevními

záněty

Crohnova choroba a ulcerosní kolitida jsou přes četné společné rysy dvě jednotky s jasně danými odlišnostmi v patofyziologických mechanismech vzniku. Ulcerosní kolitida je celosvětově častější, izolována na oblast mukózy tlustého střeva, v některých případech je vyléčitelná kolektomií a je obecně méně provázena extraintestinálními komplikacemi (EIK). Naproti tomu Crohnova choroba je transmurálním zánětem celého zažívacího traktu a může postihnout predilekčně jakoukoli oblast od úst po anus. Pacienti s Crohnovou chorobou jsou náchylnější k rozvoji extraintestinálních komplikací⁶⁴. Vzhledem k tomu, že se jedná o systémová onemocnění, může být postižen v podstatě jakýkoli orgánový systém mimo zažívací trakt⁶⁵.

Podle recentních publikací kolísá frekvence EIK u pacientů s nespecifickými střevními záněty v širokém rozmezí mezi 6 a 47%⁶⁶. U jednoho pacienta může být postiženo více orgánů, postižení jednoho systému s sebou nese zvýšené riziko rozvoje další EIK. Rozvoj další komplikace hrozí až 25% pacientů trpících minimálně jednou z EIK⁶⁷. Extraintestinální komplikace se mohou vyskytnout kdykoli v průběhu choroby. Dokonce až u 25% pacientů předchází rozvoji střevního zánětu, u zbylých 75% pacientů se objeví až po stanovení diagnózy nespecifického střevního zánětu. Zvýšené riziko rozvoje EIK mají pacienti s Crohnovou chorobou postihující perianální oblast tlustého střeva a kuřáci⁶⁸.

Patogeneze EIK není zatím zcela objasněna. Nejčastěji jsou diskutovány imunitně podmíněné mechanismy. Části bakterií se ze zánětem postiženého střeva dostávají k cílovým orgánům, kde stimulují imunitní odpověď. Autoimunitní klony lymfocytů pak u pacientů nejsou schopny rozeznat bakteriální antigeny od antigenů vlastních, nejčastěji kloubních či kožních buněk⁶⁹. Rozvoj autoimunitní odpovědi v určitém orgánu je pravděpodobně ovlivňován genetickými faktory. Shodný výskyt EIK byla potvrzen u příbuzných pacientů s nespecifickými střevními záněty

pravděpodobně v souvislosti se zděděnými alelami hlavního histokompatibilního komplexu (HLA). EIK se častěji vyskytují u pacientů s Crohnovou chorobou, kteří jsou nositeli alel HLA –A2, DR1 a DQw-5, zatímco u pacientů s ulcerosní kolitidou je to alela HLA-DR103⁷⁰. Některé alely jsou asociovány s postižením určitého orgánového systému, například alely HLA-DRB1, HLA-B27 a HLA-B58 jsou spojeny s postižením kůže, očí a kloubů. Známá alela HLA-B27 není přímo asociována s rozvojem nespecifických střevních zánětů, ale je silně spojena s rozvojem ankylosující spondylitidy a bylo potvrzeno, že 50-90% pacientů se střevním zánětem je nositelem této alely⁷¹.

Nejčastější EIK je postižení muskuloskeletálního systému. Příznaky postižení velkých i malých kloubů či postižení páteře referuje až 40% pacientů s IBD⁷². Nejčastěji se jedná o seronegativní artritidy. Mohou se objevit nezávisle na průběhu IBD, ale léčba základního onemocnění má často pozitivní efekt i na kloubní potíže⁷³. Podávání běžně užívaných nesteroidních antirevmatik je problematické s ohledem na jejich možné působení na exacerbaci IBD⁷⁴. Ankylosující spondylitida postihuje 5-10% pacientů s IBD a je primárně asociována s přítomností alely HLA-B27⁷⁵. V terapii se zde nabízí využití monoklonální protilátky proti TNF- α , která je účinná u obou chorob⁷⁶.

Dalším často postiženým orgánem je kůže. Erythema nodosum migrans se vyskytuje až u 15% pacientů s Crohnovou chorobou a u 10% pacientů s ulcerosní kolitidou⁷⁷. Většinou se vyskytuje v souvislosti s exacerbací základního onemocnění a ustupuje s léčbou střevního zánětu. Méně častým, ale o to závažnějším kožním onemocněním je Pyodema gangrenosum, postihující zejména ženy s ulcerosní kolitidou⁷⁸. Pyoderma gangrenosum se typicky vyskytuje nezávisle na průběhu základního onemocnění, přesto léčba střevního zánětu včetně využití anti TNF- α může mít pozitivní vliv na průběh choroby⁷⁹.

Pacienti s IBD často trpí lézemi na sliznici dutiny ústní. Periodontitidy, aftosní stomatitidy a další afekce se vyskytují až u 10% pacientů s IBD. Exacerbace IBD

podněcuje rozvoj orálních komplikací, v terapii se kromě lokálních léčiv užívají nejčastěji kortikosteroidy.

Postižení očí je třetí nejčastější EIK u pacientů s IBD postihující 2-5% pacientů⁸⁰. Patří sem především episkleritidy a uveitidy. Jsou často oboustranné a mohou předcházet rozvoj IBD. I zde byl prokázán pozitivní vliv anti TNF- α v terapii závažnějších případů⁸¹.

Pacienti s IBD často trpí postižením hepatobiliárního systému jako je primární sklerotická cholangitida, jaterní steatosa, nemoci pankreatu a další⁸².

2.6 Neurologické komplikace u pacientů s nespecifickými střevními

záněty

Postižení nervového systému u pacientů s nespecifickými střevními záněty pravděpodobně není až tak vzácné a zůstává poddiagnostikováno⁸³. Patogeneze postižení nervového systému u IBD není zatím zcela objasněna, většinou se pravděpodobně jedná o imunitně podmíněné postižení, svůj podíl má jistě i protrombotický stav, nutriční deficiencie při malabsorbci (nízká hladina vitamínu B12, folátu, thiaminu, vitamínu E) a nelze opominout ani iatrogenní podíl a vliv medikace⁸⁴. Neurologické komplikace mohou předcházet klinickému rozvoji IBD, častěji se však objevují až v průběhu choroby. Jejich exacerbace může provázet relaps IBD, ale mohou se rozvíjet i nezávisle na průběhu základního onemocnění⁸⁵.

Bylo publikováno několik systematických studií zabývajících se frekvencí neurologických komplikací u pacientů s nespecifickými střevními záněty, jejich výsledky se však do značné míry liší. Většina studií zahrnovala i iatrogenní postižení nervového systému nebo postižení z malabsorbce, jednalo se převážně o retrospektivní a registrační studie a jen několik málo z nich zahrnovalo kontrolní

skupinu⁸⁶. V rozsáhlé retrospektivní studii 638 pacientů s nespecifickými střevními záněty byly nalezeny neurologické komplikace pouze u 3% pacientů⁸⁷. V kontrastu k těmto datům bylo potvrzeno, že až 33,2% pacientů s Crohnovou chorobou manifestuje neurologické nebo psychiatrické obtíže⁸⁸, po zpřesnění dat a zahrnutí pouze případů v prokazatelné souvislosti s IBD se procento snížilo na 19,3%. Konečně v jedné z dalších prací bylo publikováno neurologické onemocnění až u 67% pacientů s Crohnovou chorobou a u 43% pacientů s ulcerosní kolitidou⁸⁹.

Nejčastěji popisovaným neurologickým onemocněním u pacientů s IBD je periferní neuropatie⁹⁰. Nejčastěji je způsobena vitamínovým deficitem při malabsorbci nebo vlivem podávaných léčiv včetně anti TNF- α . Po vyloučení těchto příčin kolísá frekvence periferní neuropatie dle jednotlivých studií mezi 0 a 39%⁹⁰. Bylo publikováno několik prací popisujících rozvoj imunitně podmíněné zánětlivé polyneuropatie u pacientů s IBD⁹¹. V retrospektivní analýze pacientů s periferní neuropatií a IBD byly více než dvě třetiny neuropatií axonálního typu, převážně sensorické, jen jedna třetina vykazovala známky demyelinizační léze⁸⁹. Naproti tomu v další rozsáhlé populační studii byly publikovány spíše případy monofázické radikulitidy a chronické sensomotorické polyneuropatie⁹². Patofyziologie rozvoje periferní neuropatie u pacientů s IBD zůstává neobjasněna. Na rozvoji demyelinizačních neuropatií se jistě účastní T lymfocyty, vztah mezi axonálními typy neuropatií a aktivitou imunitního systému je nejasný, ale jasně popisované zlepšení stavu po imunosupresivní terapii u některých pacientů potvrzuje i zde možný imunitní podíl⁸⁹.

Dalším častým postižením nervového systému jsou tromboembolické příhody. Pacienti s nespecifickými střevními záněty mají 2-4x vyšší riziko rozvoje cévní mozkové příhody než zdravá populace⁹³. V metaanalýze publikované v roce 2013 byly nespecifické střevní záněty asociovány s vyšším rizikem ischemických i krvácivých cévních mozkových příhod, nejvíce mezi ženami a mladými pacienty⁹⁴. Nespecifické střevní záněty jsou odpovědné za 1-6% trombóz mozkových žil⁹⁵. Důvody vyššího výskytu tromboembolických komplikací jsou stále ne zcela zřejmé,

pravděpodobně se jedná o kombinaci získaných a genetických faktorů. Spekuluje se o vlivu prozánětlivých cytokinů na děje v koagulační kaskádě. Pacienti s IBD mají nižší hladiny proteinu C a S a antitrombinu III a nižší hladinu tkáňového aktivátoru plasminogenu, což jsou klíčoví hráči v procesu fibrinolýzy⁹⁶. Dalšími mechanismy, které mohou ovlivnit rozvoj tromboembolických komplikací u pacientů s IBD jsou vaskulitidy a konsumpční koagulopatie. V souhrnu platí, že nespecifický střevní zánět je nezávislým rizikovým faktorem pro rozvoj tromboembolických příhod⁹⁷.

Prevalence syndromu neklidných nohou u pacientů s Crohnovou chorobou je uváděna až u 30% pacientů⁹⁸. To je významně více než u běžné populace. Objevuje se v časové souvislosti s rozvojem klinických příznaků IBD. Recentní studie poukazují na obecně vyšší výskyt poruch spánku u pacientů s IBD.

V literatuře jsou zmiňovány asociace s dalšími neurologickými chorobami, jako jsou epilepsie, neurogení ztráta sluchu, choroby autonomního nervového systému⁹⁹ a dokonce i myastenia gravis¹⁰⁰.

Samostatnou kapitolou zůstává koincidence Crohnovy choroby a roztroušené sklerózy (RS).

2.6.1 Lékově navozené neurologické komplikace u pacientů s IBD

Kromě imunitně podmíněných mechanismů může mít na rozvoj neurologických komplikací u pacientů s IBD vliv i podávaná terapie. Cyclosporin je dlouhá léta využíván zejména v terapii akutní fáze ulcerosní kolitidy. Příznaky neurotoxicity se objevují u 10-30% pacientů léčených tímto preparátem. Nejčastěji se jedná o posturální tremor patrný zejména na horních končetinách. Závažnější příznaky jsou popisovány u 5% pacientů a zahrnutí psychózy, halucinace, svalovou slabost, postižení mozečku a rozvoj leukoencefalopatie¹⁰¹. Metronidazol užívaný k symptomatické terapii IBD je často spojován s rozvojem periferní či autonomní

neuropatie, jejíž příznaky často mizí po vysazení tohoto antibiotika. V souvislosti s terapií sulfasazalinem byl popsán rozvoj transverzální myelitidy a encefalopatie¹⁰².

Relativně častou komplikací podávání kortikosteroidů je rozvoj akutních psychiatrických obtíží, zejména psychózy či prohloubení depresivní symptomatiky.

Nově užívaná biologická terapie s sebou nese rizika poměrně závažných nežádoucích účinků pro nervový systém. Natalizumab je humanizovaná monoklonální protilátka proti α -4 integrinu, který je exprimován na leukocytech a brání tak průniku leukocytů přes cévní stěnu. Byl schválen k terapii Crohnovy choroby u pacientů, kteří selhali na jiném typu terapie. Nejzávažnějším nežádoucím účinkem je možný rozvoj progresivní multifokální encefalopatie (PML). Riziko rozvoje PML stoupá u pacientů, kteří jsou nositeli jinak zcela benigního JC viru (50% populace), jsou léčeni natalizumabem více než dva roky a současně užívají imunosupresivní terapii¹⁰³. Při dodržování doporučených bezpečnostních opatření je riziko rozvoje PML relativně nízké.

Nejčastěji užívanou biologickou terapií u pacientů s IBD je monoklonální protilátka proti TNF- α . Od roku 1996, kdy byla tato léčba schválena, bylo publikováno mnoho prací popisující vliv této terapie na rozvoj neurologických onemocnění. Ve zprávě FDA z roku 2009 se nejčastěji jednalo o periferní neuropatie (42%), dále demyelinizační onemocnění centrálního nervového systému (17,2%), izolované optické neuritidy (17,4%) a parézy lícního nervu (7,4%). Nedávno byl publikován případ rozvoje PRE syndromu (Posterior Region Encephalopathy) u dětského pacienta s IBD léčeného infliximabem¹⁰⁴. Shin a kol. popsali rozvoj dysarthrie a ataxie u pacienta na terapii infliximabem, jehož potíže se zhoršovaly během terapie a vyústily po 6ti měsících v diagnosu Miller-Fisherova syndromu - variantě Guillan-Barre syndromu. Bylo rovněž identifikováno dalších 15 případů rozvoje tohoto syndromu u pacientů léčených anti TNF- α s rozvojem příznaků v rozmezí 6ti týdnů až 2 let od zahájení terapie¹⁰⁵. Vztahu mezi anti TNF- α a RS je věnována samostatná kapitola – viz níže.

Diskutovány byly četné hypotézy vysvětlující možný vztah mezi terapií anti TNF- α a rozvojem neurologických obtíží, ale žádná dosud nebyla všeobecně přijata. Chybí dlouhodobá data z postmarketingových studií a prospektivní studie s využitím kontrolních skupin¹⁰⁶.

Prozánětlivý cytokin TNF- α má významnou roli v mnoha procesech v CNS, jako je aktivace mikroglie a astrocytů v případě poškození tkáně, regulace prostupnosti hematoencefalické bariéry, synaptická plasticita aj.. Podílí se na vývoji hippocampálních neuronů, ale může rovněž přispívat k neurotoxické aktivaci glutamátových NMDA receptorů¹⁰⁷. Dále se účastní v patogenezi rozvoje demyelinizace v periferním i centrálním nervovém systému. Aktivované autoreaktivní klony T lymfocytů a makrofágů uvolňují množství TNF- α , který dále stimuluje rozvoj imunitní odpovědi. Tato reakce může vést k destrukci cévních endoteliálních buněk a poruše hematoencefalické bariéry. TNF- α dále stimuluje makrofágy k produkci volných kyslíkových radikálů, toxických produktů dusíkového metabolismu, což spolu s aktivací komplementu přispívá k destruktivnímu zánětlivému procesu¹⁰⁸.

Elevace TNF- α byla popsána u mnoha neurologických onemocnění jako je Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba, RS a některé formy periferních neuropatií. U periferních neuropatií bylo prozánětlivé působení TNF- α potvrzeno nálezem vyšších hladin tohoto cytokinu u 68% pacientů s multifokální motorickou neuropatií (MMN), dále u 27-63% pacientů s Guillan-Barré syndromem a až u 25-57% pacientů s chronickou demyelinizační zánětlivou neuropatií (CIDP)¹⁰⁹.

Na druhé straně byl prokázán i neuroprotektivní efekt TNF- α na CNS, zejména jeho úloha při remyelinizaci zejména prostřednictvím vazby na receptor TNFR2¹¹⁰. Tyto nálezy vysvětlují heterogenní působení TNF- α jednak v závislosti na aktivaci jednotlivých receptorů, ale jeho vliv se liší i u jednotlivých autoimunitních chorob. Například blokáda TNF- α potlačuje příznaky experimentální alergické encefalitidy (EAE), ale u pacientů s RS naopak průběh nemoci zhoršuje.

2.7 Nespecifické střevní záněty a roztroušená skleróza (RS)

Nespecifické střevní záněty stejně jako roztroušení skleróza patří mezi imunitně podmíněné choroby. U pacientů trpících jednou autoimunitní chorobou bylo již před mnoha lety potvrzeno vyšší riziko rozvoje další autoimunity, toto riziko stoupá i u jejich příbuzných¹¹¹. Vztah mezi nespecifickými střevními záněty a RS je studován již od osmdesátých let minulého století, kdy byla poprvé publikována data potvrzující vyšší riziko rozvoje RS u pacientů s nespecifickými střevními záněty¹¹². Později byla tato data potvrzena dalšími rozsáhlými studiemi, například v roce 2005, Gupta ve své práci potvrdil vyšší riziko rozvoje RS u pacientů s Crohnovou chorobou s incidence rate ratio 2,21, u pacientů s ulcerosní kolitidou s incidence rate ratio 2,63 v porovnání se zdravými kontrolami¹¹³. Do této práce bylo zahrnuto téměř 8000 pacientů s Crohnovou chorobou, 12 000 pacientů s ulcerosní kolitidou a 80 000 kontrol. Data byla získána z britského registru praktických lékařů a zahrnovala období od roku 1988 do roku 1997 – tedy dobu před nástupem biologické terapie. V práci bylo zohledněno užívání konkomitantní terapie – zejména azathioprinu a kortikosteridů, kdy bylo potvrzeno mírné snížení rizika rozvoje RS u pacientů na této terapii oproti pacientům bez léčby. Dále byla zohledněna problematika kouření, kdy byl potvrzen vliv kouření na výskyt RS u pacientů zejména s ulcerosní kolitidou. V další práci byl prokázán vyšší výskyt gliových změn CNS na MRI v T2 vážených obrazech u pacientů s IBD oproti zdravé populaci¹¹⁴. Na druhé straně bylo publikováno i několik prací popisujících rozvoj dalších autoimunit včetně IBD u pacientů s RS a jejich příbuzných, výsledky těchto studií se však velmi liší s ohledem na design jednotlivých prací¹¹⁵.

Vyšší riziko rozvoje RS u pacientů s nespecifickými střevními záněty lze vysvětlit podobnými imunopatologickými mechanismy podílející se vzniku obou chorob, nelze opominout ani identické environmentální a psychosociální rizikové faktory¹¹⁶. Zajímavá je role mikrobiální střevní flory u obou chorob. Zatímco u nespecifických střevních zánětů je podrobně zkoumána a známa, u demyelinizací byl

teprve v nedávné době na zvířecích modelech potvrzen vliv složení střevní mikroflóry na rozvoj a průběh EAE¹¹⁷.

V imunologických studiích bylo demonstrováno silné působení Th-17 lymfocytů u obou chorob. U RS vede aktivace Th-17 lymfocytů prostřednictvím sekrece prozánětlivých cytokinů IL-17 a IL-22 k zánětu a degeneraci v CNS, stejně tak se tyto cytokiny podílí na tkáňovém zánětu v oblasti střeva u IBD¹¹⁸.

V posledních letech v souvislosti se zavedením moderní biologické léčby protilátkou anti TNF- α vzrůstá počet prací zabývajících se možnou souvislostí mezi touto terapií a rozvojem RS. Jedná se však v převážné většině případů o retrospektivní studie a výsledky jsou zatím nejednoznačné^{119, 120} – viz níže.

2.8 Etiologie a patogeneze roztroušené sklerózy

Roztroušená skleróza (RS) byla donedávna považována za chronické autoimunitní onemocnění centrálního nervového systému (CNS). Se zlepšujícími se znalostmi patogeneze této choroby je ale zřejmé, že se jedná o nemoc, na jejímž vzniku a průběhu se od počátku podílí jak zánětlivé, tak i neurodegenerativní a porušené reparační mechanismy¹²¹. K rozvoji onemocnění dochází v případě koincidence rizikových faktorů. Mezi environmentální faktory patří mimo jiné infekce virovými patogeny (Ebstein-Barr virus (EBV)), Herpetické viry), kouření, dietní chyby (obezita, skladba stravy, zvýšené množství soli) či nedostatek vitamínu D a nízká hladina Melatoninu¹²².

Melatonin je hormon produkovaný pineální žlázou v závislosti na délce denního a nočního cyklu. Je zapojen nejen do řízení cirkadiálního rytmu, ale i do reprodukčního hormonálního cyklu (včetně menstruačního, který byl spojován s ovlivňováním aktivity RS), ale i do dějů ovlivňujících patogenezi RS. V nedávné práci byly korelovány sezónní výkyvy v aktivitě RS v korelaci s hladinou melatoninu v moči. Bylo zjištěno, že exacerbace RS nekorelovaly s množstvím respiračních infekcí,

množstvím ultrafialového záření ani sérovou hladinou vitamínu D, ale byla prokázána korelace mezi mírou exacerbace choroby a poklesem hladiny melatoninu¹²³. V experimentech na myších s experimentální alergickou encefalomyelitidou byl prokázán jeho protizánětlivý efekt daný především stimulací sekrece regulačních T lymfocytů a inhibicí sekrece prozánětlivých T lymfocytů. Melatonin byla tak potvrzen jako jeden z významných činitelů ovlivňující především sezónní výkyvy aktivity RS u jednotlivých pacientů.

Nízká hladina vitamínu D je již mnoho let spojována s vyšším výskytem autoimunitních chorob. Aktivní forma vitamínu D – kalcitriol se syntetizuje z prekursoru 7-dehydrocholesterolu a podstupuje klíčovou přestavbu v kůži po ozáření UVB zářením na cholekalciferol, který je dále v játrech přeměněn na aktivní metabolit kalcitriol. Vitamin D absorbovaný ze střeva je rovněž metabolizován v játrech. Aktivita enzymů nutných k přeměně provitamínu na aktivní formu vitamínu D je řízena Parathormonem příštinných tělísek reagujících zejména na sérovou hladinu kalcia a fosfátů¹²⁴. Enzymy potřebné k syntéze kalcitriolu byly popsány i v dalších buňkách a tkáních jako jsou lymfocyty a mikroglie v CNS¹²⁵.

