

**UNIVERZITA KARLOVA**

**2. lékařská fakulta**

Autoreferát disertační práce



**Metody biomedicínské informatiky při studiu  
zánětlivých střevních onemocnění u dětí**

**Methods of Biomedical Informatics in the study  
of Inflammatory Bowel Disease in children**

**MUDr. Ivana Čopová**

Praha, 2024

Disertační práce byla vypracována v rámci prezenčního studia doktorského studijního programu Biomedicínská informatika na Pediatrické klinice 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole.

Školitel: doc. MUDr. Ondřej Hradský, Ph.D., Pediatrická klinika 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole, V Úvalu 84, Praha 5, 150 06

Oponenti:

Obhajoba se bude konat před komisí pro obhajoby oborové rady Biomedicínská informatika dne ..... v ..... od ..... hodin.

Předsedou komise pro obhajobu disertační práce byl jmenován:

Předseda oborové rady a garant doktorského studijního programu: prof. MUDr. Štěpán Svačina, DrSc., MBA, III. Interní klinika 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze, U Nemocnice 1, Praha 2, 128 08

Děkan fakulty: prof. MUDr. Marek Babjuk, CSc.

Tato práce vznikla za podpory grantů: GAUK č. 136215 a GAUK č. 246216

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

## Abstrakt

Zánětlivá střevní onemocnění (IBD) představují skupinu chronických, polygenně podmíněných onemocnění postihujících primárně gastrointestinální trakt, jejichž incidence v dospělé i dětské populaci globálně narůstá. Mezi tyto nemoci řadíme Crohnovu nemoc (CD), ulcerózní kolitidu (UC) a tzv. neklasifikovatelné IBD (IBD-U). Fekální kalprotektin (FC) je markerem zánětu u IBD a jeho hladiny korelují s aktivitou onemocnění definovanou klinickými parametry, endoskopickým nálezem a histologií. Současná lékařská praxe je spojena s dostupností velkého množství klinických dat a snahou jejich efektivního uplatnění v procesu medicínského rozhodování takovým způsobem, aby bylo dosaženo maximální možné redukce rizika nepříznivého průběhu onemocnění a výskytu s onemocněním a/nebo léčbou asociovaných komplikací.

Primárním cílem disertační práce je využití metod biomedicínské informatiky v oblasti pediatrických IBD v procesu ověření FC v predikci aktivity onemocnění a odpovědi na léčbu, hledání dalších potencionálních prediktivních faktorů a tvorbu predikčních modelů pro konkrétní klinické situace.

Zjistili jsme, že na základě vývoje hladin FC v časné fazi indukční léčby pomocí výhradní enterální výživy nelze rozhodovat o dalším vedení terapie. Ověřením domácího testu na stanovení koncentrace FC ve stolici jsme poukázali na jeho možné benefity pro urychlení procesu rozhodování, nicméně s nutností confirmace výsledku klasickými laboratorními metodami. Definováním vyváženého cut-off metabolitů azathioprinu k předpovědi dosažení efektivních hladin infliximabu jsme získali vhodný nástroj pro optimalizaci kombinované terapie u pacientů s CD. Srovnáním dvou preparátů první linie biologické léčby jsme upozornili na potřebu zohlednění nalezených rizikových faktorů při volbě terapie. Zjistili jsme, že indukční léčba nehraje zásadní roli v délce trvání remise onemocnění u pacientů s nekomplikovanou CD současně užívajících azathioprin. Zdůvodnili jsme vhodnost suplementace vitamínu D u dětských pacientů s IBD a poukázali na možnost redukce dříve indikovaných vyšetření u asymptomatických jedinců.

Nové poznatky vyplývající z realizovaných studií s sebou přináší možnost exaktnějšího a individuálně zaměřeného přístupu v procesu klinického rozhodování.

**Klíčová slova:** fekální kalprotektin, predikce, zánětlivá střevní onemocnění

## **Abstract**

Inflammatory bowel diseases (IBD) are a group of chronic, polygenic diseases primarily affecting the gastrointestinal tract, with an increasing incidence in both adult and paediatric populations globally. These diseases include Crohn's disease (CD), ulcerative colitis (UC) and so-called IBD unclassified (IBD-U). Fecal calprotectin (FC) is a marker of inflammation in IBD and its levels correlate with disease activity as defined by clinical parameters, endoscopic findings and histology. Current medical practice is associated with the availability of a large amount of clinical data and the desire to apply it effectively in the medical decision-making process in such a way as to achieve the maximum possible reduction in the risk of adverse disease course and the occurrence of disease- and/or treatment-associated complications.

The primary goal of this dissertation is to apply biomedical informatics methods to paediatric IBD in the process of validating FC in predicting disease activity and response to treatment, searching for additional potential predictive factors, and developing prediction models for specific clinical situations.