Kromě dobře známého efektu vitamínu D na metabolismus vápníku je v posledních letech studován jeho vliv na imunitní systém a ovlivnění probíhajícího zánětu. Byla prokázána exprese receptorů pro vitamin D na povrchu lymfocytů, monocytů, dendritických buněk, makrofágů a neutrofilů¹²⁶. Imunitní buňky také obsahují enzymy účastnící se na syntéze aktivního metabolitu vitamínu D. Obě tyto skutečnosti potvrzují zapojení vitamínu D do imunitních dějů¹²⁷. V systému vrozené imunity vitamin D ovlivňuje syntézu antibakteriálních proteinů v makrofázích a reguluje množství Toll like receptorů na monocytech¹²⁸. Vitamin D se účastní i regulace metabolismu železa, oxidu dusnatého, apoptózy a systému intracelulárních degradačních pochodů, což svědčí pro jeho možné zapojení v ovlivnění neurodegenerativních procesů¹²⁷. Vitamin D se účastní na diferenciaci dendritických buněk, in vitro byl prokázán jeho vliv na snížení schopnosti prezentovat antigeny vedoucí k mírnější stimulaci T lymfocytů¹²⁹.

Hlavním efektem vitamínu D v systému získané imunity je pravděpodobně regulace cytotoxických CD8+ T lymfocytů a regulačních Th lymfocytů prostřednictvím inhibice produkce prozánětlivých Th-1 cytokinů (IL-2, IFN- γ a TNF- α) a stimulace produkce protizánětlivých cytokinů (IL-4, IL-5 a IL-10). Vitamin D dále ovlivňuje produkci výrazně prozánětlivého cytokinu IL-17, který je zásadní v patogenezi RS i nespecifických střevních zánětů¹³⁰. Vliv vitamínu D na B buněčnou imunitu je intenzivně studován, je již zřejmé, že se podílí nejen na regulaci produkce IgG, ale dokáže i potlačit diferenciaci plasmatických buněk¹³¹.

Role vitamínu D v patogenezi RS již byla spolehlivě potvrzena. Dvě prospektivní studie potvrdily protektivní vliv vitamínu D u RS. V USA byla potvrzena korelace vyšší sérové hladiny vitamínu D s nižším rizikem rozvoje RS¹³². V novější práci byla hladina vitamínu D nad 75nmol/l asociována s nižším výskytem RS¹³³. Byl potvrzen i vliv hladiny vitamínu D na samotný průběh choroby. Nízká hladina vitamínu D je spojena s vyšším rizikem relapsů choroby a naopak vyšší hladina vitamínu D přispívá ke stabilizaci RS¹³⁴. Tato data byla potvrzena i u pacientů na terapii Interferonem beta, kdy hladina vitamínu D vyšší než 100nmol/l byla spojena s nižším výskytem nových T2 lézí na MRI mozku¹³⁵. Pacienti s klinickým izolovaným syndromem, kteří vykazovali nízkou hladinu vitamínu D měli taktéž vyšší riziko rozvoje definitivní RS¹³⁶.

Svou roli zde hrají genetické dispozice. Rozsáhlé mendelovské studie prokázaly vyšší riziko rozvoje RS u pacientů s polymorfismy 4 nukleotidů ovlivňující metabolismus vitamínu D ve smyslu snížení jeho hladiny¹³⁷. Pozitivní role vitamínu D byla nakonec potvrzena v klinické studii SOLAR u 229 pacientů na terapii Interferonem beta, kde byl popsán velmi dobrý vliv suplementace vitamínem D v dávce 14000UI denně zejména na snížení aktivity choroby měřené počtem nových lézí na MRI mozku¹³⁸. Tato studie rovněž potvrdila bezpečnost suplementace vitamínem D v takto vysokých denních dávkách.

V nedávné době byla potvrzena souvislost mezi hladinou vitamínu D a persistentní infekcí EB virem, která je považována za další rizikový faktor rozvoje RS¹³⁹.

Kouření je dalším z environmentálních faktorů podílejících se na rozvoji RS. Jedná se o faktor, který podle epidemiologických studií dvakrát zvyšuje riziko rozvoje RS¹⁴⁰. Byla prokázána i souvislost s kumulativní dávkou cigaret. Tato data jsou podpořena i nálezem zvýšených hladin cotininu (derivátu nikotinu) u pacientů před samotným rozvojem RS¹⁴¹. Nikotin ale pravděpodobně není hlavním patogenetickým faktorem, v některých studiích byl dokonce potvrzen protektivní efekt nikotinu u myší na rozvoj RS. Svou roli zde budou hrát tisíce prokazatelně toxických látek obsažených v cigaretovém kouři. Kouření je dále spojeno s rychlejším vývojem definitivní RS, vyšší agresivitou choroby, rychlejší progresí disability a s aktivitou na MRI¹⁴².

Pravděpodobným mechanismem účinku kouření je toxické působení na neurony, oligodendrocyty a aktivace autoagresivních lymfocytů v dýchacích cestách¹⁴³.

Neméně podstatnou roli v patogenezi RS hraje určitá genetická predispozice a další epigenetické a postgenomické události¹⁴⁴.

2.8.1 Imunitně podmíněné mechanismy rozvoje RS

Imunitní dysregulace u RS se týká jak nespecifické tak specifické imunity. Na počátku celého řetězce dějů jsou dendritické buňky, které po navázání antigenu jako antigen prezentující buňky komunikují s CD4+ T lymfocyty a spouští specifickou imunitní odpověď¹⁴⁵. Zde se v aktivaci dendritických buněk uplatňují genetické i environmentální faktory. Diferenciace CD4+ T lymfocytů po aktivaci dendritickými buňkami závisí na přítomnosti specifických cytokinů. V přítomnosti Interleukinu 12 se CD4+T buňky diferencují v Th1 buňky sekretující prozánětlivý Interferon γ (IFN- γ), za

přítomnosti Interleukinu 23 (Il23) se T buňky mění v Th 17 lymfocyty sekretující Interleukin 17 (Il17). Za normálních okolností se tyto buňky účastní boje proti intracelulárním patogenům (Th1) či plísním (Th17), v případě dysregulace imunitního systému jsou však základním pilířem rozvoje autoimunitního zánětu¹⁴⁶.

Vliv genetické predispozice na charakter cytokinového prostředí byl detailně popsán například v rozsáhlé studii publikované v roce 2011, kde bylo zjištěno, že 30% polymorfismů, které jsou asociovány s RS jsou v regionech v blízkosti genů kódujících expresi cytokinů. Obecně však zůstává souvislost mezi jednotlivými genetickými variantami a rozvojem RS ve velké míře nejasná¹⁴⁷.

Působení Il 23 a Il17 u RS byl prokázán v mnoha experimentálních studiích, kdy například podání monoklonální protilátky proti Il 17 myším s rozvinutou Experimentální alergickou encefalomyelitidou (EAE) vedlo k remisi choroby¹⁴⁸. V klinických zkouškách byla dále prokázána vysoká hodnota Il 17 u pacientů během relapsu RS¹⁴⁹. Patogenicita Th 17 buněk je dána několika odlišnými cestami. Jejich působením dochází ke zvýšení hladiny oxidačních radikálů a tím k vyšší permeabilitě hematoencefalické bariéry (HEB). Jejich koncentrace a účast v imunitních procesech v ektopických lymfatických foliclech představuje spojení mezi T a B buněčnou odpovědí. Th 17 dále produkují makrofágy a granulocyty stimulující faktor, čímž podporují chronický zánět zprostředkovaný makrofágy¹⁵⁰.

Aktivované prozánětlivé buňky Th 1 a Th 17 překračují hematoencefalickou bariéru, zde jsou dále reaktivovány a způsobují zánětlivou odpověď. Prozánětlivé cytokiny aktivují makrofágy a mikroglie, které dále sekretují kyslíkové a dusíkaté radikály a cytokiny jako je tumor necrosis faktor α (TNF α). Celý proces následně vede k demyelinizaci a axonální ztrátě¹⁵¹.

Aktivace makrofágů a mikroglie prostřednictvím T buněk je klíčovým faktorem demyelinizace. Makrofágy a mikroglie jsou zodpovědní za přetrvávající imunitní odpověď vůči antigenům myelinu. Mikroglie se ale zároveň uplatňuje v reparačních a podpůrných mechanismech. Odstraňuje mrtvé buňky, což je

nezbytnou podmínkou remyelinizace a secernuje růstové faktory, které jsou důležité pro růst a přežití astrocytů a nervových buněk¹⁵².

Patogenicita Th1 a Th17 lymfocytů byla potvrzena i na klinické úrovni prostřednictvím vysvětlení efektu imunomodulační terapie. Tyto buňky jsou izolovány v lymfatických uzlinách po podání fingolimodu a udržovány v periférii – vně CNS po podání natalizumabu.

Na zvířecích modelech RS byl prokázán rozdílný vliv Th1 a Th17 na klinický průběh choroby. Při převažující přítomnosti Th1 lymfocytů dochází k infiltraci bílé hmoty CNS meningeálními a parenchymálními mononukleárními buňkami a rozvíjí se klasická EAE zejména s postižením míchy, zatímco v přítomnosti Th17 buněk a IL-23 dochází ke tvorbě lymfoidních folikulů v leptomeningách s klinickým postižením mozku¹⁵³.

Role CD8+ T lymfocytů je rovněž dobře popsána. Tyto buňky sekretují cytokin CD137 a přestupují přes HEB skrze vazbu na $\alpha 4$ integrin. V CNS produkují prozánětlivý cytokin IL17¹⁵⁴. Jejich přítomnost v mozku a v mozkomíšním moku koreluje s mírou axonální destrukce. Zvýšená cytolytická aktivita proti EBV (Ebstein Barr virus) a klonální expanze EBV reaktivních CD8+ lymfocytů byla potvrzena u pacientů s RS a představuje tak zajímavou patogenetickou souvislost¹⁵⁵.

Další buněčnou subpopulací účastníci se v neuropatofyziologii RS jsou $\gamma\delta$ T lymfocyty. Je prokázána jejich klonální expanze v mozkomíšním moku u pacientů na počátku choroby a jsou schopny secernovat prozánětlivý cytokin IL-17. Jsou zastoupeny v demyelinizačních plakách a mají i cytotoxický účinek zprostředkovaný syntézou perforinů nebo stimulací protilátkově navozené cytotoxicity. Potlačením aktivity T regulačních lymfocytů a stimulací sekrece IL-23 se podílí na potenciaci autoimunitního procesu¹⁵⁶.

Vliv NK buněk na rozvoj RS není jednoznačně negativní. Stimulují sice dozrávání antigen prezentujících buněk a produkci některých prozánětlivých cytokinů, avšak subpopulace nesoucí znak CD 56 mají regulační funkci, která se

spolupodílí na terapeutickém efektu nově vyvíjeného léčiva pro pacienty s RS – daclizumabu, monoklonální protilátce proti znaku CD 25¹⁵⁷.

V poslední době je intenzivně studováno zapojení B buněk do patogeneze RS. Autoprotilátky produkované B lymfocyty vznikající především v cervikálních lymfatických uzlinách, jejichž klony byly nalezeny v CNS, se podílí jak na demyelinizaci, tak na axonální ztrátě. Je také již zřejmé, že protilátky nejsou namířeny pouze proti myelinu, ale rovněž proti dalším strukturám CNS jako jsou neurony, buňky glie a imunitní buňky. Reaktivace paměťových B lymfocytů přímo v CNS dále vede prostřednictvím aktivace komplementu k destrukci myelinu a k aktivaci T lymfocytů. T lymfocyty naopak stimulují produkci protilátek a diferenciaci B lymfocytů. Paměťové B lymfocyty se diferencují v plasmatické buňky, které zachycujeme v mozkomíšním moku v podobě oligoklonálních pásů. Jedná se o jedno ze základních vyšetření užívaných v diagnostice RS. Existují práce korelující klinickou progresi RS s poměrem B lymfocytů a monocytů v mozkomíšním moku nebo s přítomností intrathékálního oligoklonálního imunoglobulinu M¹⁵⁸. Jiné práce popisují korelaci mezi počtem a objemem Gadolinium enhancujících lézí na MRI mozku s množstvím likvorových plasmatických buněk¹⁵⁹. B buňky z meningeálních folikulů jsou zodpovědné za pro RS specifický demyelinizační proces subpiálních prostor, tyto B buňky produkují cytokiny, které aktivují mikroglie v subkortikálních plakách. V nedávné době byly popsány poddruhy B buněk přímo secernující makrofágy stimulující růstový faktor a prozánětlivé cytokiny Il 6 a TNF - α ¹⁶⁰. B buňky mají ale i svou regulační funkci. Produkují některé cytokiny, jako jsou IL-35 a IL-10, které mají prokazatelný protizánětlivý efekt.

V klinické rovině je jasným důkazem zapojení B buněk do patofyziologie RS velmi dobrý efekt monoklonální protilátky proti znaku CD 20 na povrchu B lymfocytů – ocrelizumabu u pacientů s relaps remitentní RS¹⁶¹.

Svou úlohu v patogenezi RS mají i buňky mimo imunitní systém. Typickým příkladem jsou astrocyty, které kontrolují infiltraci periferních prozánětlivých buněk do CNS a regulují aktivitu mikroglie, oligodendrocytů a dalších imunitních buněk¹⁶².

Byl popsán enzym produkovaný astrocyty – B4GALT6, který byl ve vysokých koncentracích zachycen v demyelinizačních plakách CNS, fungující jako autokrinní působek posilující probíhající zánět a neurodegeneraci u chronicky probíhajícího zánětu v rámci EAE¹⁶³.

Zapojení největšího imunitního orgánu v těle – tkáně střeva se specifickou střevní mikroflórou a možné ovlivnění celkového nastavení imunitního systému dietními zvyklostmi je v současné době rovněž ve středu zájmu. Právě zde dochází k polarizaci Th lymfocytů a silné interakci mezi T a B buněčnou imunitní odpovědí¹⁶⁴. V experimentálních pokusech na myších zcela prostých komenzálních střevních bakterií bylo prokázáno, že absence bakterií ve střevě je protektivním faktorem rozvoje EAE z důvodu oslabení schopnosti sekrece prozánětlivých Th17 lymfocytů a B buněčné odpovědi¹⁶⁵.

Šířící se demyelinizace spolu s od počátku probíhající axonální ztrátou v bílé i šedé hmotě CNS jsou základními patologickými znaky RS. Na tomto procesu se účastní všechny výše zmíněné složky vrozené i získané imunity. Zánětlivá odpověď vede k produkci toxických volných kyslíkových radikálů. S progredující chorobou je oxidační poškození tkáně CNS prohlubováno destrukcí mitochondrií, akumulací železa a další aktivací mikroglie¹⁶⁶. Axonální ztráta je způsobena především mitochondriální dysfunkcí a je spojena s rozvojem časné atrofie CNS. Progresivní úbytek mozkové tkáně okolo 0,5-1% ročně u pacientů s RS je až 4x rychlejší než u zdravé populace. Mozková atrofie dobře koreluje s tíží kognitivního poškození u pacientů s RS¹⁶⁷.

U progresivních forem RS vidáme poněkud odlišné poškození CNS. Zatímco u relabujících RS jsou patrné fokální zánětlivé plaky v bílé hmotě CNS, u progresivní RS jsou typické kortikální plaky a difuzní poškození i normálně vypadající bílé hmoty, kde dochází k aktivaci mikroglie ve specifických nodulech¹⁶⁸.

Detailní pochopení patogeneze RS umožňuje vývoj účinné terapie. Přes veškerý pokrok je dosud dostupná terapie namířena téměř výhradně proti probíhajícímu zánětu, který ale s délkou trvání choroby na periférii vyhasíná a ve fázi sekundárně progresivní RS je již izolován v CNS v ektopických lymfatických folikulech

v meningách, kde je pro terapii nedostupný¹⁶⁹. Proto je účinná terapie klíčová v počáteční, vysoce zánětlivé fázi choroby. Jednotlivé druhy terapie interferují s klíčovými imunopatogenetickými mechanismy popsány výše.

Jednou z hlavních výzev do budoucna je individualizace terapie na základě zjištěného převažujícího typu imunopatologického postižení u konkrétního pacienta.

2.9 TNF - α a roztroušená skleróza

K pochopení vztahu mezi anti TNF- α a RS je nutné objasnění role TNF- α v CNS. Již od 30. let minulého století, kdy byl tento prozánětlivý cytokin izolován, zůstává ve středu zájmu výzkumníků zejména pro jeho široké uplatnění v imunitně podmíněných mechanismech. Původně byl klasifikován jako krevní faktor působící hemorhagickou nekrózu některých nádorů a dále látka produkovaná mikrofégy odpovědná za smrt nemocných buněk¹⁷⁰. Další výzkum pak ozřejmil zejména komplexitu působení TNF- α v organismu. Otázka vlivu TNF- α na CNS však zůstává dosud ne zcela objasněna, což představuje jeden z hlavních problémů pro bezpečné využívání léků ovlivňující procesy podmíněné tímto působkem.

TNF- α je primárně součástí nespecifické, vrozené imunity. Tato molekula je nezbytná pro udržování homeostázy, správnou organizaci a funkci orgánů imunitního systému a je jedním z klíčových hráčů ve správné reakci organismu proti patogenům¹⁷¹. Je velmi rychle sekretován makrofágy a monocyty v návaznosti na antigenní stimulaci a spouští prozánětlivou odpověď. Produkce TNF- α s jeho prozánětlivým působením je ve zdravém organismu pečlivě řízena a limitována na akutní fázi zejména prostřednictvím regulace genové exprese TNF a na úrovni jeho receptorů¹⁷². Jakákoli porucha v této regulaci může být příčinou rozvoje patologie. Příkladem může být TNFR1-asociovaný periodický syndrom (TRAPS), který je způsobený mutací receptoru TNFR1 bránící jeho štěpení, což vede k zesilující signalizaci TNF- α systémové autoimunitní odpovědi¹⁷³.

TNF- α je prototypem prozánětlivého cytokinu, u kterého bylo již krátce po jeho objevení popsána aberantní produkce a její vliv na rozvoj systémových zánětlivých onemocnění jako je revmatoidní artritida či nespecifické střevní záněty i vliv na zánětlivá onemocnění nervového systému¹⁷⁴. Stal se tak poměrně rychle adeptem k možnému terapeutickému ovlivnění řady nemocí. V dnešní době blokátory TNF- α představují široce užívanou skupinu léčiv k ovlivnění chronických imunitně podmíněných chorob jako je zejména revmatoidní aritrida, IBD, psoriáza a jiné. S rozšířením této terapie se ale objevily nežádoucí účinky, ať už ty očekávané – související s imunosupresivním účinkem – jako je zvýšené riziko infekcí, lymfomů či jiných malignit¹⁷⁵, ale i ty méně očekávané, jako je exacerbace demyelinizačního onemocnění či periferních neuropatií¹⁷⁶. Tato klinická data poprvé potvrdila, že kromě dominantního prozánětlivého působení, existuje i protektivní role TNF- α v CNS a je třeba těmto mechanismům porozumět.

Pleiotropní efekt TNF- α je dán velmi komplexním mechanismem účinku¹⁷⁷. TNF- α je produkován ve dvou odlišných bioaktivních formách, jako transmembránový TNF (tmTNF) a slubilní TNF (solTNF), který vzniká štěpením tmTNF TNF- α konvertujícím enzymem. Studie na zvířatech prokázaly rozdílné funkce obou forem, kdy byly u tmTNF potvrzeny prospěšné aktivity, které naopak postrádalo systémové prozánětlivé působení solTNF. Myši bez obou forem TNF- α postrádají sekundární lymfatické orgány, nereagují na imunizaci, jsou náchylné k infekcím a nejsou schopny rozvinout příznaky EAE. Naproti tomu myši postrádající pouze solTNF s funkčním tmTNF mají částečně funkční lymfatické orgány. Přítomnost tmTNF však nebyla dostačující k rozvoji EAE. Z toho vyplývá, že tmTNF je zodpovědný za dostatečnou obranu proti infekci, zatímco solTNF jí optimalizuje¹⁷⁸. Tyto výsledky poprvé ukázaly, že selektivní ovlivnění pouze solTNF by mohlo být benefitní i pro chronické zánětlivé choroby postihující CNS. Další podstatné faktory se dějí na úrovni intracelulární signalizace. TNF- α působí skrze dva membránové receptory TNRF1 a TNRF2. TmTNF působí přes oba receptory zatímco solTNF pouze přes TNRF1. To znamená, že TNRF2 je ovlivnitelný pouze prostřednictvím tmTNF¹⁷⁹.

TNRF1 je vysoce exprimovaný na mnoha buňkách organismu. Signál přenesený skrze TNRF1 vede ke komplexním dějům v buňce, hlavní je jeho úloha v buněčném přežití a smrti, skrze aktivaci transkripčního faktoru NF- κ B indukuje transkripci mnoha genů kodujících pro zánětlivé cytokiny. Na buněčné úrovni kontroluje TNRF1 obranu proti infekcím navozením smrti či přežití buňky, na úrovni organismu stimuluje zánětlivou odpověď s projevy horečky, zvýšené potřeby spánku apod. Exprese TNRF2 je izolována pouze na imunitní, endoteliální buňky a některé buňky CNS a jeho signální cesta má pravděpodobné homeostatické účinky.

V CNS byla prokázána zvýšená hladina TNF- α u mnoha chorob jako jsou RS, Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba, HIV encefalopatie a jiné. TNF- α je produkován mnoha buňkami CNS včetně mikroglie, které jsou významným zdrojem tohoto cytokinu. TNF- α je klíčový mediátor sekundárního poškození CNS. Indukuje adhezi leukocytů k cévní stěně indukci adhezivních molekul VCAM a ICAM a tím přispívá k poruše hematoencefalické bariéry¹⁸⁰. SolTNF skrze stimulaci TNRF1 indukuje nekrózu oligodendrocytů, což potvrzuje cytotoxický efekt TNF- α /TNRF1 signální cesty a je jedním ze známých činitelů v patogenezi RS¹⁸¹. Genetické studie na myších potvrdily důležitost TNF- α v indukci EAE i jeho vliv na progresi choroby. Na druhou stranu další studie u myší deficientních pro solTNF, tmTNF a lymfotoxin- α nebo deficientních pro TNRF1 poukázaly na těžší průběh EAE u takto postižených myší. Z toho vyplývá, že TNF- α má různé role v různých fázích zánětlivých chorob CNS, kdy solTNF se zdá klíčový pro start a zesílení zánětu na počátku choroby, zatímco tmTNF se jeví jako protektivní faktor již probíhající choroby schopný regulovat autoagresivní odpověď¹⁸².

Na klinické úrovni byla komplexita působení TNF- α v CNS potvrzena selháním klinických studií s podáváním neselektivním inhibítoem TNF- α . Přes naděje vkládané do preparátu anti TNF- α s ohledem na potvrzenou vysokou hladinu tohoto cytokinu v CNS u pacientů s aktivní RS byl ve studii s lenerceptem (dimerický fragment TNRF1, který se váže na solTNF i tmTNF a inhibuje jejich vazbu na TNRF) demonstrován vyšší počet relapsů a těžší neurologický deficit u léčených pacientů

oproti placebo¹⁸³. Další práce popisuje dva pacienty s progresivní RS, kteří vyvinuly Gadolinium enhancující léze a lymfocytární pleocytózu spolu se zvýšenými titry IgG v mozkomíšním moku po každé infuzi infliximabu¹⁸⁴. Tyto práce ukázaly nejen neefektivitu neselektivní blokády TNF- α , ale potvrdily i pravděpodobné protektivní působení TNF- α v CNS.

To bylo potvrzeno například prací na myších modelech, kdy TNF deficientní myši vykazovaly redukcí prekurzorových oligodendrocytárních buněk, což vedlo k opožděné remyelinizaci¹⁸⁵. Protektivní faktory jsou přičítány zejména TNRF2 receptoru, který je exprimován pouze na několika typech buněk, zejména regulačních Th lymfocytech, oligodendrocytech, některých typech neuronů a na endoteliálních buňkách. Mimo jiné byla potvrzena jeho účast na obraně proti oxidačnímu poškození, glutamátové toxicitě a ochraně před buněčnou smrtí¹⁸⁶. TNRF2 je dále zejména skrze významnou expresi na Th lymfocytech schopen redukovat tkáňovou destrukci a naopak potencovat reparační mechanismy během autoimunitní demyelinizace.

Po zhodnocení výše uvedených poznatků je patrná nesmírná komplexita působení TNF- α v CNS, kdy je již zřejmé, že solTNF působící přes TNRF1 receptor je hlavním spouštěčem zánětlivých a posléze i neurodegenerativních změn v CNS, zatímco role tmTNF a TNRF2 je spíše protektivní. To činí ze solTNF a TNRF1 hlavní výzkumný cíl při hledání nových terapeutických možností v léčbě chronických zánětlivých chorob¹⁸⁷. Bylo vyvinuto několik biologických preparátů, které selektivně inhibují solTNF/TNRF1. Například specifický antagonist myšího TNRF1 dokáže v experimentech suprimovat projevy indukované arthritidy u myší¹⁸⁸. Humanizovaná protilátka proti TNRF1 (ATROSAB) je ve fázi preklinického testování¹⁷⁵. Selektivní blokátory TNRF1 mohou dobře konkurovat dosud užívaným anti TNF- α preparátům u systémových chronických zánětlivých onemocněních, problémem je jejich neprostupnost přes hematoencefalickou bariéru a tím daná možná limitace k použití k terapii zánětlivých onemocnění CNS. Přesto v experimentu byl prokázán velmi příznivý efekt anti TNRF1 protilátky k potlačení EAE¹⁸⁹.

2.10 Anti TNF- α a roztroušená skleróza

Jak bylo výše popsáno, je dnes potvrzen negativní vliv neselektivních blokátorů TNF- α na průběh roztroušené sklerózy. S rozšířením těchto preparátů v terapii systémových zánětlivých onemocnění se množí práce popisující rozvoj demyelinizace v souvislosti s užíváním anti TNF- α . Tyto práce zahrnují jak případy rozvoje jednorázových demyelinizačních událostí, tak definitivní RS¹⁹⁰⁻¹⁹³. V některých pracích bylo potvrzeno i zhoršení stávající RS u pacientů s nově nasazenou terapií anti TNF- α ve snaze o ovlivnění souběžně probíhajícího nespecifického střevního zánětu¹⁹⁴. V populační studii v USA bylo popsáno 153 případů demyelinizace jako nežádoucí účinek terapie TNF- α . Jednalo se zejména o pacienty s revmatoidní artritidou (50,9%), dále o pacienty s nespecifickými střevními záněty (18,9%). Žádný z těchto případů však nebyl FDA (Food drug organisation) uznán jako definitivně potvrzený^{195, 196}. Na základě výsledků výše uvedených studií lze předpokládat určitý vztah mezi terapií anti TNF- α a rozvojem RS. Stále ale zůstává nejasné, zda terapie anti TNF- α může sama o sobě způsobit rozvoj RS, či zda funguje jako určitý spouštěč již preexistující demyelinizace. Některé práce podporují druhou možnost¹⁹⁷. Dosud publikované práce zahrnují zejména retrospektivní data, byly publikovány pouze 2 prospektivní studie. První u pacientů s autoimunitní artritidou popisující rozvoj neurologických nežádoucích účinků anti TNF- α , avšak bez kontrolní skupiny¹⁹⁸ a práce popisující rozvoj periferní neuropatie u pacientů s IBD bez ohledu na užívanou terapii⁹⁰.

Díky porozumění fungování TNF- α v patogenezi RS bylo možné popsat možné způsoby působení anti TNF- α v CNS¹⁹⁹ a eventuální souvislost s RS¹⁹⁸.

- Negativní působení neselektivního anti TNF- α může být vysvětleno blokádou TNFR2 signální cesty podporující remyelinizaci a další reparační procesy v CNS²⁰⁰.

- Intravenózně podaná protilátka anti TNF- α nepřestupuje přes neporušenou hematoencefalickou bariéru a není tak schopna ovlivnit děje v CNS²⁰¹. To vysvětluje opačný efekt terapie anti TNF- α u Crohnovy choroby a dalších systémových autoimunitních chorob a u RS. Její působení v periférii může naopak enhancovat vznik autoreaktivních T lymfocytů a funkci antigen prezentujících buněk a akcelerovat produkci prozánětlivých cytokinů, například IFN γ ²⁰².
- Anti TNF- α může snižovat koncentraci TNF systémově, avšak s ohledem na neprostupnost hematoencefalické bariéry nikoli v CNS, což může vést k nárůstu koncentrace TNF- α v CNS²⁰³
- Některé studie poukazují na systémovou dysregulaci TNF- α u pacientů s RS, kdy byla popsána vyšší neutralizační kapacita séra vůči TNF- α u pacientů s RS. I zde by mohlo být vysvětlení vyšší četnosti demyelinizačních událostí u pacientů s RS po podání anti TNF- α ²⁰⁴.
- Polymorfismus v genu kódující TNFR1 také může hrát roli. Lidé s „A“ variantou TNFR1 mají až o 12% vyšší riziko rozvoje RS než lidé s „G“ variantou²⁰⁵. Pacienti s tímto receptorem jsou pak citlivější na terapii anti TNF- α , což může vést k rozvoji demyelinizace.
- Blokátory TNF- α mohou odhalit skryté latentní infekce, které mohou vést k nastartování autoimunitního procesu v CNS²⁰⁶.

Na základě výše popsaných skutečností se v současné době se nedoporučuje podávání terapie anti TNF- α u pacientů s RS nebo s prokázaným rizikem jejího rozvoje ani u nejbližších příbuzných těchto pacientů¹⁹¹.

3 Hypotéza a cíle práce

3.1 Hypotéza

- Infliximab a další neselektivní blokátory TNF- α jsou dávány do souvislosti s rozvojem demyelinizačního onemocnění.
- Chybí prospektivní data k posouzení vlivu terapie anti TNF- α na samotný rozvoj RS u predisponovaných pacientů či exacerbaci stávajícího demyelinizačního onemocnění . Většina prací podporuje druhou možnost.
- Na základě dosavadních zkušeností a literárně popsanych případů není všeobecně terapie anti TNF- α doporučována pacientům se známou diagnózou RS ani jejich nejbližším příbuzným.
- Zařazení neurologického screeningu pacientů s nespecifickými střevními záněty včetně MRI mozku před zahájením terapie anti TNF- α do běžné praxe může zvýšit bezpečnost této terapie.
- V případě zjištění jakýchkoli známek demyelinizačního onemocnění CNS je třeba pacienta z terapie anti TNF- α vyloučit a nelze ji znovu nasadit.

3.2 Cíle práce

- Neurologický screening pacientů s Crohnovou chorobou před zahájením a v průběhu terapie anti TNF- α a jeho začlenění do běžné praxe
- Zvýšení bezpečnosti terapie anti TNF- α u pacientů s nespecifickými střevními záněty
- Dlouhodobé multidisciplinární sledování pacientů s IBD na terapii anti TNF- α
- Upřesnění vztahu mezi nespecifickými střevními záněty a roztroušenou sklerózou
- Upřesnění charakteru vztahu mezi terapií anti TNF- α a roztroušenou sklerózou

4 Metody

Celkem byly zpracovány dvě statistické analýzy vycházející ze souboru pacientů s Crohnovou chorobou sledovaných na našem pracovišti.

Do prospektivní fáze studie bylo zařazeno 50 pacientů, kteří byli vyšetřeni na počátku studie (neurologické vyšetření a MRI mozku) a v odstupu cca 1,5 roku se zaměřením na možné známky rozvoje demyelinizačního onemocnění.

Kriteria pro zařazení pacienta do studie byla:

- 1 – historie Crohnovy choroby delší než 1 rok
- 2 – středně těžký nebo těžký průběh choroby

Vylučující kritéria byla:

- 1 – předchozí léčba preparáty anti TNF- α
- 2 – historie závažného neurologického onemocnění

Konkomitantní terapie pacientů v prospektivní fázi studie zahrnovala azathioprine, masalazine, kortikosteroidy nebo kombinaci všech uvedených léčiv.

Z 50ti pacientů zařazených do studie bylo 30 léčeno monoklonální protilátkou anti-TNF- α , u zbylých 20ti pacientů nebyla tato terapie indikována a tito pacienti byli sledováni jako kontroly. Nebyly zaznamenány žádné rozdíly v souběžné terapii mezi skupinou léčenou anti-TNF- α a skupinou kontrol (Tabulka 1).

Tabulka 1. Srovnání skupin pacientů podle délky choroby a předchozí terapie (azathioprin, kortikosteroidy)

| | | Celkem | Kontroly | Anti TNF-α |
|--------------------------------------|--------------|---------------|-----------------|-------------------------------------|
| | | N = 50 | N = 20 | N = 30 |
| Délka choroby | Průměr | 63.1 | 54.7 | 67.8 |
| | Medián (IQR) | 51 | 47 | 51 |
| Délka terapie azathioprinem | Průměr | 20.1 | 21.9 | 20.1 |
| | Medián (IQR) | 19 | 19 | 19 |
| Délka terapie kortikosteroidy | Průměr | 8.1 | 4.7 | 10.2 |
| | Medián (IQR) | 4.5 | 3.5 | 8 |

Na počátku studie jsme provedli podrobné neurologické vyšetření u všech pacientů se zaměřením na typické projevy demyelinizačního onemocnění CNS. Neurologické vyšetření bylo realizováno standardně jedním zkušeným neurologem specializujícím se na problematiku roztroušené sklerózy.

Zároveň všichni pacienti podstoupili vyšetření MRI mozku na přístroji 1,5-T system (Gyrosan Intera, Philips Medical Systems, Best, The Netherlands). Zobrazující protokol se skládal z (a) axiálních T2- vážených, turbo spin-echo (T2-TSE) sekvencí (TR/TE of 4455/100 ms, o šířce řezu 5 mm a 1 mm mezerami mezi řezy, NSA 3, TSE factor 15); (b) axiálních fluid-attenuated inversion-recovery (FLAIR) sekvencí (TR/TE/TI of 11000/140/2800 ms, o šířce řezu 5 mm a 1 mm mezerami mezi řezy, NSA 2, TSE factor 32); (c) koronálních T1-vážených inversion recovery- turbo spin echo (IR-TSE) sekvencí (TR/TE/TI of 3171/20/400 TI ms, o šířce řezu 5 mm a 1 mm mezerami mezi řezy, NSA 1, TSE factor 4); (d) sagitálních T2-vážených spin echo (SE) sekvencí (TR/TE of 4455/100 ms, o šířce řezu 3 mm and 0,3 mm mezerami mezi řezy,

NSA 4, TSE factor),; (e) axiálních DWI (TR/TE 4063/93 ms, o šířce řezu 5 mm a 1 mm mezerami mezi řezy, NSA 1, epi factor 89). Vzhledem k zaměření na přítomnost mozkových lézí, nebylo Gadolinium podáváno rutinně, k podání kontrastní látky se přistupovalo pouze v případech, kdy nález na MRI budil podezření na roztroušenou sklerózu. Výsledky MRI byly analyzovány nezávislým radiologem.

U pacientů s nálezem suspektních ložisek na MRI mozku byla provedena lumbální punkce (LP) s vyšetřením mozkomíšního moku.

Neurologické vyšetření a MRI mozku ve stejném protokolu bylo zopakováno u všech pacientů po cca 1.5 roce s cílem posouzení vývoje neurostatu a MRI po 1.5 roku trvání terapie anti-TNF- α .

Ke zhodnocení výsledků byla použita standardní deskriptivní statistická analýza; absolutní a relativní frekvence pro kategorické proměnné byly doplněny o standardní odchylky a průměry byly doplněny rozptyly pro spojitě proměnné. Statistická hodnota rozdílů mezi sledovanými skupinami byla testována prostřednictvím Fisher exact testu pro kategorické proměnné a Mann-Whitney U testu pro spojitě proměnné. Statistická hodnota na čase závislých změn kategorických proměnných byla testována pomocí McNemarova testu. Statistická analýza byla počítána za použití SPSS 22 (IBM Corporation, 2013); $\alpha=0.05$ byla určena jako úroveň statistického významu ve všech analýzách.

Protokol studie byl schválen lokální etickou komisí.

5 Výsledky

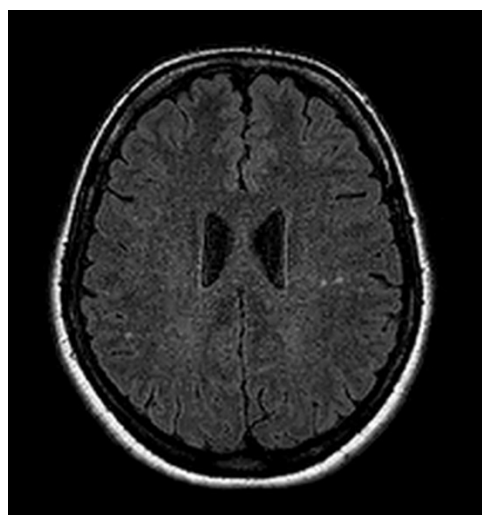
50 pacientů bylo vyšetřeno v prospektivní fázi studie (21 žen, 29 mužů, průměrný věk 36 let, rozmezí 27–45 let). Terapie anti-TNF- α byla indikována u 30 z nich (13 žen, 17 mužů, průměrný věk 36,5 v rozmezí 28-45 let). 20 pacientů bez anti-TNF- α terapie bylo sledováno jako kontroly. Všichni pacienti byli na počátku sledování bez neurologických obtíží.

Patologický neurologický nálezn byl zaznamenán celkem u 33 pacientů (66%) – z toho bylo 21 pacientů (70%) ve skupině léčené anti TNF- α , 12 pacientů (60%) v kontrolní skupině ($p=0,548$, ns). Nejčastějším nálezem byla absence kožních břišních reflexů u 13 pacientů (26%). Tento nálezn byl častější ve skupině pacientů na biologické terapii ($n=11$, 36,7%) ve srovnání s kontrolní skupinou ($n=2$, 10%, $p=0,022$). Druhým nejčastějším nálezem byl polyneuropatický syndrom na dolních končetinách ($n=13$, 26%), který byl popsán u 5 (16,7%) pacientů ve skupině léčených anti TNF- α a u 8 pacientů v kontrolní skupině (40%).

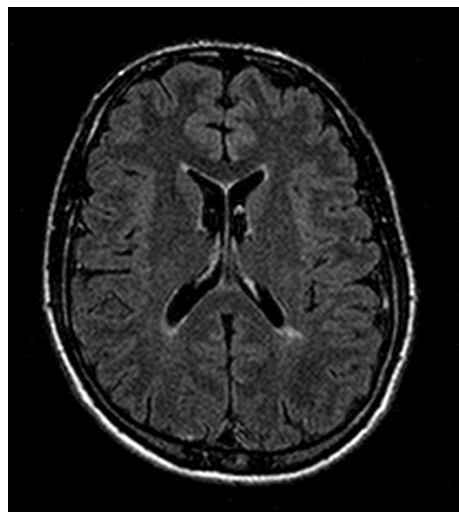
Patologické nálezy na MRI mozku byly detekovány u 29 (44%) pacientů. Ve skupině pacientů léčených anti TNF- α se jednalo o 13 (43,6%) pacientů, v kontrolní skupině o 9 pacientů (45%) ($p=0.999$, ns). Většina těchto nálezů byla nespecifických, jednalo se o ojedinělá drobná ložiska gliosy v bílé hmotě CNS nebo o mírnou atrofii CNS (Obrázek 2). V jednom případě byl zachycen neurinom akustiku jako náhodný nálezn. V sedmi případech byla na MRI popsána suspektní ložiska demyelinizace (suspekce byla založena zejména na charakteru ložisek, jejich periventrikulární lokalizaci, velikosti a počtu) (Obrázek 3 a 4). Tito pacienti byly všichni bez subjektivních neurologických příznaků, ale u pěti z nich byla popsána patologie v objektivním neurologickém nálezem. U všech těchto sedmi pacientů byla provedena lumbální punkce s vyšetřením mozkomíšního moku. U pěti pacientů byl nálezn v normě. U dvou pacientů byl potvrzen nálezn izolovaných oligoklonálních pásů v mozkomíšním moku. Jeden pacient následně po doplnění anamnézy splnil Mc Donaldova kriteria nutná pro diagnosu RS (Obrázek 3). U tohoto pacient byla terapie

anti TNF- α kontraindikována a pacient byl dále léčen kombinovanou imunosupresivní terapií ve snaze o ovlivnění obou chorob. Druhá pacientka s typickým nálezem na MRI mozku (Obrázek 4), která měla nález pozitivních oligoklonálních pářů v likvoru byla taktéž vyloučena z terapie anti TNF- α a je dále sledována se zaměřením na známky typické pro rozvoj RS. V rámci léčby Crohnovy choroby je u ní podáván azathioprine v kombinaci s kortikosteroidy. Nebyla u ní dosud zaznamenána klinická aktivita demyelinizačního onemocnění, její nález byl tedy hodnocen jako radiologicky izolovaný syndrom (RIS). Na kontrolní MRI mozku u této pacientky byla zaznamenána mírná progresse demyelinizačních změn, avšak stále bez klinického korelátu. Tato pacientka v současnosti zůstává na kombinované imunosupresivní terapii, riziko rozvoje definitivní RS hodnotíme jako relativně vysoké. U tří ze zbývajících 5 pacientů byla terapie anti TNF- α indikována s ohledem na negativní nález v mozkomíšním moku.

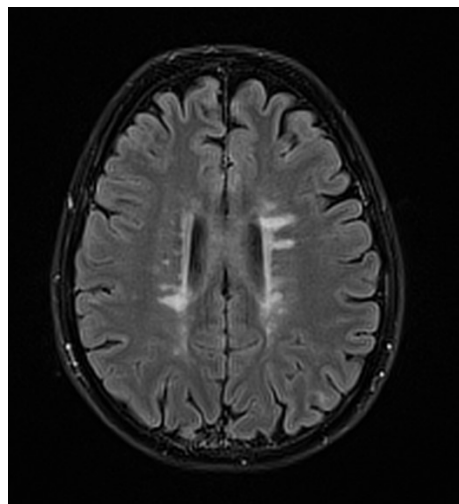
Obrázek 2. Několik ložisek gliózy v bílé hmotě obou hemisfér u 41-leté pacientky



Obrázek 3 – Demyelinizační periventrikulární ložiska u 40ti letého pacienta



Obrázek 4 – Typická demyelinizační periventrikulární ložiska u 29-leté pacientky



Po cca 18 měsících (medián 474 dní, IQR 420-651 dní) byli všichni pacienti znovu vyšetřeni ve stejném protokolu (objektivní neurologické vyšetření a MRI mozku).

Ve skupině pacientů léčených anti TNF- α dostávali všichni pacienti tuto látku minimálně po dobu 1 roku. Nebyly zaznamenány žádné změny v neurologickém nálezu či na MRI mozku ve skupině léčených pacientů ani ve skupině kontrol (Tabulka 2).