We found that the development of FC levels in the early phase of induction therapy with exclusive enteral nutrition cannot be used as a basis for further management. By validating a home test for the determination of FC concentration in stool, we pointed out its potential benefits for speeding up the decision-making process, however, with the need to confirm the result by conventional laboratory methods. By defining a balanced cut-off of azathioprine metabolites to predict the achievement of effective infliximab levels, we obtained a suitable tool for optimizing combination therapy in CD patients. By comparing two first-line biologic therapy agents, we highlighted the need to consider the identified risk factors in the choice of therapy. We found that induction therapy does not play a major role in the duration of disease remission in patients with uncomplicated CD concomitantly taking azathioprine. We justified the appropriateness of vitamin D supplementation in paediatric patients with IBD and highlighted the possibility of reducing previously indicated testing in asymptomatic individuals.

The new findings from the conducted studies bring with them the possibility of a more exact and individualized approach in the clinical decision-making process.

**Key words:** faecal calprotectin, prediction, inflammatory bowel disease

## Obsah

<b>1.</b>	<b>Úvod do problematiky</b>	<b>6</b>
1.1.	Rozhodování v medicíně	6
1.2.	Prediktivní modelování	6
1.3.	Zánětlivá střevní onemocnění	7
1.4.	Fekální kalprotektin	9
<b>2.</b>	<b>Hypotézy a cíle disertační práce</b>	<b>10</b>
<b>3.</b>	<b>Materiál a metodika</b>	<b>11</b>
<b>4.</b>	<b>Výsledky</b>	<b>13</b>
4.1.	Fekální kalprotektin jako prediktivní faktor	13
4.2.	Prediktivní faktory rizika selhání zvoleného terapeutického postupu	15
4.3.	Prediktivní faktory rozvoje nežádoucích účinků zvoleného terapeutického postupu	19
4.4.	Prediktivní faktory extraintestinálních komplikací u dětských pacientů se zánětlivými střevními onemocněními	21
4.5.	Prediktivní faktory postvakcinační odpovědi v kohortě adolescentů se zánětlivým střevním onemocněním očkovaných proti těžkému akutnímu respiračnímu syndromu vyvolaného koronavirem 2	23
<b>5.</b>	<b>Diskuze</b>	<b>24</b>
5.1.	Fekální kalprotektin jako prediktivní faktor	24
5.2.	Prediktivní faktory ve vztahu k léčbě dětských pacientů se zánětlivými střevními onemocněními	25
5.3.	Prediktivní faktory ve vztahu k rozvoji nežádoucích účinků zvoleného terapeutického postupu u dětských pacientů se zánětlivými střevními onemocněními	28
5.4.	Prediktivní faktory extraintestinálních komplikací u dětských pacientů se zánětlivými střevními onemocněními	29
5.5.	Prediktivní faktory postvakcinační odpovědi v kohortě adolescentů se zánětlivým střevním onemocněním	30
<b>6.</b>	<b>Závěr</b>	<b>31</b>
<b>7.</b>	<b>Souhrn</b>	<b>33</b>
<b>8.</b>	<b>Reference</b>	<b>35</b>

# 1. Úvod do problematiky

## 1.1. Rozhodování v medicíně

Součástí klinického rozhodování je jednak co nejlépe předpovědět prognózu konkrétního pacienta charakterizovaného mnohými dalšími faktory než jen samotným onemocněním a dále určit, který z diagnostických nebo terapeutických přístupů by tomuto konkrétnímu pacientovi přinesl největší prospěch. Z tohoto důvodu je snahou identifikovat specifické znaky pro jednotlivé klinické situace, které by umožnily standardizaci rutinního rozhodovacího procesu v okamžiku, kdy je možné ovlivnit budoucí výsledek. Cílem tohoto přístupu je naplňování principů precizní medicíny umožňující minimalizaci rizika nepříznivého průběhu onemocnění a rozvoji s onemocněním a/nebo léčbou asociovaných komplikací na úrovni konkrétního pacienta. Všechny původní práce sdělení spojuje primární záměr přispět ke zlepšení péče o dětské pacienty se zánětlivými střevními onemocněními díky nově identifikovaným možnostem predikce konkrétního klinického jevu za využití metod biomedicínské informatiky.

## 1.2. Prediktivní modelování

Prediktivní modelování slouží k vytvoření nástroje k předpovědi buď konkrétní číselné hodnoty určité veličiny, nebo k odhadu, zda dojde nebo nedojde k určité události. K vytvoření predikčního modelu lze použít různé metody, které lze obecně rozdělit do dvou kategorií: matematické/ statistické modelování a počítačové modelování s využitím metod strojového učení.