Tabulka 2. Charakteristika pacientů

| | Celkem | Kontroly | Anti TNF-α | P |
|-------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------------------|--------------------------|
| | N = 50 | N = 20 | N = 30 | value¹ |
| Pohlaví | | | | |
| Ženy | 21 (42.0%) | 8 (40.0%) | 13 (43.3%) | 0.999 |
| Muži | 29 (58.0%) | 12 (60.0%) | 17 (56.7%) | |
| Věk | | | | |
| Průměr \pm SD | 37.0 12.1 | \pm 37.1 13.0 | \pm 37.0 \pm 11.7 | 0.843 |
| Medián (IQR) | 36.0 (27.0– 45.0) | 33.5 (26.5– 49.0) | 36.5 (28.0– 45.0) | |
| Neurologické vyšetření | | | | |

| | | | | | |
|-----------------------------|----------------------------------|---------------|---------------|------------|--------------|
| První vyšetření | Normální | 17 (34.0%) | 8 (40.0%) | 9 (30.0%) | 0.548 |
| | Patologické | 33 (66.0%) | 12 (60.0%) | 21 (70.0%) | |
| Druhé vyšetření | Normální | 17 (34.0%) | 8 (40.0%) | 9 (30.0%) | 0.548 |
| | Patologické | 33 (66.0%) | 12 (60.0%) | 21 (70.0%) | |
| <i>p</i> value ² | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | |
| Kategorie | | | | | |
| První vyšetření | Polyneuropatický syndrom na DK | 13 (26.0%) | 8 (40.0%) | 5 (16.7%) | 0.022 |
| | Absence břišních kožních reflexů | 13 (26.0%) | 2 (10.0%) | 11 (36.7%) | |
| | Hyperreflexie | 3 (6.0%) | 2 (10.0%) | 1 (3.3%) | |
| | Hemiparéza | 4 (8.0%) | 0 (0.0%) | 4 (13.3%) | |
| Druhé vyšetření | Polyneuropatický syndrom na DK | 13 (26.0%) | 8 (40.0%) | 5 (16.7%) | 0.022 |
| | Absence břišních kožních reflexů | 13 (26.0%) | 2 (10.0%) | 11 (36.7%) | |
| | Hyperreflexie | 3 (6.0%) | 2 (10.0%) | 1 (3.3%) | |
| | | | | | |

| | | | | | |
|-----------------------------|-----------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------|
| | Hemiparéza | 4 (8.0%) | 0 (0.0%) | 4 (13.3%) | |
| <i>p</i> value ² | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | |
| MRI nálezy | | | | | |
| První vyšetření | Normální | 28 (56.0%) | 11 (55.0%) | 17 (56.7%) | 0.999 |
| | Patologické | 22 (44.0%) | 9 (45.0%) | 13 (43.3%) | |
| Druhé vyšetření | Normální | 28 (56.0%) | 11 (55.0%) | 17 (56.7%) | 0.999 |
| | Patologické | 22 (44.0%) | 9 (45.0%) | 13 (43.3%) | |
| <i>p</i> value ² | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | |
| Lumbální punkce | Ano | 7 (14.0%) | 4 (20.0%) | 3 (10.0%) | 0.416 |
| | Ne | 43 (86.0%) | 16 (80.0%) | 27 (90.0%) | |
| Počet dní mezi vyšetřeními | Průměr \pm SD | 584.0 \pm 308.1 | 550.4 \pm 335.9 | 606.4 \pm 291.9 | 0.280 |
| | Medián (IQR) | 474.0 (420.0–651.0) | 455.5 (415.0–609.0) | 497.0 (420.0–748.0) | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| Počet dní mezi MRI | Průměr \pm SD | 634.0 \pm 591.3 | 662.4 \pm 662.4 | | 0.446 |

| | | | |
|--------------|---------|---------|---------|
| | 347.5 | 350.6 | 348.5 |
| | 525.5 | 487.0 | 531.5 |
| Medián (IQR) | (442.0– | (442.5– | (434.0– |
| | 665.0) | 654.0) | 803.0) |

¹Fisher's exact test for categorical variables, Mann–Whitney U test for continuous variables.

²McNemar's test.

Léčba antiTNF- α je většinou velmi dobře tolerována, ale může být provázena rozvojem nežádoucích účinků. V našem souboru byly komplikace léčby zaznamenány u 9 pacientů ze 30 (30 %) (Tabulka 3). Nejčastěji se jednalo o infekční komplikace - kožní a mukózní projevy herpetické infekce, CMV kolitida, pneumonie a komplikovaná clostridiová pseudomembranózní kolitida. Ve všech popsanych případech nemusela být terapie ukončena, pouze v případě pneumonie a CMV kolitidy byla přerušena do zvládnutí komplikujícího onemocnění. Ve třech případech šlo o projevy subileózních stavů v důsledku progresu stenózy tenkého střeva. V případě stenózující formy Crohnovy choroby může po nasazení anti TNF- α terapie dojít k rychlým reparativním procesům provázeným výraznou fibrotizací tkáně, což může mít za následek progresi striktury s rozvojem klinických projevů – ve většině případů pod obrazem recidivujících subileózních stavů. Proto je symptomatická stenóza GIT již před zahájením terapie relativní kontraindikací anti TNF- α léčby. Pokud v průběhu léčby dojde k progresi striktur a vzniku symptomů, je řešením chirurgický zákrok (parciální resekce, ileocékální resekce nebo strikturoplastika). U jednoho pacienta se objevily kožní projevy SLE. Léčba byla z tohoto důvodu následně ukončena. Všechny popsané nežádoucí účinky léků patří mezi očekávané komplikace biologické léčby.

Tabulka 3: Přehled komplikací v průběhu léčby antiTNF- α

| Přehled komplikací terapie antiTNF-α | | |
|---|----------------|----------|
| Komplikace | Počet (n=9) | pacientů |
| Symptomatická stenóza tenkého střeva | 3 | |
| Alergická reakce | 1 | |
| Herpetická infekce | 2 | |
| Kožní známky SLE | 1 | |
| CMV kolitida | 1 | |
| Pneumonie, clostridiová kolitida | 1 | |

6 Statistická analýza celého souboru

Po zhodnocení výše popsaných výsledků prospektivní studie byla provedena statistická analýza celého souboru 97 pacientů, kteří byli v rámci projektu na našem pracovišti sledováni od roku 2008 do roku 2017.

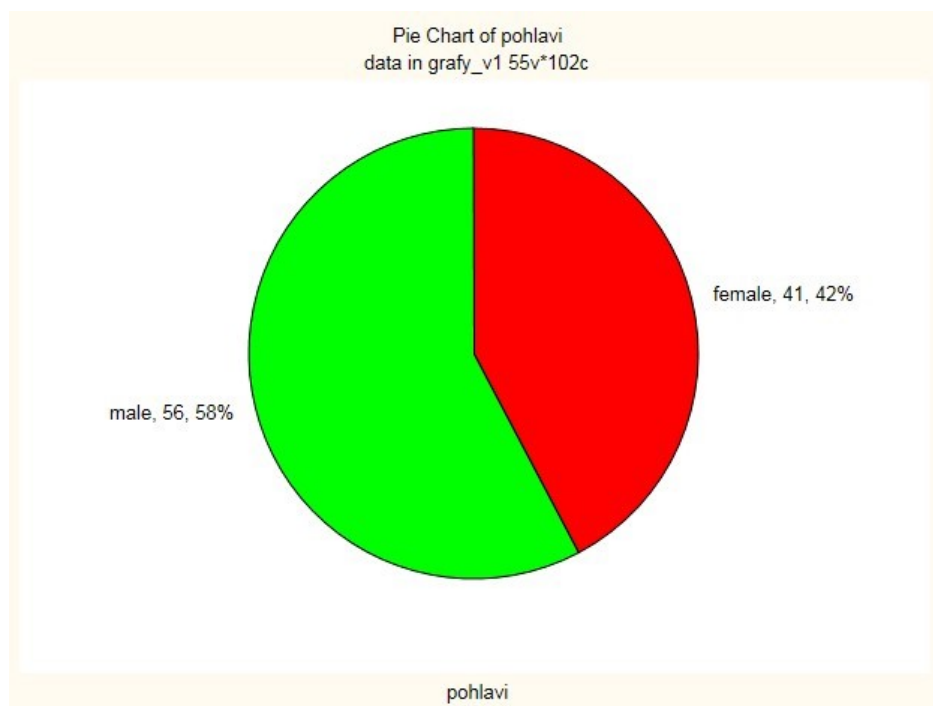
Statistická analýza byla provedena s užitím SW SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) a SW Statistica (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA). Pro měřené parametry v celém souboru a v jednotlivých skupinách a podskupinách byly počítány základní statistické údaje jako průměr, směrodatná odchylka, rozptyl, medián, minimum, maximum. U kategorických proměnných byly zkoumány jejich frekvence. Vybrané statistické údaje byly též zpracovány graficky do tzv. Box & Whisker plot diagramů, histogramů a koláčových grafů.

Na porovnání rozdílů distribucí jednotlivých parametrů mezi různými skupinami, byla použita parametrická analýza rozptylu (ANOVA), post hoc testy byly zpracovány Tukeyho metodou. Shoda (ekvivalence) zkoumaných parametrů v předem zvoleném limitu tolerance byla testována pomocí TOST (Two One Sided Tests). Rozdíl četností u kategorických dat byl testován pomocí Chi-kvadrát testu. Statistická významnost byla stanovena na hranici $\alpha=5\%$.

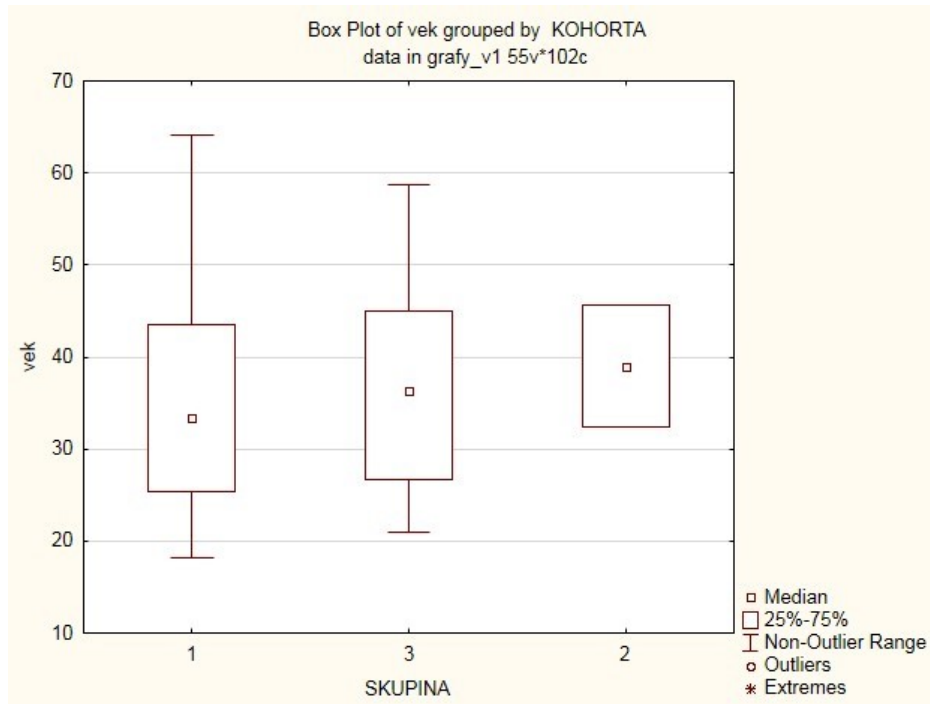
7 Výsledky

Z 97 pacientů bylo 41 žen (41,42%) a 56 mužů (56,58%) (Obrázek 5). Průměrný věk pacientů byl 35,7 let (min. 18 let, maximum 64 let, medián 34 let) (Obrázek 6). Zařazení byli pacienti, kteří podstoupili vstupní objektivní neurologické vyšetření a MRI mozku před zařazením do sledování. Průměrná doba sledování těchto pacientů byla 5,32 let (medián - 5,28, minimum 0,82, maximum 9,38 let) (Obrázek 7).

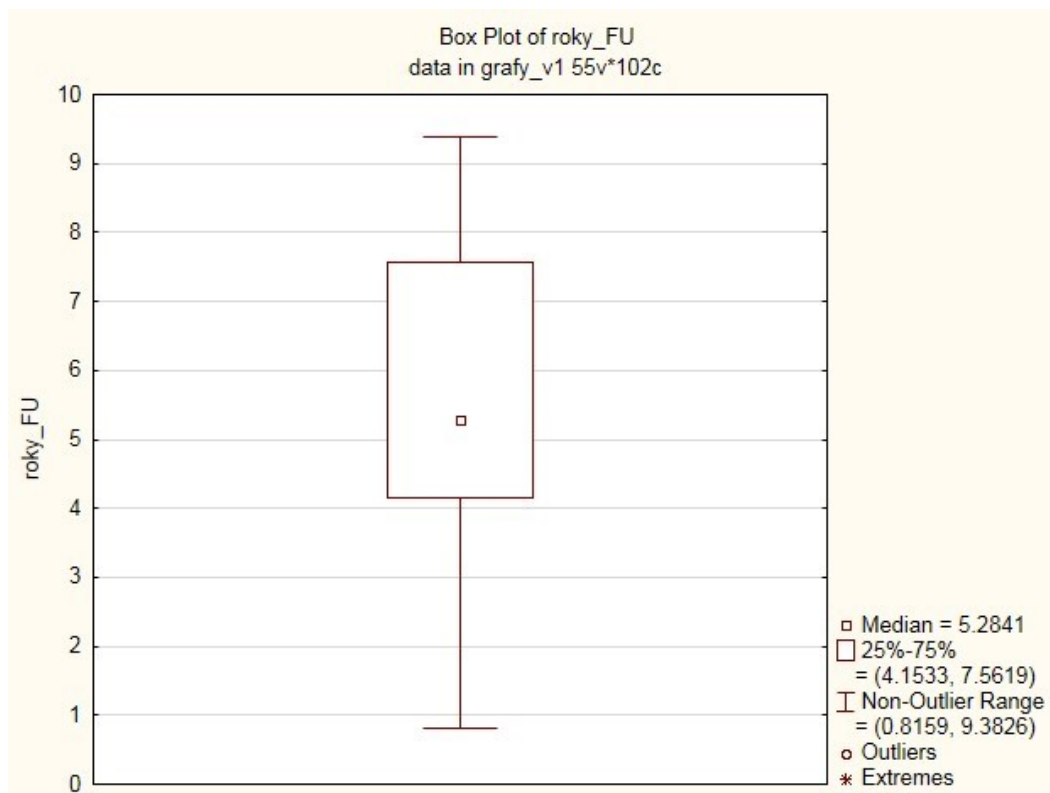
Obrázek 5– Charakteristika pacientů podle pohlaví



Obrázek 6 – Věk pacientů s ohledem na zařazení do jednotlivých skupin

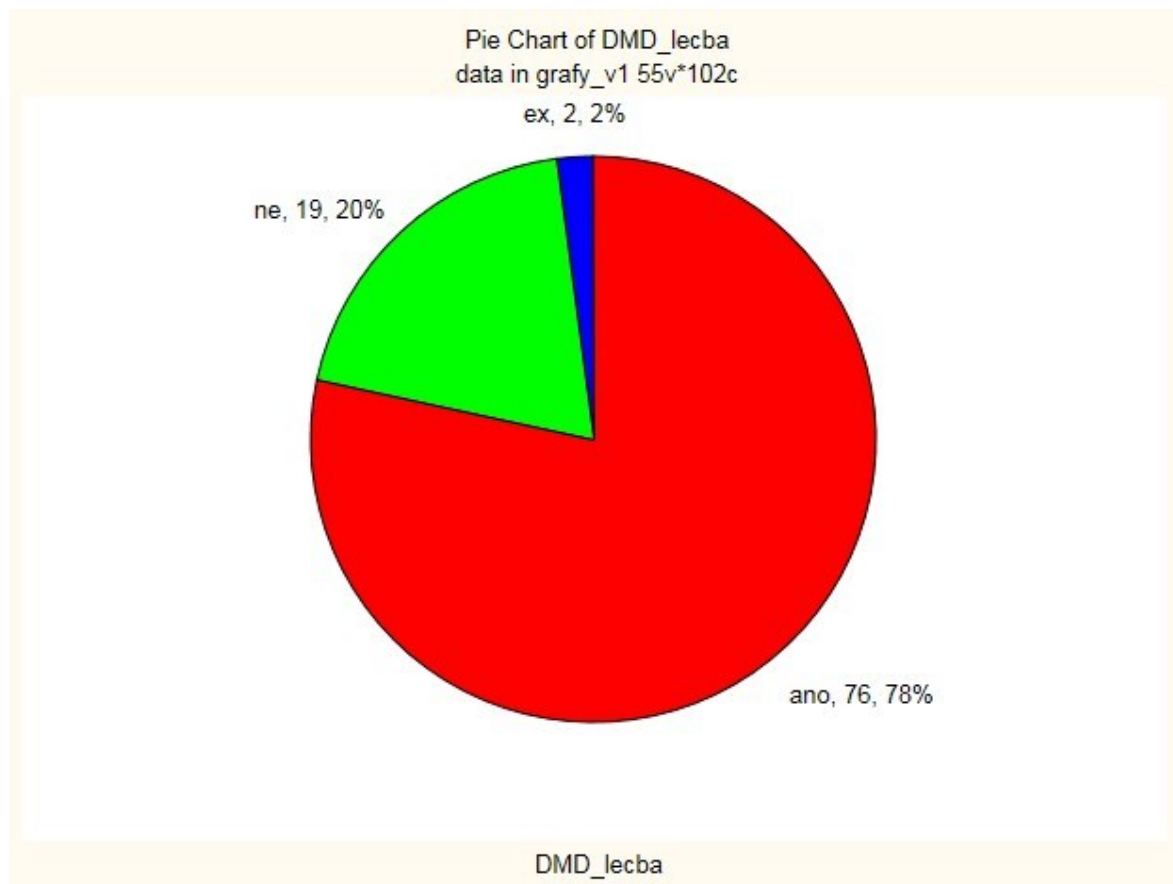


Obrázek 7 – Délka sledování pacientů v souboru

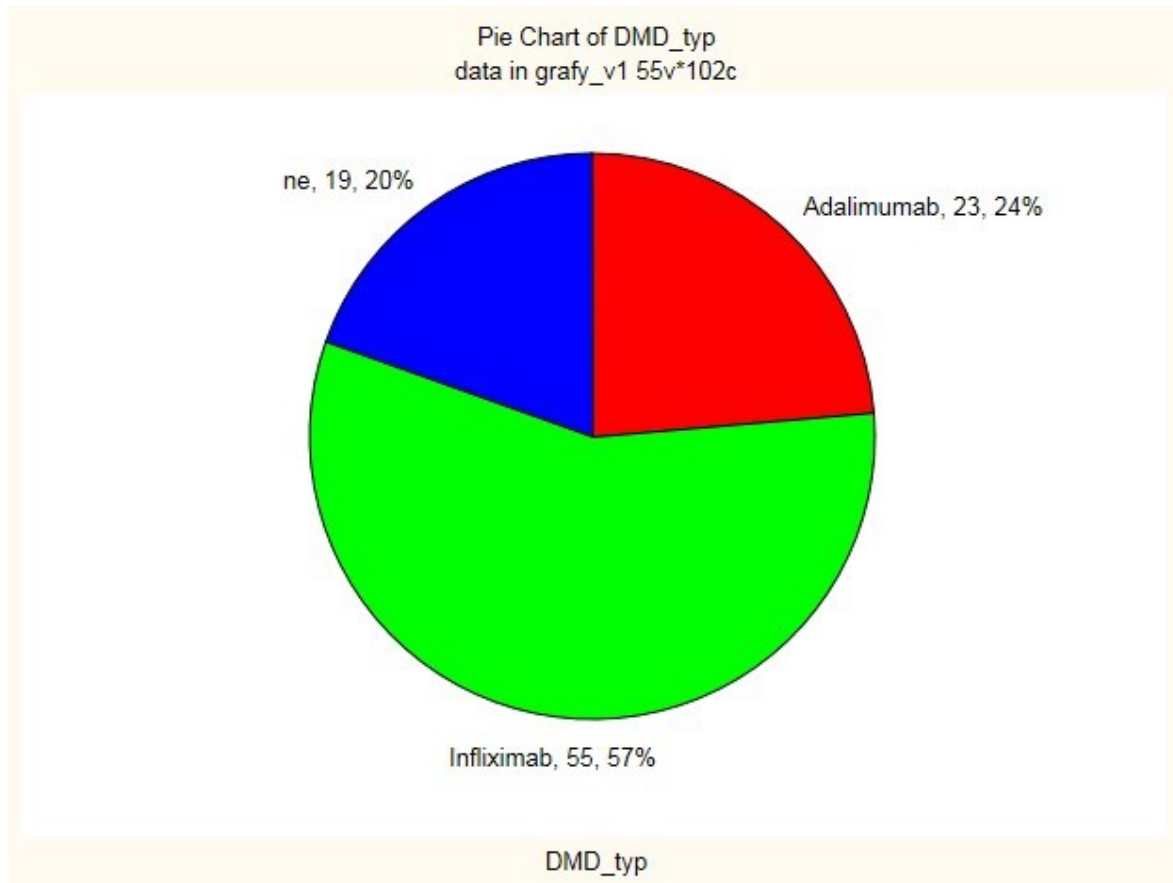


Pacienti byly rozděleni do 3 skupin. V první skupině byli pacienti léčení protilátkou anti TNF- α (78 pacientů (76,78%)), z nichž mělo infliximab 55 pacientů a adalimumab 23 pacientů, ve druhé skupině byli pacienti, kteří byli vyloučeni z terapie anti TNF- α s ohledem na nálezy na MRI mozku a v likvoru (2 pacienti, 2,2%) a ve třetí skupině byli pacienti, kteří nebyli indikováni k terapii TNF- α , a v původním souboru tvořili kontrolní skupinu (19 pacientů, 19,2%) (Obrázek 8 a 9). Nebyl zaznamenán statistický významný rozdíl v základní charakteristice pacientů s ohledem na věk, pohlaví a délce sledování v jednotlivých skupinách (Tabulka 4).

Obrázek 8 – Jednotlivé skupiny pacientů s ohledem na terapii



Obrázek 9 – Typ biologické terapie



**Tabulka 4 – statistické testy délky sledování jednotlivých skupin
test o rozdílu (ANOVA)**

| Class Level Information | | | | | |
|-----------------------------|-----------|----------------|-------------|---------|--------|
| Class | | Levels | Values | | |
| Skupina | | 3 | 1 2 3 | | |
| Number of Observations Read | | 97 | | | |
| Number of Observations Used | | 97 | | | |
| Dependent Variable | | Roky sledování | | | |
| Source | Sum of DF | Squares | Mean Square | F Value | Pr > F |
| Model | 2 | 7.2333124 | 3.6166562 | 0.67 | 0.5139 |

Nepodařilo se prokázat rozdíl délky sledování mezi zkoumanými skupinami.

Post hoc testy (Tukey's method)

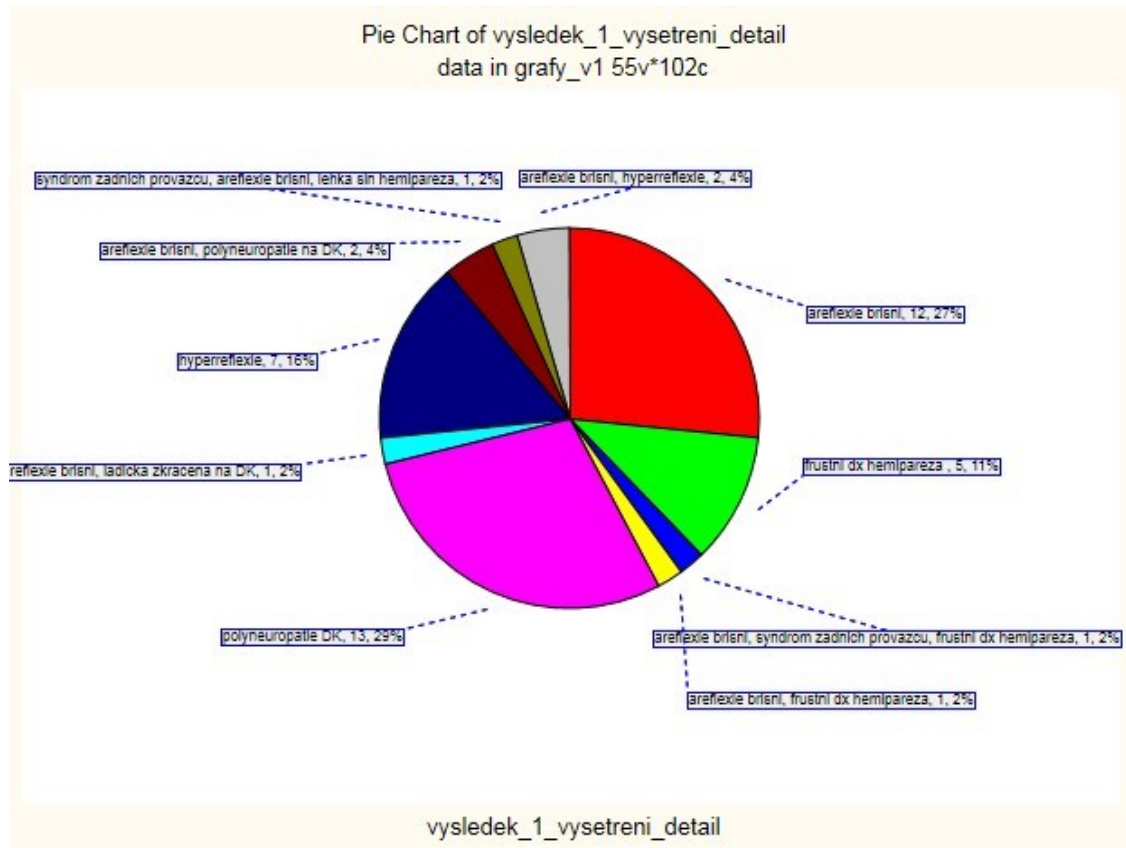
| Porovnání skupin | Rozdíly mezi průměry | Simultánní limity spolehlivosti 95% | |
|------------------|----------------------|-------------------------------------|--------|
| 3 - 1 | 0.2886 | -1.1302 | 1.7073 |
| 3 - 2 | 1.9763 | -2.1356 | 6.0882 |
| 1 - 3 | -0.2886 | -1.7073 | 1.1302 |
| 1 - 2 | 1.6878 | -2.2745 | 5.6501 |
| 2 - 3 | -1.9763 | -6.0882 | 2.1356 |
| 2 - 1 | -1.6878 | -5.6501 | 2.2745 |

Nepodařilo se prokázat rozdíl délky sledování mezi zkoumanými skupinami.

Všichni pacienti byli neurologicky vyšetřeni. Patologický neurologický nálezu byl zaznamenán u 45 pacientů (45,46%), ve skupině pacientů léčených anti TNF- α se jednalo o 34 pacientů (44,74%), u pacientů vyřazených z terapie byl neurologický nálezu patologický v obou případech (100%), u pacientů bez terapie anti TNF- α šlo o 9 pacientů (47,37%). Nebyl tedy zaznamenán rozdíl mezi pacienty na terapii TNF- α a pacienty neindikovanými k této terapii, naopak byla potvrzena shoda mezi patologickým neurologickým nálezem a nálezy na MRI mozku a v likvoru u pacientů druhé skupiny. Nejčastějšími patologickými nálezy byla areflexie břišní a polyneuropatický syndrom na DK (Obrázek 10). U pacienta, který byl vyřazen z biologické léčby pro potvrzenou RS byl ve vstupním neurologickém nálezem zaznamenán syndrom zadních provazců, lehká levostranná hemiparéza a areflexie břišní, u pacientky s RIS hyperreflexie.

Nebyl zaznamenán statisticky významný kvalitativní ani kvantitativní rozdíl v neurologickém nálezem mezi skupinami pacientů léčených anti TNF- α a pacientů neindikovaných k této terapii.

Obrázek 10 – Rozložení jednotlivých patologických nálezů v neurologickém vyšetření



Na MRI mozku byl patologický nálezy nalezen u 41 pacientů (41,2%), ve skupině léčených pacientů se jednalo o 30 patologických nálezů (39,47%), ve skupině pacientů bez biologické terapie šlo o 9 nálezů (47,37%), ve skupině pacientů vyřazených z biologické terapie byla MRI patologická v obou případech (100%). Nebyl prokázán statisticky významný rozdíl mezi skupinami pacientů bez biologické terapie a pacienty na terapii anti TNF- α . Ve většině případů se jednalo o nespecifické ložiskové změny na MRI mozku, u 11 pacientů (11,11%) však byly zaznamenány nálezy suspektní z demyelinizace (Tabulka 5). Tyto nálezy se vyskytovaly u 5 pacientů (6,58%) na biologické terapii, 4 pacientů (21,05%) bez této terapie a u obou dvou pacientů (100%) vyřazených z biologické terapie.

Tabulka 5 – detail nálezů na MRI mozku

| Výsledek_MR_detail | Frekvence | Procenta % |
|--|-----------|------------|
| Atrofie | 1 | 2.44 |
| dermoid ve 3 komore | 1 | 2.44 |
| Empty sella | 1 | 2.44 |
| koloidni cysta v pinealis | 1 | 2.44 |
| meningeom baze lebni, ojedinela gliosy | 1 | 2.44 |
| Nalez budi podezreni na drobny vestib. schwannom | 1 | 2.44 |
| ojedinela gliosa vlevo parietalne | 1 | 2.44 |
| ojedinela gliosa, v.s. vaskularni etiol. | 6 | 14.63 |
| pinealni cysta | 1 | 2.44 |
| vicecetne gliosy | 11 | 26.83 |
| vicecetne gliosy susp. Z RS | 11 | 26.83 |
| vicecetne gliosy, v.s. vaskularni etiol. | 5 | 12.20 |

Všichni pacienti se suspektním nálezem na MRI podstoupili vyšetření mozkomíšního moku. U 9 pacientů byl nález v normě – pět z těchto pacientů bylo ve skupině léčených anti TNF- α , 4 byli bez léčby. U 2 pacientů (skupina 2) byla prokázána intrathékální syntéza s nálezem oligoklonálních pásů v likvoru bez korelátu v séru a tito dva pacienti byli z léčby vyřazeni.

Všichni pacienti jsou dále sledování v systému pravidelných kontrol. U žádného z nich nedošlo v průběhu sledování k rozvoji nových neurologických obtíží charakteru demyelinizace.

8 Diskuze

Do našich prospektivních studií byli zařazeni pouze pacienti s Crohnovou chorobou (CD). Důvodem byla především snaha o získání homogenního souboru s přesně interpretovatelnými daty.

Jedním z našich cílů bylo bližší pochopení vztahu mezi Crohnovou chorobou a roztroušenou sklerózou. Jedná se o choroby s velmi komplexní patofyziologií vzniku, která se v mnoha ohledech překrývá. V obou případech se jedná o kombinaci enviromentálních faktorů, imunopatologických mechanismů a určitého genetického pozadí.

Crohnova choroba i roztroušená skleróza se častěji objevují u pacientů severního mírného pásma ekonomicky vyspělých zemí. Byl již bezpečně prokázán negativní vliv nízké hladiny vitamínu D na vznik obou chorob. Receptory pro vitamin D se vyskytují na povrchu lymfocytů, monocytů, dendritických buněk, makrofágů a neutrofilů¹²⁶. Vitamin D ovlivňuje syntézu antibakteriálních proteinů v makrofázích a reguluje množství Toll like receptorů na monocytech¹²⁸, ovlivňuje diferenciaci dendritických buněk. V systému získané imunity reguluje aktivitu cytotoxických CD8+ T lymfocytů a regulačních Th lymfocytů prostřednictvím inhibice produkce prozánětlivých Th-1 cytokinů (IL-2, IFN- γ a TNF- α) a stimuluje produkci protizánětlivých cytokinů (IL-4, IL-5 a IL-10). Vitamin D dále ovlivňuje produkci výrazně prozánětlivého cytokinu IL-17, který je zásadní v patogenezi RS i Crohnovy choroby¹³⁰. Zasahuje i do procesů B buněčné imunity, kde se podílí na regulaci produkce IgG a potlačuje diferenciaci plasmatických buněk¹³¹.

Dalším společným rizikovým faktorem je kouření. U obou chorob byl prokázán vyšší výskyt u kuřáků se závislostí na kumulativním množství vykouřených cigaret. Kuřáci mají potvrzený agresivnější průběh obou chorob a nižší odpovědnost k terapii. V etiologii se předpokládá stimulace autoagresivních klonů lymfocytů v dýchacích cestách toxickými látkami obsaženými v cigaretovém kouři. Ukončení kouření má příznivý vliv na průběh obou nemocí.

Složení a kvalita střevní mikroflóry byla podrobně studována hlavně v etiopatogenezi Crohnovy choroby, kde je její vliv zřejmý a podrobně popsán. Zásadní pro její složení je pravděpodobně již dieta matky během těhotenství, způsob porodu, kdy kontakt se střevní florou matky během přirozeného porodu velmi příznivě ovlivňuje budoucí složení mikroflóry u potomka a dále první roky života. V posledních letech se však ke střevní mikroflóře obrací i zájem vědců studující patogenezi RS. V recentních pracích byla potvrzena souvislosti mezi složením střevní mikroflóry a rozvojem RS a patogenetické mechanismy se zdají být shodné u obou chorob²⁰⁷. S touto problematikou jistě souvisí i negativní vliv tzv. „západní“ diety s vysokým podílem masa, uzenin a nedostatkem vlákniny. Toxický efekt zejména sirných sloučenin byl potvrzen u Crohnovy choroby. Takové složení stravy taktéž přispívá k rozvoji obezity, která byla jako rizikový faktor potvrzena taktéž u obou chorob^{208, 209}.

Velmi zajímavé je působení Melatoninu. U RS se na patogenezi podílí především stimulací sekrece regulačních T lymfocytů a inhibicí sekrece prozánětlivých T lymfocytů a ovlivňuje zejména aktivitu choroby, jeho vliv je však studován i u Crohnovy choroby a zdá se, že i zde je jeho nízká hladina spojena s relapsy²¹⁰.

EBV infekce (Epstein-Barr virus) je jedním z prokázaných a dobře prostudovaných rizikových faktorů vzniku roztroušené sklerózy. Až 80% pacientů s RS má pozitivní protilátky proti EBV a anamnézou prodělané mononukleózy. Vysoký výskyt protilátek proti tomu viru byl nalezen i u dětských pacientů s Crohnovou chorobou²¹¹.

Nelze opominout psychosociální aspekty obou chorob. U Crohnovy choroby i u roztroušené sklerózy je zejména z klinické praxe patrná jasná souvislost mezi aktivitou choroby, jejím vzplanutím a mírou stresu a celkovým osobnostním nastavením jednotlivých pacientů. Zpočátku byly tyto choroby dokonce považovány za čistě psychosomatické. Přes veškerý vědecký pokrok a exaktní znalosti v patogenezi obou chorob zůstává vliv psychického nastavení na průběh obou nemocí neoddiskutovatelný.

V imunopatologii obou chorob hrají roli systémy vrozené i získané imunity. U Crohnovy choroby začíná celý proces ve střevních lymfatických folikulech Payerových plátech. U roztroušené sklerózy je pravděpodobný počátek imunopatologických mechanismů pravděpodobně rovněž na periférii, a to v cervikálních lymfatických uzlinách. V obou případech stojí na počátku choroby dendritické buňky, které po navázání antigenu jako antigen prezentující buňky komunikují s CD4+ T lymfocyty a spouští specifickou imunitní odpověď¹⁴⁵.

Diferenciace CD4+ T lymfocytů po aktivaci dendritickými buňkami závisí na přítomnosti specifických cytokinů. V přítomnosti Interleukinu 12 se CD4+T buňky diferencují v Th1 buňky sekretující prozánětlivý Interferon γ (IFN- γ), za přítomnosti Interleukinu 23 (IL23) se T buňky mění v Th 17 lymfocyty sekretující Interleukin 17 (IL17). Za normálních okolností se tyto buňky účastní boje proti intracelulárním patogenům (Th1) či plísním (Th17), v případě dysregulace imunitního systému jsou však základním pilířem rozvoje autoimunitního zánětu^{146 212}. Potenciální ovlivnění přímo Th17 je velmi nadějnou cestou v terapii obou chorob²¹³

Zejména makrofágy jsou u obou chorob zdrojem toxických kyslíkových radikálů^{214, 215}. Jejich negativní působení u obou chorob je ve středu zájmu i s ohledem na možné nové terapeutické možnosti. V terapii RS se již standardně uplatňuje dimethylfumarát, který zasahuje právě do regulace oxidačního stresu skrze ovlivnění transkripčního faktoru NrF2, což je hlavní transkripční faktor řídící expresi genů ovlivňují antioxidantní buněčné pochody²¹⁶. Vzhledem ke svému mechanismu účinku již byly publikovány první práce zvažující využití tohoto preparátu i u nespecifických střevních zánětů²¹⁶.

Genetické faktory jsou v posledních desetiletích v centru zájmu u Crohnovy choroby i roztroušené sklerózy. U obou chorob byly nalezeny desítky genů pojících se s rozvojem nemoci. Je prokázána kumulace obou chorob v rodinách postižených pacientů. U Crohnovy choroby je potvrzeno na 110 genů spojených se vznikem nemoci. Zajímavé jsou výsledky studií popisující mutace v genech kódujících prozánětlivé cytokiny¹⁰, které se vyskytují u obou nemocí. U RS bylo rovněž popsáno

více než 100 genů asociovaných s rozvojem nemoci, i zde se jedná především o geny ovlivňující prozánětlivé cytokiny²¹⁷.

Z výše uvedených souvislostí jasně vyplývá, že obě choroby mají velmi podobné patogenetické mechanismy vzniku a postihují podobnou populaci bez ohledu na konkomitantní terapii či další vlivy.

Kumulace obou chorob bez ohledu na užívanou terapii byla potvrzena v mnoha studiích na rozsáhlých souborech pacientů. V nejnovější práci z roku 2017 zahrnující výsledky více než milionu pacientů v 10 klinických studiích bylo potvrzeno o 50% vyšší riziko onemocnění chronickým střevním zánětem pro pacienty s RS a stejně tak o 50% vyšší riziko onemocnění roztroušenou sklerózou u pacientů s IBD²¹⁸.

Prevalence roztroušené sklerózy se v České Republice pohybuje okolo 150 pacientů/100 000 obyvatel, čímž se ČR řadí mezi nejvíce postižené země světa. V našem souboru je dosud sledováno 97 pacientů, u dvou z nich byly potvrzeny demyelinizační léze na MRI mozku. V prvním případě byla splněna McDonaldova kritéria pro diagnosu RS, v druhém případě s ohledem na absenci typických klinických obtíží, je pacientka vedena pod diagnózou Radiologicky izolovaného syndromu (RIS), ovšem vzhledem k progresi typického nálezu na MRI mozku a pozitivnímu nálezu v mozkomíšním moku je riziko přechodu v RS velmi vysoké. V případě, že bychom počítali oba pacienty, je prevalence RS v našem souboru vyšší než v běžné populaci a podporuje data výše uvedených prací bez ohledu na terapii.

Dalším cílem naší práce bylo multidisciplinární sledování a zhodnocení neurologického nálezu u pacientů s Crohnovou chorobou. V literatuře je udáváno široké rozmezí neurologických komplikací u pacientů s nespecifickými střevními záněty lišící se v řádu desítek procent, konkrétně od 3%⁸⁷ do 67%⁸⁸. V našem souboru byla zachycena vysoká míra patologií v neurologickém nálezu při vstupním vyšetření v celém souboru 97 pacientů. Patologický neurologický nálezn byl zaznamenán u 45 pacientů (45,46%). Nejčastějšími patologickými nálezy byl polyneuropatický syndrom na DK a areflexie břišní.

Výskyt polyneuropatie u pacientů s nespecifickými střevními záněty výrazně kolísá v závislosti na metodice jednotlivých prací od 0 do 39%. V jediné prospektivní studii na 82 pacientech s nespecifickými střevními záněty byla senzomotorická polyneuropatie potvrzena u 16,1% pacientů s Crohnovou chorobou a 19,6% pacientů s ulcerózní kolitidou⁹⁰. Jednalo se většinou o mírné formy distální symetrické axonální neuropatie. Po vyloučení jiných příčin polyneuropatie kleslo procento polyneuropatií asociovaných s nespecifickými střevními záněty na 13,4%.

V našem souboru 97 pacientů byl polyneuropatický syndrom definován klinicky absencí reflexů L5-S1 na dolních končetinách a vyhaslým nebo výrazně zkráceným vibračním citím od kotníků distálně. Takové nálezy byly popsány u 15,69% pacientů s Crohnovou chorobou, tedy v souladu s výše popsanými literárními údaji. V plánu je potvrzení polyneuropatie u těchto pacientů elektrofyziologickým vyšetřením.

Areflexie břišní byla v našem souboru popsána u 19,47% pacientů a poněkud častěji se vyskytovala ve skupině pacientů indikovaných k terapii TNF- α , což bychom mohli vysvětlit vyšší agresivitou choroby u této skupiny pacientů a předpokládaným vyšším počtem operačních zákroků v oblasti dutiny břišní. Z analýzy dat pacientů v souboru vyplývá, že 19 pacientů podstoupilo v době před zařazením do sledování operační zákrok v oblasti dutiny břišní, 78 pacientů operováno nebylo. Dva pacienti z 19 podstoupili více než jeden operační zákrok v oblasti dutiny břišní. Nejčastějším typem operace byla ileocékální resekce, tři pacienti podstoupili jiné zákroky související s Crohnovou chorobou, čtyři pacienti podstoupili jiné výkony s onemocněním nesouvisející (Tabulka 6).

Tabulka 6 - Přehled operačních zákroků v oblasti dutiny břišní před operací

| Typ operace | Počet pacientů (n=19) |
|-------------------------------------|------------------------------|
| Ileocékální resekce | 12 |
| Jiné výkony související s M. Crohn | 4 |
| • Levostranná hemikolektomie | 2 |
| • Strikturoplastika | 1 |
| • Limitovaná resekce tenkého střeva | 1 |
| Operace nesouvisející s M. Crohn | 3 |
| • Cholecystektomie | 1 |
| • Adnexektomie | 1 |
| • Hernioplastika | 1 |

Dalším sledovaným parametrem byl nález MRI mozku u pacientů před zahájením terapie anti TNF- α . V literatuře je popsáno jen velmi málo studií popisujících nálezy na MRI mozku u pacientů s nespecifickými střevními záněty. Většina studií je retrospektivních a neobsahuje kontrolní skupinu. Geissler et al. v souboru 48 pacientů s Crohnovou chorobou popisuje výskyt změn na MRI mozku u 20 pacientů (42%), v kontrolní skupině 50 ti zdravých kontrol byl nález patologie na MRI jen u 8 pacientů (16%)²¹⁹.

V našem souboru 97 pacientů byl patologický nález nalezen u 41 pacientů (41,2%), ve skupině pacientů na terapii TNF- α se jednalo o 30 patologických nálezů (39,47%), ve skupině pacientů bez biologické terapie šlo o 9 nálezů (47,37%), ve skupině pacientů vyřazených z biologické terapie byla MRI patologická v obou případech (100%). Nebyl prokázán statisticky významný rozdíl mezi skupinami pacientů bez biologické terapie a pacienty na terapii anti TNF- α . Ve většině případů se jednalo o nespecifické ložiskové změny na MRI mozku, u 11 pacientů (11,11%) však byly zaznamenány nálezy suspektní z demyelinizace. Náš soubor neobsahoval

skupinu zdravých kontrol, nicméně data odpovídají literárně udávaným počtům patologií na MRI mozku u pacientů s Crohnovou chorobou.

Magnetická rezonance je vysoce senzitivní vyšetření s nižší specificitou, které je schopno zachytit vysoký počet subklinických patologií, zejména pokud se jedná nespecifické vaskulární změny, což byl také nejčastější nález u pacientů v našem souboru. Nálezy na MRI mozku je tak třeba hodnotit v kontextu dalších vyšetření.

Vysoké procento zachycených patologií na MRI mozku ve srovnání se zdravými kontrolami však podporuje hypotézu o vyšší četnosti postižení CNS u pacientů s nespecifickými střevními záněty.

U 11 pacientů (11,11%) byla na MRI mozku popsána suspektní demyelinizační ložiska. Všichni tito pacienti podstoupili vyšetření mozkomíšního moku. U 9 pacientů byl nález v normě – pět z těchto pacientů bylo ve skupině léčených anti TNF- α , 4 byli bez léčby. U 2 pacientů (skupina 2) byla prokázána intrathékální syntéza s nálezem oligoklonálních pásů v likvoru bez korelátu v séru a tito dva pacienti byli z léčby vyřazeni.

Vyšetření mozkomíšního moku je stále standardní součástí diagnostiky roztroušené sklerózy. 96% pacientů s RS má pozitivní nález oligoklonálních pásů v mozkomíšním moku s negativitou v séru. Od roku 2010, kdy vešla v platnost revidovaná McDonaldova kriteria umožňující diagnózu RS již po prvním klinickém příznaku (klinický izolovaný syndrom – CIS), se diagnostika opírá především o nálezy na MRI mozku. V době CIS však tato kriteria splňuje pouze 11% pacientů. V rozsáhlé retrospektivní studii u 406 pacientů s CIS byla potvrzena korelace mezi nálezem oligoklonálních pásů v mozkomíšním moku a rozvojem definitivní RS u pacientů po prvním klinickém příznaku a s typickým nálezem na MRI mozku. U pacientů, kteří měli negativní nález v likvoru bylo riziko přes typické klinické obtíže i nález na MRI mozku relativně nízké ²²⁰.

Přes nález suspektních ložisek na MRI mozku jsme na základě těchto dat u pěti pacientů, kteří měli normální nález v mozkomíšním moku indikovali terapii anti TNF- α . Žádný z těchto pacientů v průběhu sledování nerozvinul klinické příznaky

podezřelé z RS. Naopak u dvou pacientů, kteří měli pozitivní nález oligoklonálních pásů v likvoru, byla biologická terapie anti TNF- α kontraindikována.

S ohledem na nižší specifickost nálezů na MRI mozku byl v našem souboru výsledek vyšetření mozkomíšního moku využit jako hlavní kritérium v rozhodování o indikaci terapie anti TNF- α u rizikových pacientů.

Hlavním cílem naší prospektivní studie bylo ozřejmení vztahu mezi terapií anti TNF- α u pacientů s Crohnovou chorobou a možným rozvojem roztroušené sklerózy.

Od roku 1990 do roku 2016 bylo v literatuře publikováno 122 případů rozvoje demyelinizačního onemocnění v souvislosti s terapií anti TNF- α ²²¹. Tři z těchto pacientů měli pozitivní rodinnou anamnézu pro roztroušenou sklerózu. 61 pacientů (50%) mělo revmatoidní artritidu, 14 (11%) Bechtěrevovu chorobu, 20 (16%) psoriatickou artritidu, 10 (8%) Crohnovu chorobu, a 18 (15%) pacientů trpělo jiným revmatologickým či systémovým zánětlivým onemocněním. 50 (41%) pacientů bylo léčeno infliximabem, 57 (47%) užívalo etanercept, 19 (16%) užívalo adalimumab a 1 (1%) pacient byl na terapii golimumabem. Ve shodě s předchozími literárními daty byla průměrná délka mezi zahájením terapie anti TNF- α a objevením se prvních příznaků 5 měsíců (1 týden až 15 měsíců). Dosud bylo potvrzeno 26 případů rozvoje definitivní RS, v ostatních případech se jednalo o jednorázové události jako jsou optická neuritida, transversální myelitida a další.

Jasný vztah mezi terapií anti TNF- α a rozvojem demyelinizačního onemocnění zůstává nejasný. Jak bylo výše diskutováno, je potvrzeno až o 50% vyšší riziko rozvoje RS u pacientů s nespecifickými střevními záněty bez ohledu na užívanou terapii. K potvrzení lékově navozeného onemocnění se užívají tzv. Millerova kritéria, která zahrnují osm bodů a minimálně čtyři z nich musí být splněna pro uznání vztahu mezi podávaným lékem a rozvojem choroby. Ve výše popisovaném souboru byla ve většině případů naplněna kritéria časové souvislosti zahájení terapie anti TNF- α s rozvojem RS, zlepšení stavu po vysazení terapie, v některých případech byla potvrzena recidiva obtíží po znovunasazení terapie a pouze u jednotek případů byla

potvrzena jasná souvislost mezi zahájením terapie a objevením se příznaků demyelinizace²²².

Na základě publikovaných studií je od roku 2001 v platnosti doporučení vyvarovat se nasazení terapie anti TNF- α u pacientů se známou diagnózou RS a u jejich nejbližších příbuzných¹⁹¹.

Jak vyplývá z výše uvedených dat, byla určitá souvislost mezi terapií anti TNF- α a rozvojem demyelinizačního onemocnění prokázána v mnoha klinických studiích. Stále ale zůstává nejasné, zda se anti TNF- α podílí na samotném vzniku demyelinizace nebo zda funguje spíše jako „trigger“ již přítomného latentního onemocnění.

Existuje celá řada hypotéz, které vysvětlují možný vliv terapie anti TNF- α na imunopatologické změny v CNS, které jsou podrobně popsány v úvodu této práce. Zásadními se zdají být dva faktory:

1. Dosud užívané neselektivní blokátory TNF- α nemají schopnost přestupu přes neporušenou hematoencefalickou bariéru.
2. Neselektivní blokáda TNF- α inhibuje působení TNF- α skrze oba receptory – TNRF1 i TNRF2, přičemž působení TNF- α přes TNRF2 receptor má potvrzený pozitivní účinek na proliferaci oligodendrocytů a remyelinizaci.

Neschopnost přestupu užívaných preparátů anti TNF- α přes hematoencefalickou bariéru může vysvětlovat opačný efekt této terapie u systémových zánětlivých onemocnění, kam patří i nespecifické střevní záněty a negativní efekt u roztroušené sklerózy. Zároveň tento fakt podporuje hypotézu, že terapie anti TNF- α je spíše spouštěčem již nastartovaného demyelinizačního procesu. V takovém případě se léčivo skrze porušenou hematoencefalickou bariéru ve chvíli probíhajícího zánětu může dostat do CNS, kde neselektivní blokádu TNF- α včetně inhibice protektivních cest přes TNRF2 receptor může zhoršit průběh již

známé, diagnostikované RS či exacerbovat dosud latentní subklinické onemocnění. Tímto mechanismem by se dalo vysvětlit i selhání této terapie u pacientů se známou progresivní RS ve dvou klinických studiích^{183, 184}. Tuto teorii podporují i další publikované práce¹⁹⁷.

V naší práci jsme se pokusili potvrdit tuto hypotézu navržením prospektivní studie pacientů s Crohnovou chorobou, kam bylo zařazeno 50 pacientů. Terapie anti-TNF- α byla indikována u 30 z nich (13 žen, 17 mužů, průměrný věk 36,5 v rozmezí 28-45 let). 20 pacientů bez anti-TNF- α terapie bylo sledováno jako kontroly. Všichni pacienti byli na počátku sledování bez neurologických obtíží. Následně jsme ještě provedli analýzu rozsáhlého souboru 97 pacientů, kteří jsou v tomto projektu sledováni od roku 2008. Naším cílem byla selekce pacientů vhodných pro terapii anti-TNF- α s ohledem na minimalizaci rizika rozvoje demyelinizačního onemocnění. Všichni pacienti absolvovali MRI mozku a neurologické vyšetření s cílem odhalení sublinických demyelinizačních změn. U 11 pacientů z celého souboru byla popsána suspektní demyelinizační ložiska na mozku dle MRI, tito pacienti podstoupili vyšetření mozkomíšního moku a dva z těchto pacientů byli vyřazeni z terapie anti-TNF- α pro potvrzení oligoklonální syntézy IgG v likvoru.

Ostatní pacienti indikovaní k terapii anti-TNF- α byli dále sledováni v režimu pravidelných kontrol. U 30 léčených pacientů byla po v průměru 18 měsících provedena kontrolní MRI mozku a kontrolní neurologické vyšetření. Nebyly zaznamenány žádné změny ve smyslu rozvoje demyelinizačních změn či progresivně stávajících změn na MRI mozku.

V celém souboru 97 pacientů bylo na terapii anti-TNF- α 78 pacientů, kteří jsou dále sledováni. Mezi těmito preselektovanými pacienty dosud nedošlo k rozvoji příznaků suspektních z demyelinizačního onemocnění.

Výsledky naší práce podporují hypotézu, že neurologický screening pacientů včetně provedení MRI mozku před zahájením terapie anti-TNF- α a vyřazení pacientů s podezřením na subklinické demyelinizační onemocnění či s prokázanou RS může

zvýšit bezpečnost této terapie. Jinými slovy – terapie pomocí anti TNF- α u pacientů bez známek latentního demyelinizačního onemocnění se zdá být bezpečná.

Limitem této práce zůstává stále ještě poměrně nízký počet pacientů v souboru a relativně krátká doba sledování u některých pacientů. Průměrná délka sledování však převyšuje 5 let a naprostá většina pacientů je tak sledována déle než 12 měsíců, do kdy se dle literární údajů objevily první příznaky neurologického postižení²²³.

V současné době neexistuje všeobecně platné doporučení k neurologickému vyšetření před zahájením biologické terapie. Všichni pacienti před zahájením léčby dnes podstupují vyšetření k vyloučení TBC infekce. Incidence TBC v České Republice se trvale pohybuje okolo 6 případů na 100 000 obyvatel²²⁴, což je srovnatelné s udávanou incidencí roztroušené sklerózy v celé populaci. Vzhledem k prokazatelně vyššímu riziku rozvoje RS u pacientů s nespecifickými střevními záněty považujeme neinvazivní neurologické vyšetření MRI mozku u takto rizikové skupiny za účelné a odůvodněné.

Na základě výše popsaných výsledků jsme na našem pracovišti zařadili neurologický screening pacientů s nespecifickými střevními záněty před zahájením terapie anti TNF- α do běžné praxe včetně provedení MRI mozku. U pacientů s patologickým nálezem suspektním z demyelinizace je standardně doplňována lumbální punkce.

Poměrně závažným problémem zůstává otázka další léčby pacientů s nespecifickým střevním zánětem, kteří jsou v rámci neurologického screeningu vyřazeni z terapie anti TNF- α . Jedná se ve většině případů o pacienty s agresivním průběhem základního onemocnění, kteří na standardní imunosupresivní terapii selhávají. Vždy záleží na konkrétních případech, které se mohou významně lišit. Nabízí se zde několik možností.

V našem souboru jsme zachytili dva odlišné případy. U jednoho pacienta byla terapie anti TNF- α kontraindikována z důvodů potvrzeného, již delší dobu probíhajícího demyelinizačního onemocnění, v době diagnózy ve stádiu sekundární

progrese. U tohoto pacienta bylo pokračováno v imunosupresivní terapii. Tento pacient je nyní stabilizován jak stran roztroušené sklerózy, tak původně dominujícího střevního onemocnění. Ve druhém případě se jedná o pacientku, která byla kontraindikována pro terapii anti TNF- α z důvodu nálezu na MRI mozku a v mozkomíšním moku, dosud bez klasických klinických obtíží, tedy s diagnosou Radiologicky izolovaného syndromu (RIS). Tato pacientka tedy dosud nespĺňuje kriteria k zahájení specifické terapie roztroušené sklerózy a byla u níž taktéž posílána kombinovaná imunosupresivní terapie. Během dosavadního sledování byl zaznamenán jeden relaps Crohnovy choroby, který se podařilo zaléčit konzervativně, dále byla pacientka stabilizována.

U pacientů s potvrzenou diagnózou obou chorob, tedy s nespecifickým střevním zánětem i s prokázanou relaps remitentní roztroušenou sklerózou, včetně pacientů nově diagnostikovaných stojí za úvahu zahájení terapie novými preparáty, které by mohly ovlivnit průběh obou chorob.

Jedná se zejména o natalizumab, látku, která je úspěšně využívána k léčbě RS. Natalizumab je humanizovaná monoklonální protilátka proti $\alpha 4$ integrinu, která blokuje adhezi lymfocytů k endoteliálním buňkám a brání tak přestupu lymfocytů přes hematoencefalickou bariéru do CNS. Efektivita natalizumabu v terapii RS byla potvrzena klinickými studii²²⁵. Natalizumab je zároveň velmi nadějným preparátem v terapii Crohnovy choroby. V placebem kontrolované klinické studii ENCORE byla potvrzena účinnost u 509 pacientů se středně závažnou a závažnou Crohnovou chorobou²²⁶. Problémem terapie natalizumabem u obou chorob je riziko rozvoje Progresivní multifokální leukoencefalopatie (PML), agresivního zánětu CNS s vysokou morbiditou i mortalitou. Jedná o onemocnění postihující pacienty, kteří jsou nositeli JC viru (John Cunningham virus). Protilátky proti JC viru jsou přítomny u cca 50% populace. U zdravé populace je přítomnost tohoto viru v organismu zcela neškodná. V případě imunodeficitu, například při nákazou virem HIV nebo při současném užívání některých léků, kam patří i natalizumab, hrozí propuknutí zánětu, který může pacienty bezprostředně ohrozit na životě.

Na celém světě bylo k 6/2016 publikováno celkem 664 případů rozvoje PML v souvislosti s terapií natalizumabem při celkovém počtu 152 000 tímto preparátem léčených pacientů s RR RS. Mezi pacienty s Crohnovou chorobou léčených natalizumabem byly taktéž popsány případy rozvoje PML²²⁷.

Se zvyšujícími se počty pacientů na terapii natalizumabem a zlepšujícími se znalostmi o PML byla vytvořena doporučení k minimalizaci rizika rozvoje PML. Mezi rizikové faktory patří především přítomnost protilátek proti JC viru, anamnéza užívání imunosupresivní terapie v minulosti a délka terapie natalizumabem, kdy po dvou letech léčby stoupá riziko rozvoje PML. Při koincidenci všech rizikových faktorů je riziko rozvoje PML maximální a dosahuje až 1%, tzn. ohrožení 1 pacienta ze 100 léčených. U pacientů, kteří neužívali imunosupresivní terapii lze ke stratifikaci rizika použít dnes již jednoduše dostupné vyšetření tzv. JCV indexu, kdy hodnota pod 0,5 i při pozitivitě JCV protilátek snižuje riziko rozvoje PML na úroveň JC virus negativních pacientů. U pacientů v riziku rozvoje PML se po dvou letech terapie doporučuje pravidelné sledování pomocí MRI mozku každé tři měsíce ve snaze o zachycení subklinických fází PML, kdy je při včasné léčebné zásahu prokázáno vyšší procento přeživších pacientů bez trvalých následků.

Přes všechna výše uvedená rizika zůstává natalizumab velmi účinným preparátem v terapii obou chorob. Nabízí se zejména pro JCV negativní pacienty s Crohnovou chorobou, kteří budou z důvodů rizika demyelinizačního onemocnění kontraindikováni k terapii pomocí anti TNF- α . Při dodržování bezpečnostních opatření a pravidelném sledování zejména protilátek proti JC viru, je tuto terapii možno označit za bezpečnou.

Fingolimod je další z preparátů dnes úspěšně užívaných k terapii RS. K léčbě této choroby byl jako první perorální preparát schválen v roce 2010. Jedná se o inhibitor S1P (Sfingozin 1 Fosfát) receptoru, který znemožňuje autoagresivním lymfocytům opustit lymfatické uzliny. S ohledem na mechanismus účinku tohoto léku a jeho systémové působení se fingolimod a další selektivní inhibitory S1P receptoru (Ozanimod, Erasimod, ...) dostávají do popředí zájmu expertů vyvíjejících

nové strategie v léčbě systémových zánětlivých chorob včetně nespecifických střevních zánětů²²⁸. I zde je tak určitý prostor k ovlivnění obou chorob.

Dalším z nadějných preparátů by mohl být dimethyl fumarát, perorální preparát užívaný v léčbě RS, kde působí zejména aktivací Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor). Prostřednictvím aktivace Nrf2 stimuluje produkci glutathionu, což je jeden z největších eliminátorů toxických kyslíkových radikálů^{229, 230}. Dále je dimethyl fumarát silným inhibítozem NF-κB (nuclear factor kappa B), který prostřednictvím inhibice antiapoptotického proteinu Bcl-2 indukuje apoptózu. Buňky pod vlivem Nrf2 zvyšují syntézu antioxidantů, což pomáhá k nastolení homeostázy.

Dimethyl fumarát má silný vliv na imunitní systém, kde ovlivňuje počty prozánětlivých lymfocytů²³⁰ a dendritických buněk²³¹.

V experimentální rovině byl prokázán příznivý efekt dimethyl fumarátu na průběh kolitidy u myší²³². Vzhledem k mechanismu účinku, silnému antioxidačnímu působení a prokázané roli oxidačního stresu u nespecifických střevních zánětů lze předpokládat pozitivní efekt i u těchto chorob.

V terapii roztroušené sklerózy jsou užívány i další léky, u kterých lze s ohledem na podobné patofyziologické mechanismy a systémové ovlivnění imunitních mechanismů předpokládat příznivý efekt i u nespecifických střevních zánětů. Jedná se například o alemtuzumab (monoklonální protilátka proti znaku CD52 na povrchu lymfocytů) nebo teriflunomid (selektivní reverzibilní inhibitor dihydro-orotát dehydrogenázy, klíčového enzymu v syntéze pyrimidinů. Tato inhibice vede k cytostatickému efektu na aktivované T a B lymfocyty²³³).

9 Závěr

V naší prospektivní studii jsme prokázali, že neurologický a MRI screening pacientů s nescifickými střevními záněty před zahájením terapie monoklonální protilátkou proti TNF- α může zvýšit bezpečnost této terapie zejména vyloučením pacientů s rizikem rozvoje roztroušené sklerózy.

Po zhodnocení výsledků naší práce a na základě analýzy patofyziologických vztahů mezi oběma chorobami a mechanismu účinku anti TNF- α se přikláníme k názoru, že tato látka může exacerbovat zatím klinicky němý, již preexistující demyelinizační proces. Rozvoj RS u neurologicky zdravých pacientů v návaznosti na terapii anti TNF- α považujeme za méně pravděpodobný.

Dlouhodobé užívání terapie anti TNF- α u preselektovaných pacientů bez jakéhokoli podezření na demyelinizaci se tedy jeví jako bezpečné.

Soustředili jsme se i na analýzu patofyziologických vztahů obou chorob bez ohledu na užívanou terapii. Potvrdili jsme velmi podobné imunopatologické mechanismy nutné k rozvoji obou chorob i obdobné spektrum rizikových faktorů.

Tato zjištění lze využít k navržení vhodné terapie u pacientů s kontraindikací terapie anti TNF- α ve snaze o příznivé léčebné ovlivnění obou chorob.

K potvrzení našich závěrů je třeba dlouhodobé multidisciplinární sledování pacientů v multicentrických prospektivních studiích.

10 Poděkování

Žádná práce není dílem jednoho člověka. Naopak, podílí se na ní spousta dalších osob, bez jejichž vydatné pomoci by nikdy nevznikla. Chtěla bych jim upřímně poděkovat za jejich spolupráci a vytrvalou podporu, kterou mi poskytovali.

Největší dík za cenné rady, motivaci a pomoc pro vznik této práce zásadní, patří mému laskavému, trpělivému školiteli, Doc. MUDr. Radanu Keilovi, CSc.

Poděkování dále patří kolegům z gastroenterologie FN Motol za excelentní spolupráci, zejména MUDr. J. Štovíčkoví a MUDr. Š. Hlavovi.

Nemohu opomenout ani významnou pomoc pana Ing. S. Kormundy při zpracování statistických dat.

Děkuji svým kolegům z neurologické kliniky FN Motol, zejména MUDr. M. Šrámkovi, který byl velkou oporou zejména v počátcích celé práce.

Nakonec bych ráda poděkovala svým blízkým za trpělivost a neúnavnou podporu.

11 Literatura

1. Schirbel A, Fiocchi C. Inflammatory bowel disease: Established and evolving considerations on its etiopathogenesis and therapy. *J Dig Dis* 2010;11:266-76.
2. Danese S, Fiocchi C. Ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2011;365:1713-25.
3. Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, et al. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology* 2012;142:46-54 e42; quiz e30.
4. Shivananda S, Lennard-Jones J, Logan R, et al. Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between north and south? Results of the European Collaborative Study on Inflammatory Bowel Disease (EC-IBD). *Gut* 1996;39:690-7.
5. Singh D, Srivastava S, Pradhan M, et al. Inflammatory Bowel Disease: Pathogenesis, Causative Factors, Issues, Drug Treatment Strategies, and Delivery Approaches. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 2015;32:181-214.
6. Fiocchi C. Inflammatory bowel disease pathogenesis: where are we? *J Gastroenterol Hepatol* 2015;30 Suppl 1:12-8.
7. Duerr RH. Update on the genetics of inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol* 2003;37:358-67.
8. Hugot JP, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, et al. Mapping of a susceptibility locus for Crohn's disease on chromosome 16. *Nature* 1996;379:821-3.
9. Jostins L, Ripke S, Weersma RK, et al. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature* 2012;491:119-24.
10. Yadav V, Varum F, Bravo R, et al. Inflammatory bowel disease: exploring gut pathophysiology for novel therapeutic targets. *Transl Res* 2016.
11. Wang MH, Fiocchi C, Ripke S, et al. A novel approach to detect cumulative genetic effects and genetic interactions in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2013;19:1799-808.
12. Bonen DK, Cho JH. The genetics of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2003;124:521-36.
13. Shanahan F. The gut microbiota-a clinical perspective on lessons learned. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012;9:609-14.
14. Ueno A, Jijon H, Traves S, et al. Opposing effects of smoking in ulcerative colitis and Crohn's disease may be explained by differential effects on dendritic cells. *Inflamm Bowel Dis* 2014;20:800-10.
15. Tilg H, Kaser A. Diet and relapsing ulcerative colitis: take off the meat? *Gut* 2004;53:1399-401.
16. Frolkis A, Dieleman LA, Barkema HW, et al. Environment and the inflammatory bowel diseases. *Can J Gastroenterol* 2013;27:e18-24.
17. Yan X, Huang Y, Wang H, et al. Maternal obesity induces sustained inflammation in both fetal and offspring large intestine of sheep. *Inflamm Bowel Dis* 2011;17:1513-22.

18. Nickerson KP, McDonald C. Crohn's disease-associated adherent-invasive *Escherichia coli* adhesion is enhanced by exposure to the ubiquitous dietary polysaccharide maltodextrin. *PLoS One* 2012;7:e52132.
19. Mittermaier C, Dejaco C, Waldhoer T, et al. Impact of depressive mood on relapse in patients with inflammatory bowel disease: a prospective 18-month follow-up study. *Psychosom Med* 2004;66:79-84.
20. Hviid A, Svanstrom H, Frisch M. Antibiotic use and inflammatory bowel diseases in childhood. *Gut* 2011;60:49-54.
21. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107:14691-6.
22. Dominguez-Bello MG, Blaser MJ, Ley RE, et al. Development of the human gastrointestinal microbiota and insights from high-throughput sequencing. *Gastroenterology* 2011;140:1713-9.
23. Tamboli CP, Neut C, Desreumaux P, et al. Dysbiosis in inflammatory bowel disease. *Gut* 2004;53:1-4.
24. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Herber A. Mucosal flora in Crohn's disease and ulcerative colitis - an overview. *J Physiol Pharmacol* 2009;60 Suppl 6:61-71.
25. Wang J, Thingholm LB, Skieceviciene J, et al. Genome-wide association analysis identifies variation in vitamin D receptor and other host factors influencing the gut microbiota. *Nat Genet* 2016;48:1396-1406.
26. Preidis GA, Versalovic J. Targeting the human microbiome with antibiotics, probiotics, and prebiotics: gastroenterology enters the metagenomics era. *Gastroenterology* 2009;136:2015-31.
27. Hooper LV, Littman DR, Macpherson AJ. Interactions between the microbiota and the immune system. *Science* 2012;336:1268-73.
28. Cario E. Toll-like receptors in inflammatory bowel diseases: a decade later. *Inflamm Bowel Dis* 2010;16:1583-97.
29. Antoni L, Nuding S, Wehkamp J, et al. Intestinal barrier in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2014;20:1165-79.
30. Annunziato F, Cosmi L, Santarlasci V, et al. Phenotypic and functional features of human Th17 cells. *J Exp Med* 2007;204:1849-61.
31. Fuss IJ, Strober W. The role of IL-13 and NK T cells in experimental and human ulcerative colitis. *Mucosal Immunol* 2008;1 Suppl 1:S31-3.
32. Al-Haddad S, Riddell RH. The role of eosinophils in inflammatory bowel disease. *Gut* 2005;54:1674-5.
33. Simmonds NJ, Allen RE, Stevens TR, et al. Chemiluminescence assay of mucosal reactive oxygen metabolites in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1992;103:186-96.
34. Nikolaus S, Schreiber S. Diagnostics of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2007;133:1670-89.
35. Wilkins T, Jarvis K, Patel J. Diagnosis and management of Crohn's disease. *Am Fam Physician* 2011;84:1365-75.
36. Kaistha A, Levine J. Inflammatory bowel disease: the classic gastrointestinal autoimmune disease. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2014;44:328-34.

37. Pasha SF, Hara AK, Leighton JA. Diagnostic evaluation and management of obscure gastrointestinal bleeding: a changing paradigm. *Gastroenterol Hepatol (N Y)* 2009;5:839-50.
38. Eaden JA, Abrams K, Mayberry JF. Does patient knowledge affect the colorectal cancer risk in ulcerative colitis? *Postgrad Med J* 2002;78:615-8.
39. Abraham C, Cho JH. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2009;361:2066-78.
40. Pithadia AB, Jain S. Treatment of inflammatory bowel disease (IBD). *Pharmacol Rep* 2011;63:629-42.
41. Turner D, Levine A, Escher JC, et al. Management of pediatric ulcerative colitis: joint ECCO and ESPGHAN evidence-based consensus guidelines. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012;55:340-61.
42. Smart AL, Gaisford S, Basit AW. Oral peptide and protein delivery: intestinal obstacles and commercial prospects. *Expert Opin Drug Deliv* 2014;11:1323-35.
43. Cote-Daigneault J, Bouin M, Lahaie R, et al. Biologics in inflammatory bowel disease: what are the data? *United European Gastroenterol J* 2015;3:419-28.
44. Lin J, Ziring D, Desai S, et al. TNFalpha blockade in human diseases: an overview of efficacy and safety. *Clin Immunol* 2008;126:13-30.
45. Ding NS, Hart A, De Cruz P. Systematic review: predicting and optimising response to anti-TNF therapy in Crohn's disease - algorithm for practical management. *Aliment Pharmacol Ther* 2016;43:30-51.
46. Ben-Horin S, Waterman M, Kopylov U, et al. Addition of an immunomodulator to infliximab therapy eliminates antidrug antibodies in serum and restores clinical response of patients with inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013;11:444-7.
47. Jilani NZ, Akobeng AK. Adalimumab for maintenance of clinical response and remission in patients with Crohn's disease: the CHARM trial. Colombel JF, Sandborn WJ, Rutgeerts P et al. *Gastroenterology* 2007;132:52-65. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008;46:226-7.
48. Hyams J, Crandall W, Kugathasan S, et al. Induction and maintenance infliximab therapy for the treatment of moderate-to-severe Crohn's disease in children. *Gastroenterology* 2007;132:863-73; quiz 1165-6.
49. Magro F, Rodrigues-Pinto E, Santos-Antunes J, et al. High C-reactive protein in Crohn's disease patients predicts nonresponse to infliximab treatment. *J Crohns Colitis* 2014;8:129-36.
50. Ungar B, Levy I, Yavne Y, et al. Optimizing Anti-TNF-alpha Therapy: Serum Levels of Infliximab and Adalimumab Are Associated With Mucosal Healing in Patients With Inflammatory Bowel Diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016;14:550-557 e2.
51. Iwasa R, Yamada A, Sono K, et al. C-reactive protein level at 2 weeks following initiation of infliximab induction therapy predicts outcomes in patients with ulcerative colitis: a 3 year follow-up study. *BMC Gastroenterol* 2015;15:103.
52. Viazis N, Koukouratos T, Anastasiou J, et al. Azathioprine discontinuation earlier than 6 months in Crohn's disease patients started on anti-TNF therapy

- is associated with loss of response and the need for anti-TNF dose escalation. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2015;27:436-41.
53. Yanai H, Lichtenstein L, Assa A, et al. Levels of drug and antidrug antibodies are associated with outcome of interventions after loss of response to infliximab or adalimumab. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2015;13:522-530 e2.
 54. Billiet T, Vande Casteele N, Van Stappen T, et al. Immunogenicity to infliximab is associated with HLA-DRB1. *Gut* 2015;64:1344-5.
 55. Kopylov U, Seidman E. Predicting durable response or resistance to antitumor necrosis factor therapy in inflammatory bowel disease. *Therap Adv Gastroenterol* 2016;9:513-26.
 56. Levine A, Koletzko S, Turner D, et al. ESPGHAN revised porto criteria for the diagnosis of inflammatory bowel disease in children and adolescents. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014;58:795-806.
 57. Fuss IJ, Heller F, Boirivant M, et al. Nonclassical CD1d-restricted NK T cells that produce IL-13 characterize an atypical Th2 response in ulcerative colitis. *J Clin Invest* 2004;113:1490-7.
 58. Reinisch W, Panes J, Khurana S, et al. Anrukinzumab, an anti-interleukin 13 monoclonal antibody, in active UC: efficacy and safety from a phase IIa randomised multicentre study. *Gut* 2015;64:894-900.
 59. Yan F, Cao H, Cover TL, et al. Soluble proteins produced by probiotic bacteria regulate intestinal epithelial cell survival and growth. *Gastroenterology* 2007;132:562-75.
 60. van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 2013;368:407-15.
 61. Cui B, Feng Q, Wang H, et al. Fecal microbiota transplantation through mid-gut for refractory Crohn's disease: safety, feasibility, and efficacy trial results. *J Gastroenterol Hepatol* 2015;30:51-8.
 62. Vermeire S, Joossens M, Verbeke K, et al. Donor Species Richness Determines Faecal Microbiota Transplantation Success in Inflammatory Bowel Disease. *J Crohns Colitis* 2016;10:387-94.
 63. Erickson AR, Cantarel BL, Lamendella R, et al. Integrated metagenomics/metaproteomics reveals human host-microbiota signatures of Crohn's disease. *PLoS One* 2012;7:e49138.
 64. Bernstein CN, Blanchard JF, Rawsthorne P, et al. The prevalence of extraintestinal diseases in inflammatory bowel disease: a population-based study. *Am J Gastroenterol* 2001;96:1116-22.
 65. Bernstein CN, Blanchard JF, Rawsthorne P, et al. Population-based case control study of seroprevalence of *Mycobacterium paratuberculosis* in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *J Clin Microbiol* 2004;42:1129-35.
 66. Su CG, Judge TA, Lichtenstein GR. Extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 2002;31:307-27.
 67. Vavricka SR, Brun L, Ballabeni P, et al. Frequency and risk factors for extraintestinal manifestations in the Swiss inflammatory bowel disease cohort. *Am J Gastroenterol* 2011;106:110-9.
 68. Ardizzone S, Puttini PS, Cassinotti A, et al. Extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease. *Dig Liver Dis* 2008;40 Suppl 2:S253-9.

69. Bhagat S, Das KM. A shared and unique peptide in the human colon, eye, and joint detected by a monoclonal antibody. *Gastroenterology* 1994;107:103-8.
70. Roussomoustakaki M, Satsangi J, Welsh K, et al. Genetic markers may predict disease behavior in patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1997;112:1845-53.
71. Mallas EG, Mackintosh P, Asquith P, et al. Histocompatibility antigens in inflammatory bowel disease. Their clinical significance and their association with arthropathy with special reference to HLA-B27 (W27). *Gut* 1976;17:906-10.
72. Smale S, Natt RS, Orchard TR, et al. Inflammatory bowel disease and spondylarthropathy. *Arthritis Rheum* 2001;44:2728-36.
73. Clegg DO, Reda DJ, Abdellatif M. Comparison of sulfasalazine and placebo for the treatment of axial and peripheral articular manifestations of the seronegative spondylarthropathies: a Department of Veterans Affairs cooperative study. *Arthritis Rheum* 1999;42:2325-9.
74. Kefalakes H, Stylianides TJ, Amanakis G, et al. Exacerbation of inflammatory bowel diseases associated with the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: myth or reality? *Eur J Clin Pharmacol* 2009;65:963-70.
75. Fornaciari G, Salvarani C, Beltrami M, et al. Musculoskeletal manifestations in inflammatory bowel disease. *Can J Gastroenterol* 2001;15:399-403.
76. Van den Bosch F, Kruithof E, De Vos M, et al. Crohn's disease associated with spondyloarthropathy: effect of TNF-alpha blockade with infliximab on articular symptoms. *Lancet* 2000;356:1821-2.
77. Greenstein AJ, Janowitz HD, Sachar DB. The extra-intestinal complications of Crohn's disease and ulcerative colitis: a study of 700 patients. *Medicine (Baltimore)* 1976;55:401-12.
78. Bennett ML, Jackson JM, Jorizzo JL, et al. Pyoderma gangrenosum. A comparison of typical and atypical forms with an emphasis on time to remission. Case review of 86 patients from 2 institutions. *Medicine (Baltimore)* 2000;79:37-46.
79. Hughes AP, Jackson JM, Callen JP. Clinical features and treatment of peristomal pyoderma gangrenosum. *JAMA* 2000;284:1546-8.
80. Petrelli EA, McKinley M, Troncale FJ. Ocular manifestations of inflammatory bowel disease. *Ann Ophthalmol* 1982;14:356-60.
81. Fries W, Giofre MR, Catanoso M, et al. Treatment of acute uveitis associated with Crohn's disease and sacroileitis with infliximab. *Am J Gastroenterol* 2002;97:499-500.
82. Yarur AJ, Czul F, Levy C. Hepatobiliary manifestations of inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2014;20:1655-67.
83. Benavente L, Moris G. Neurologic disorders associated with inflammatory bowel disease. *Eur J Neurol* 2011;18:138-43.
84. Moris G. Inflammatory bowel disease: an increased risk factor for neurologic complications. *World J Gastroenterol* 2014;20:1228-37.
85. Zois CD, Katsanos KH, Kosmidou M, et al. Neurologic manifestations in inflammatory bowel diseases: current knowledge and novel insights. *J Crohns Colitis* 2010;4:115-24.

86. de Lau LM, de Vries JM, van der Woude CJ, et al. Acute CNS white matter lesions in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2009;15:576-80.
87. Lossos A, River Y, Eliakim A, et al. Neurologic aspects of inflammatory bowel disease. *Neurology* 1995;45:416-21.
88. Elsehety A, Bertorini TE. Neurologic and neuropsychiatric complications of Crohn's disease. *South Med J* 1997;90:606-10.
89. Gondim FA, Brannagan TH, 3rd, Sander HW, et al. Peripheral neuropathy in patients with inflammatory bowel disease. *Brain* 2005;128:867-79.
90. Oliveira GR, Teles BC, Brasil EF, et al. Peripheral neuropathy and neurological disorders in an unselected Brazilian population-based cohort of IBD patients. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14:389-95.
91. de la Torre RG, Moris G, Martinez DP, et al. Guillain-Barre syndrome, tuberculosis and inflammatory bowel disease: a multiple association. *Int Arch Med* 2010;3:15.
92. Figueroa JJ, Loftus EV, Jr., Harmsen WS, et al. Peripheral neuropathy incidence in inflammatory bowel disease: a population-based study. *Neurology* 2013;80:1693-7.
93. Zitomersky NL, Levine AE, Atkinson BJ, et al. Risk factors, morbidity, and treatment of thrombosis in children and young adults with active inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013;57:343-7.
94. Singh S, Singh H, Loftus EV, Jr., et al. Risk of cerebrovascular accidents and ischemic heart disease in patients with inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014;12:382-93 e1: quiz e22.
95. Cognat E, Crassard I, Denier C, et al. Cerebral venous thrombosis in inflammatory bowel diseases: eight cases and literature review. *Int J Stroke* 2011;6:487-92.
96. Zitomersky NL, Verhave M, Trenor CC, 3rd. Thrombosis and inflammatory bowel disease: a call for improved awareness and prevention. *Inflamm Bowel Dis* 2011;17:458-70.
97. Ha C, Magowan S, Accortt NA, et al. Risk of arterial thrombotic events in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2009;104:1445-51.
98. Weinstock LB, Bosworth BP, Scherl EJ, et al. Crohn's disease is associated with restless legs syndrome. *Inflamm Bowel Dis* 2010;16:275-9.
99. Ananthkrishnan AN, Issa M, Barboi A, et al. Impact of autonomic dysfunction on inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol* 2010;44:272-9.
100. Foroozan R, Sambursky R. Ocular myasthenia gravis and inflammatory bowel disease: a case report and literature review. *Br J Ophthalmol* 2003;87:1186-7.
101. Gijtenbeek JM, van den Bent MJ, Vecht CJ. Cyclosporine neurotoxicity: a review. *J Neurol* 1999;246:339-46.
102. Schoonjans R, Mast A, Van den Abeele G, et al. Sulfasalazine-associated encephalopathy in a patient with Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 1993;88:1759-63.

103. Bloomgren G, Richman S, Hotermans C, et al. Risk of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *N Engl J Med* 2012;366:1870-80.
104. Haddock R, Garrick V, Horrocks I, et al. A case of posterior reversible encephalopathy syndrome in a child with Crohn's disease treated with Infliximab. *J Crohns Colitis* 2011;5:623-7.
105. Shin IS, Baer AN, Kwon HJ, et al. Guillain-Barre and Miller Fisher syndromes occurring with tumor necrosis factor alpha antagonist therapy. *Arthritis Rheum* 2006;54:1429-34.
106. Tristano AG. Neurological adverse events associated with anti-tumor necrosis factor alpha treatment. *J Neurol* 2010;257:1421-31.
107. Golan H, Levav T, Mendelsohn A, et al. Involvement of tumor necrosis factor alpha in hippocampal development and function. *Cereb Cortex* 2004;14:97-105.
108. Sedgwick JD, Riminton DS, Cyster JG, et al. Tumor necrosis factor: a master-regulator of leukocyte movement. *Immunol Today* 2000;21:110-3.
109. Terenghi F, Allaria S, Nobile-Orazio E. Circulating levels of cytokines and their modulation by intravenous immunoglobulin in multifocal motor neuropathy. *J Peripher Nerv Syst* 2006;11:67-71.
110. Magnano MD, Robinson WH, Genovese MC. Demyelination and inhibition of tumor necrosis factor (TNF). *Clin Exp Rheumatol* 2004;22:S134-40.
111. Prahalad S, Shear ES, Thompson SD, et al. Increased prevalence of familial autoimmunity in simplex and multiplex families with juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2002;46:1851-6.
112. Rang EH, Brooke BN, Hermon-Taylor J. Association of ulcerative colitis with multiple sclerosis. *Lancet* 1982;2:555.
113. Gupta G, Gelfand JM, Lewis JD. Increased risk for demyelinating diseases in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2005;129:819-26.
114. Stovicek J, Liskova P, Lisy J, et al. Crohn's disease: is there a place for neurological screening? *Scand J Gastroenterol* 2014;49:173-6.
115. Ramagopalan SV, Dymont DA, Valdar W, et al. Autoimmune disease in families with multiple sclerosis: a population-based study. *Lancet Neurol* 2007;6:604-10.
116. Baumgart DC, Sandborn WJ. Crohn's disease. *Lancet* 2012;380:1590-605.
117. Ochoa-Reparaz J, Mielcarz DW, Ditrio LE, et al. Role of gut commensal microflora in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 2009;183:6041-50.
118. Maddur MS, Miossec P, Kaveri SV, et al. Th17 cells: biology, pathogenesis of autoimmune and inflammatory diseases, and therapeutic strategies. *Am J Pathol* 2012;181:8-18.
119. De Felice KM, Novotna M, Enders FT, et al. Idiopathic inflammatory demyelinating disease of the central nervous system in patients with inflammatory bowel disease: retrospective analysis of 9095 patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2015;41:99-107.
120. Katsanos AH, Katsanos KH. Inflammatory bowel disease and demyelination: more than just a coincidence? *Expert Rev Clin Immunol* 2014;10:363-73.

121. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet* 2002;359:1221-31.
122. Bar-Or A. Multiple sclerosis and related disorders: evolving pathophysiologic insights. *Lancet Neurol* 2016;15:9-11.
123. Farez MF, Mascanfroni ID, Mendez-Huergo SP, et al. Melatonin Contributes to the Seasonality of Multiple Sclerosis Relapses. *Cell* 2015;162:1338-52.
124. Cheng JB, Levine MA, Bell NH, et al. Genetic evidence that the human CYP2R1 enzyme is a key vitamin D 25-hydroxylase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:7711-5.
125. Eyles DW, Smith S, Kinobe R, et al. Distribution of the vitamin D receptor and 1 alpha-hydroxylase in human brain. *J Chem Neuroanat* 2005;29:21-30.
126. Provedini DM, Tsoukas CD, Deftos LJ, et al. 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors in human leukocytes. *Science* 1983;221:1181-3.
127. Chun RF, Liu PT, Modlin RL, et al. Impact of vitamin D on immune function: lessons learned from genome-wide analysis. *Front Physiol* 2014;5:151.
128. Sadeghi K, Wessner B, Laggner U, et al. Vitamin D3 down-regulates monocyte TLR expression and triggers hyporesponsiveness to pathogen-associated molecular patterns. *Eur J Immunol* 2006;36:361-70.
129. Bartels LE, Hvas CL, Agnholt J, et al. Human dendritic cell antigen presentation and chemotaxis are inhibited by intrinsic 25-hydroxy vitamin D activation. *Int Immunopharmacol* 2010;10:922-8.
130. Barrat FJ, Cua DJ, Boonstra A, et al. In vitro generation of interleukin 10-producing regulatory CD4(+) T cells is induced by immunosuppressive drugs and inhibited by T helper type 1 (Th1)- and Th2-inducing cytokines. *J Exp Med* 2002;195:603-16.
131. Chen S, Sims GP, Chen XX, et al. Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on human B cell differentiation. *J Immunol* 2007;179:1634-47.
132. Munger KL, Levin LI, Hollis BW, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *JAMA* 2006;296:2832-8.
133. Salzer J, Hallmans G, Nystrom M, et al. Vitamin D as a protective factor in multiple sclerosis. *Neurology* 2012;79:2140-5.
134. Simpson S, Jr., Taylor B, Blizzard L, et al. Higher 25-hydroxyvitamin D is associated with lower relapse risk in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2010;68:193-203.
135. Fitzgerald KC, Munger KL, Kochert K, et al. Association of Vitamin D Levels With Multiple Sclerosis Activity and Progression in Patients Receiving Interferon Beta-1b. *JAMA Neurol* 2015;72:1458-65.
136. Kuhle J, Disanto G, Dobson R, et al. Conversion from clinically isolated syndrome to multiple sclerosis: A large multicentre study. *Mult Scler* 2015;21:1013-24.
137. Mokry LE, Ross S, Ahmad OS, et al. Correction: Vitamin D and Risk of Multiple Sclerosis: A Mendelian Randomization Study. *PLoS Med* 2016;13:e1001981.
138. Muris AH, Smolders J, Rolf L, et al. Immune regulatory effects of high dose vitamin D3 supplementation in a randomized controlled trial in relapsing

- remitting multiple sclerosis patients receiving IFNbeta; the SOLARIUM study. *J Neuroimmunol* 2016;300:47-56.
139. Disanto G, Meier U, Giovannoni G, et al. Vitamin D: a link between Epstein-Barr virus and multiple sclerosis development? *Expert Rev Neurother* 2011;11:1221-4.
 140. Handel AE, Williamson AJ, Disanto G, et al. Smoking and multiple sclerosis: an updated meta-analysis. *PLoS One* 2011;6:e16149.
 141. Salzer J, Hallmans G, Nystrom M, et al. Smoking as a risk factor for multiple sclerosis. *Mult Scler* 2013;19:1022-7.
 142. Healy BC, Ali EN, Guttmann CR, et al. Smoking and disease progression in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2009;66:858-64.
 143. Odoardi F, Sie C, Streyl K, et al. T cells become licensed in the lung to enter the central nervous system. *Nature* 2012;488:675-9.
 144. Oksenberg JR, Baranzini SE. Multiple sclerosis genetics--is the glass half full, or half empty? *Nat Rev Neurol* 2010;6:429-37.
 145. Serafini B, Rosicarelli B, Magliozzi R, et al. Dendritic cells in multiple sclerosis lesions: maturation stage, myelin uptake, and interaction with proliferating T cells. *J Neuropathol Exp Neurol* 2006;65:124-41.
 146. Grigoriadis N, van Pesch V. A basic overview of multiple sclerosis immunopathology. *Eur J Neurol* 2015;22 Suppl 2:3-13.
 147. Sawcer S, Hellenthal G, Pirinen M, et al. Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. *Nature* 2011;476:214-9.
 148. Komiyama Y, Nakae S, Matsuki T, et al. IL-17 plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 2006;177:566-73.
 149. Muls N, Jnaoui K, Dang HA, et al. Upregulation of IL-17, but not of IL-9, in circulating cells of CIS and relapsing MS patients. Impact of corticosteroid therapy on the cytokine network. *J Neuroimmunol* 2012;243:73-80.
 150. Huppert J, Closhen D, Croxford A, et al. Cellular mechanisms of IL-17-induced blood-brain barrier disruption. *FASEB J* 2010;24:1023-34.
 151. Murphy AC, Lalor SJ, Lynch MA, et al. Infiltration of Th1 and Th17 cells and activation of microglia in the CNS during the course of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain Behav Immun* 2010;24:641-51.
 152. Strachan-Whaley M, Rivest S, Yong VW. Interactions between microglia and T cells in multiple sclerosis pathobiology. *J Interferon Cytokine Res* 2014;34:615-22.
 153. Stromnes IM, Cerretti LM, Liggitt D, et al. Differential regulation of central nervous system autoimmunity by T(H)1 and T(H)17 cells. *Nat Med* 2008;14:337-42.
 154. Ifergan I, Kebir H, Alvarez JI, et al. Central nervous system recruitment of effector memory CD8+ T lymphocytes during neuroinflammation is dependent on alpha4 integrin. *Brain* 2011;134:3560-77.
 155. Jaquiere E, Jilek S, Schlupe M, et al. Intrathecal immune responses to EBV in early MS. *Eur J Immunol* 2010;40:878-87.

156. Petermann F, Rothhammer V, Claussen MC, et al. gammadelta T cells enhance autoimmunity by restraining regulatory T cell responses via an interleukin-23-dependent mechanism. *Immunity* 2010;33:351-63.
157. Bielekova B, Catalfamo M, Reichert-Scrivner S, et al. Regulatory CD56(bright) natural killer cells mediate immunomodulatory effects of IL-2Ralpha-targeted therapy (daclizumab) in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103:5941-6.
158. Ozawa K, Suchanek G, Breitschopf H, et al. Patterns of oligodendroglia pathology in multiple sclerosis. *Brain* 1994;117 (Pt 6):1311-22.
159. Lucchinetti C, Bruck W, Parisi J, et al. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol* 2000;47:707-17.
160. Fraussen J, Claes N, de Bock L, et al. Targets of the humoral autoimmune response in multiple sclerosis. *Autoimmun Rev* 2014;13:1126-37.
161. Kappos L, Li D, Calabresi PA, et al. Ocrelizumab in relapsing-remitting multiple sclerosis: a phase 2, randomised, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet* 2011;378:1779-87.
162. Shimonkevitz R, Colburn C, Burnham JA, et al. Clonal expansions of activated gamma/delta T cells in recent-onset multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:923-7.
163. Mayo L, Trauger SA, Blain M, et al. Regulation of astrocyte activation by glycolipids drives chronic CNS inflammation. *Nat Med* 2014;20:1147-56.
164. Timmermans S, Bogie JF, Vanmierlo T, et al. High fat diet exacerbates neuroinflammation in an animal model of multiple sclerosis by activation of the Renin Angiotensin system. *J Neuroimmune Pharmacol* 2014;9:209-17.
165. Lee YK, Menezes JS, Umesaki Y, et al. Proinflammatory T-cell responses to gut microbiota promote experimental autoimmune encephalomyelitis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108 Suppl 1:4615-22.
166. Lassmann H. Mechanisms of white matter damage in multiple sclerosis. *Glia* 2014;62:1816-30.
167. De Stefano N, Airas L, Grigoriadis N, et al. Clinical relevance of brain volume measures in multiple sclerosis. *CNS Drugs* 2014;28:147-56.
168. Kutzelnigg A, Lucchinetti CF, Stadelmann C, et al. Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. *Brain* 2005;128:2705-12.
169. Serafini B, Rosicarelli B, Magliozzi R, et al. Detection of ectopic B-cell follicles with germinal centers in the meninges of patients with secondary progressive multiple sclerosis. *Brain Pathol* 2004;14:164-74.
170. Beutler B, Mahoney J, Le Trang N, et al. Purification of cachectin, a lipoprotein lipase-suppressing hormone secreted by endotoxin-induced RAW 264.7 cells. *J Exp Med* 1985;161:984-95.
171. Pasparakis M, Alexopoulou L, Douni E, et al. Tumour necrosis factors in immune regulation: everything that's interesting is...new! *Cytokine Growth Factor Rev* 1996;7:223-9.
172. Black RA. TIMP3 checks inflammation. *Nat Genet* 2004;36:934-5.

173. McDermott MF, Aksentijevich I, Galon J, et al. Germline mutations in the extracellular domains of the 55 kDa TNF receptor, TNFR1, define a family of dominantly inherited autoinflammatory syndromes. *Cell* 1999;97:133-44.
174. Vassalli P. The pathophysiology of tumor necrosis factors. *Annu Rev Immunol* 1992;10:411-52.
175. Kontermann RE, Munkel S, Neumeyer J, et al. A humanized tumor necrosis factor receptor 1 (TNFR1)-specific antagonistic antibody for selective inhibition of tumor necrosis factor (TNF) action. *J Immunother* 2008;31:225-34.
176. Bosch X, Saiz A, Ramos-Casals M. Monoclonal antibody therapy-associated neurological disorders. *Nat Rev Neurol* 2011;7:165-72.
177. Vanden Berghe T, Linkermann A, Jouan-Lanhouet S, et al. Regulated necrosis: the expanding network of non-apoptotic cell death pathways. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014;15:135-47.
178. Alexopoulou L, Kranidioti K, Xanthoulea S, et al. Transmembrane TNF protects mutant mice against intracellular bacterial infections, chronic inflammation and autoimmunity. *Eur J Immunol* 2006;36:2768-80.
179. Grell M, Douni E, Wajant H, et al. The transmembrane form of tumor necrosis factor is the prime activating ligand of the 80 kDa tumor necrosis factor receptor. *Cell* 1995;83:793-802.
180. de Vries HE, Blom-Roosemalen MC, van Oosten M, et al. The influence of cytokines on the integrity of the blood-brain barrier in vitro. *J Neuroimmunol* 1996;64:37-43.
181. Akassoglou K, Douni E, Bauer J, et al. Exclusive tumor necrosis factor (TNF) signaling by the p75TNF receptor triggers inflammatory ischemia in the CNS of transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:709-14.
182. Kassiotis G, Kollias G. Uncoupling the proinflammatory from the immunosuppressive properties of tumor necrosis factor (TNF) at the p55 TNF receptor level: implications for pathogenesis and therapy of autoimmune demyelination. *J Exp Med* 2001;193:427-34.
183. TNF neutralization in MS: results of a randomized, placebo-controlled multicenter study. The Lenercept Multiple Sclerosis Study Group and The University of British Columbia MS/MRI Analysis Group. *Neurology* 1999;53:457-65.
184. van Oosten BW, Barkhof F, Truyen L, et al. Increased MRI activity and immune activation in two multiple sclerosis patients treated with the monoclonal anti-tumor necrosis factor antibody cA2. *Neurology* 1996;47:1531-4.
185. Arnett HA, Mason J, Marino M, et al. TNF alpha promotes proliferation of oligodendrocyte progenitors and remyelination. *Nat Neurosci* 2001;4:1116-22.
186. Probert L. TNF and its receptors in the CNS: The essential, the desirable and the deleterious effects. *Neuroscience* 2015;302:2-22.
187. Dong Y, Fischer R, Naude PJ, et al. Essential protective role of tumor necrosis factor receptor 2 in neurodegeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016;113:12304-12309.

188. McCann FE, Perocheau DP, Ruspi G, et al. Selective tumor necrosis factor receptor I blockade is antiinflammatory and reveals immunoregulatory role of tumor necrosis factor receptor II in collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheumatol* 2014;66:2728-38.
189. Williams SK, Maier O, Fischer R, et al. Antibody-mediated inhibition of TNFR1 attenuates disease in a mouse model of multiple sclerosis. *PLoS One* 2014;9:e90117.
190. Theibich A, Dreyer L, Magyari M, et al. Demyelinating neurological disease after treatment with tumor necrosis factor alpha-inhibiting agents in a rheumatological outpatient clinic: description of six cases. *Clin Rheumatol* 2013.
191. Sicotte NL, Voskuhl RR. Onset of multiple sclerosis associated with anti-TNF therapy. *Neurology* 2001;57:1885-8.
192. Matsumoto T, Nakamura I, Miura A, et al. New-onset multiple sclerosis associated with adalimumab treatment in rheumatoid arthritis: a case report and literature review. *Clin Rheumatol* 2013;32:271-5.
193. Fromont A, De Seze J, Fleury MC, et al. Inflammatory demyelinating events following treatment with anti-tumor necrosis factor. *Cytokine* 2009;45:55-7.
194. Reddy JG, Loftus EV, Jr. Safety of infliximab and other biologic agents in the inflammatory bowel diseases. *Gastroenterol Clin North Am* 2006;35:837-55.
195. Hare NC, Hunt DP, Venugopal K, et al. Multiple sclerosis in the context of TNF blockade and inflammatory bowel disease. *QJM* 2012.
196. Deepak P, Stobaugh DJ, Sherid M, et al. Neurological events with tumour necrosis factor alpha inhibitors reported to the Food and Drug Administration Adverse Event Reporting System. *Aliment Pharmacol Ther* 2013;38:388-96.
197. Seror R, Richez C, Sordet C, et al. Pattern of demyelination occurring during anti-TNF-alpha therapy: a French national survey. *Rheumatology (Oxford)* 2013;52:868-74.
198. Kaltsonoudis E, Zikou AK, Voulgari PV, et al. Neurological adverse events in patients receiving anti-TNF therapy: a prospective imaging and electrophysiological study. *Arthritis Res Ther* 2014;16:R125.
199. Kaltsonoudis E, Voulgari PV, Konitsiotis S, et al. Demyelination and other neurological adverse events after anti-TNF therapy. *Autoimmun Rev* 2014;13:54-8.
200. Caminero A, Comabella M, Montalban X. Tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha), anti-TNF-alpha and demyelination revisited: an ongoing story. *J Neuroimmunol* 2011;234:1-6.
201. Lin CH, Kadakia S, Frieri M. New insights into an autoimmune mechanism, pharmacological treatment and relationship between multiple sclerosis and inflammatory bowel disease. *Autoimmun Rev* 2014;13:114-6.
202. Lin Y, Zou Q, Li H. Tipping the balance: anti-tumour necrosis factor alpha therapy may damage cerebral nerve reservation. *Med Hypotheses* 2009;73:958-60.
203. Robinson WH, Genovese MC, Moreland LW. Demyelinating and neurologic events reported in association with tumor necrosis factor alpha antagonism: by what mechanisms could tumor necrosis factor alpha antagonists improve

- rheumatoid arthritis but exacerbate multiple sclerosis? *Arthritis Rheum* 2001;44:1977-83.
204. Mausner-Fainberg K, Regev K, Kolb H, et al. Increased neutralization capacity of TNF-alpha in sera of relapsing remitting multiple sclerosis patients is not related to soluble TNF-alpha receptors or anti-TNF-alpha autoantibody levels. *J Neuroimmunol* 2015;286:83-5.
 205. Gregory AP, Dendrou CA, Attfield KE, et al. TNF receptor 1 genetic risk mirrors outcome of anti-TNF therapy in multiple sclerosis. *Nature* 2012;488:508-11.
 206. Voulgari PV, Alamanos Y, Nikas SN, et al. Infliximab therapy in established rheumatoid arthritis: an observational study. *Am J Med* 2005;118:515-20.
 207. Adamczyk-Sowa M, Medrek A, Madej P, et al. Does the Gut Microbiota Influence Immunity and Inflammation in Multiple Sclerosis Pathophysiology? *J Immunol Res* 2017;2017:7904821.
 208. Gianfrancesco MA, Barcellos LF. Obesity and Multiple Sclerosis Susceptibility: A Review. *J Neurol Neuromedicine* 2016;1:1-5.
 209. Pituch-Zdanowska A, Banaszekiewicz A, Dziekiewicz M, et al. Overweight and obesity in children with newly diagnosed inflammatory bowel disease. *Adv Med Sci* 2016;61:28-31.
 210. Calvo JR, Guerrero JM, Osuna C, et al. Melatonin triggers Crohn's disease symptoms. *J Pineal Res* 2002;32:277-8.
 211. Hradsky O, Copova I, Zarubova K, et al. Seroprevalence of Epstein-Barr Virus, Cytomegalovirus, and Polyomaviruses in Children with Inflammatory Bowel Disease. *Dig Dis Sci* 2015;60:3399-407.
 212. Bates J, Diehl L. Dendritic cells in IBD pathogenesis: an area of therapeutic opportunity? *J Pathol* 2014;232:112-20.
 213. Monteleone I, Pallone F, Monteleone G. Th17-cytokine blockers as a new approach for treating inflammatory bowel disease. *Ann Med* 2011;43:172-8.
 214. Ohl K, Tenbrock K, Kipp M. Oxidative stress in multiple sclerosis: Central and peripheral mode of action. *Exp Neurol* 2016;277:58-67.
 215. Alzoughaibi MA. Concepts of oxidative stress and antioxidant defense in Crohn's disease. *World J Gastroenterol* 2013;19:6540-7.
 216. Linker RA, Haghikia A. Dimethyl fumarate in multiple sclerosis: latest developments, evidence and place in therapy. *Ther Adv Chronic Dis* 2016;7:198-207.
 217. Didonna A, Oksenberg JR. Genetic determinants of risk and progression in multiple sclerosis. *Clin Chim Acta* 2015;449:16-22.
 218. Kosmidou M, Katsanos AH, Katsanos KH, et al. Multiple sclerosis and inflammatory bowel diseases: a systematic review and meta-analysis. *J Neurol* 2017;264:254-259.
 219. Geissler A, Andus T, Roth M, et al. Focal white-matter lesions in brain of patients with inflammatory bowel disease. *Lancet* 1995;345:897-8.
 220. Huss AM, Halbgebauer S, Ockl P, et al. Importance of cerebrospinal fluid analysis in the era of McDonald 2010 criteria: a German-Austrian retrospective multicenter study in patients with a clinically isolated syndrome. *J Neurol* 2016;263:2499-2504.

221. Kemanetzoglou E, Andreadou E. CNS Demyelination with TNF-alpha Blockers. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2017;17:36.
222. Tanno M, Nakamura I, Kobayashi S, et al. New-onset demyelination induced by infliximab therapy in two rheumatoid arthritis patients. *Clin Rheumatol* 2006;25:929-33.
223. Mohan N, Edwards ET, Cupps TR, et al. Demyelination occurring during anti-tumor necrosis factor alpha therapy for inflammatory arthritides. *Arthritis Rheum* 2001;44:2862-9.
224. Homolka J, Krejbich F, Holub J. [Tuberculosis cases in the Czech Republic in 2009]. *Cas Lek Cesk* 2011;150:330-3.
225. O'Connor P, Goodman A, Kappos L, et al. Long-term safety and effectiveness of natalizumab redosing and treatment in the STRATA MS Study. *Neurology* 2014;83:78-86.
226. Targan SR, Feagan BG, Fedorak RN, et al. Natalizumab for the treatment of active Crohn's disease: results of the ENCORE Trial. *Gastroenterology* 2007;132:1672-83.
227. Lichtenstein GR, Hanauer SB, Sandborn WJ. Risk of Biologic Therapy-Associated Progressive Multifocal Leukoencephalopathy: Use of the JC Virus Antibody Assay in the Treatment of Moderate-to-Severe Crohn's Disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y)* 2012;8:1-20.
228. Peyrin-Biroulet L, Christopher R, Behan D, et al. Modulation of sphingosine-1-phosphate in inflammatory bowel disease. *Autoimmun Rev* 2017;16:495-503.
229. Mrowietz U, Asadullah K. Dimethylfumarate for psoriasis: more than a dietary curiosity. *Trends Mol Med* 2005;11:43-8.
230. Spencer CM, Crabtree-Hartman EC, Lehmann-Horn K, et al. Reduction of CD8(+) T lymphocytes in multiple sclerosis patients treated with dimethyl fumarate. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2015;2:e76.
231. Ghoreschi K, Bruck J, Kellerer C, et al. Fumarates improve psoriasis and multiple sclerosis by inducing type II dendritic cells. *J Exp Med* 2011;208:2291-303.
232. Casili G, Cordaro M, Impellizzeri D, et al. Dimethyl Fumarate Reduces Inflammatory Responses in Experimental Colitis. *J Crohns Colitis* 2016;10:472-83.
233. Bar-Or A, Pachner A, Menguy-Vacheron F, et al. Teriflunomide and its mechanism of action in multiple sclerosis. *Drugs* 2014;74:659-74.
234. Sakuraba A, Annunziata ML, Cohen RD, et al. Mucosal healing is associated with improved long-term outcome of maintenance therapy with natalizumab in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2013;19:2577-83.

12 Dodatek disertační práce – seznam publikací autora práce

- **Publikace *in extenso*, které jsou podkladem dizertace s impact factorem**

ŠŤOVÍČEK J, LIŠKOVÁ P, LISÝ J, HLAVA Š, KEIL R: Crohn's disease: Is there a place for neurological screening?, *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 2014; 49: 173–176. **IF 1,85**

LIŠKOVÁ P, ŠŤOVÍČEK J, LISÝ J, HLAVA Š, ŠRÁMEK M., KEIL R: Neurological and MRI screening improves long term anti TNF- α treatment safety in patients with Crohn's disease: *Cesk Slov Neurol N* 2017; 80/113(1): 95-100. **IF 0,209**

- **Publikace *in extenso*, které jsou podkladem dizertace bez IF**

Přednášková sdělení

ŠŤOVÍČEK J, LIŠKOVÁ P, HLAVA Š A KEIL R: Asymptomatic white matter lesions in brain suspicious of demyelination in patients with crohn's disease. *United European Gastroenterology Journal* 2013 [online]. 1. 10., **1(1_suppl)**, A1–A134. ISSN 2050-6406. Dostupné z: doi:10.1177/2050640613502899

Posterová sdělení

ŠŤOVÍČEK J, LIŠKOVÁ P, KEIL R, HLAVA Š, HRDLIČKA L, ŠRÁMEK M: Neurologické nálezy u pacientů s Crohnovou chorobou – možný vliv anti-TNF α léčby, *Gastroent Hepatol* 2012; 66 (Suppl 2) – abstrakt

LIŠKOVÁ P, ŠŤOVÍČEK J, ŠRÁMEK M., KEIL R: Asymptomatic CNS white matter lesions suspicious of MS in patients with Crohn's disease, European Charcot foundation meeting, Marbella

LIŠKOVÁ P, ŠTOVÍČEK J , HLAVA Š, HRDLIČKA L, ŠRÁMEK M, KEIL R: Neurological status of patients with Crohn's disease at the beginning of anti TNF alpha treatment, Český a slovenský neurologický sjezd, Bratislava, 2009

LIŠKOVÁ P, ŠTOVÍČEK J, HLAVA Š , LISÝ J, ŠRÁMEK M, KEIL R: Neurologický a MRI screening pacientů s Crohnovou chorobou může zvýšit bezpečnost dlouhodobé terapie anti TNF- α , Český a slovenský neurologický sjezd, Praha, 2016

- **Publikace *in extenso*, které nejsou podkladem dizertace bez IF**

LIŠKOVÁ P, LIBERTÍNOVÁ J, MELUZÍNOVÁ E: Zkušenosti s terapií Alemtuzumabem v klinické praxi, Neurol. praxi 2016; 17(3): 128-132

LIŠKOVÁ P, MELUZÍNOVÁ E: Gravidita po čtyřech měsících od prvního podání alemtuzumabu, Acta medicae 2016;64-65