Collins et al. vytvořil doporučení pro tvorbu klinických predikčních modelů – TRIPOD (Transparent reporting of a multivariable prediction model for individual prognosis or diagnosis)<sup>1</sup>. Navíc Steyerberg v roce 2019 aktualizoval svoji práci popisující tzv. sedm kroků modelování<sup>2</sup>. Ideální studie s cílem tvorby predikčního modelu by dle jeho doporučení měla dodržet následující pravidla: výběr správného designu studie, určení potřebné velikosti souboru, při tvorbě modelu pak vhodnou transformaci proměnných, vhodný způsob, jak se vypořádat s neúplnými údaji, a především správný výběr prediktorů. V rámci samotného modelování neopomenout hodnocení funkčnosti modelu a jeho

validace. Vnitřní validace modelu se pak vypořádává s problémem přesycení modelu a zevní s otázkou zobecnitelnosti modelu.

Steyerberg definoval oblast veřejného zdraví, klinickou praxi a lékařský výzkum jako tři hlavní aplikační odvětví pro klinické predikční modely. Pro využití v klinické praxi máme několik možností: (I) rozhodnout, zda potřebujeme další testování, na základě predikce pravděpodobnosti základního onemocnění (např. poskytnout invazivní a nákladný test pacientům s vysokým rizikem rozvoje onemocnění, abychom snížili zbytečné poškození; (II) rozhodnout, zda potřebujeme zahájit léčbu/použít intenzivnější léčbu/provést nákladovou efektivitu léčby/odložit léčbu pomocí rozhodovací analýzy (např. léčbu zahájíme po diagnostickém zpracování, pokud je pravděpodobnost diagnózy vyšší než léčebný práh (pravděpodobnost, kdy se očekávaný přínos léčby rovná očekávanému přínosu vyhnutí se léčbě)); (III) rozhodnout, zda potřebujeme operaci, vyvážením krátkodobých rizik (např. 30denní mortalita) a dlouhodobých rizik (např. dlouhodobého přežití) <sup>3</sup>.

### 1.3. Zánětlivá střevní onemocnění

Zánětlivá střevní onemocnění (Inflammatory bowel disease, IBD) představují skupinu chronických, polygenně podmíněných onemocnění postihujících primárně gastrointestinální trakt. Mezi tyto nemoci řadíme Crohnovu nemoc (Crohn's disease, CD), ulcerózní kolitidu (Ulcerative colitis, UC) a tzv. neklasifikovatelné IBD (IBD unclassified, IBD-U) <sup>4</sup>. Nicméně klasifikace IBD je složitá a vyznačuje se mnoha vzácnými fenotypy, které jsou atypické nebo neobvyklé. Vyžaduje rozpoznání typických znaků CD a UC, identifikaci atypických fenotypů, které jsou stále v souladu s diagnózou CD nebo UC, a znalost těch faktorů, které vylučují diagnózu jednoho nebo druhého <sup>5</sup>. Stále aktuálnějším tématem je klasifikace onemocnění ve vztahu k odpovědi na zvolenou terapii <sup>5</sup>.

Příznaky IBD souvisí především s chronicky probíhajícím zánětlivým postižením gastrointestinálního traktu <sup>6-8</sup>. Krvavý průjem je nejčastějším příznakem UC, zatímco CD se může projevovat neurčitou bolestí břicha, průjmem, nevysvětlitelnou anémií, horečkou, ztrátou hmotnosti nebo zpomalením růstu. Klasická „triáda“ bolesti břicha, průjmu a hubnutí se vyskytuje pouze u 25% pacientů s CD <sup>9</sup>. Extraintestinální projevy, mezi které patří např. artritida, kožní projevy (erythema nodosum, pyoderma gangrenosum) nebo uveitida, se mohou projevit při diagnóze u 6 % až 23 % dětí s vyšší frekvencí u dětí starších 6 let <sup>7,10,11</sup>.

Etiologie IBD nebyla dosud spolehlivě popsána. Na rozvoji imunitně podmíněného střevního

zánětu se s velkou pravděpodobností podílí kombinace více faktorů u geneticky disponovaného jedince, proto mluvíme o polygenně podmíněných multifaktoriálních onemocněních. Je zřejmé, že zde zásadní význam hrají faktory zevního prostředí<sup>12,13</sup>. Existují také vzácně se vyskytující monogenně podmíněné typy IBD, kde je fenotyp onemocnění definován konkrétním genetickým defektem a zevní prostředí nehraje prakticky žádnou roli<sup>14-16</sup>.

Výskyt IBD je charakterizován významnou geografickou rozdílností<sup>17-19</sup>. Nicméně, tyto rozdíly se s narůstající industrializací v oblastech s rychlým socio-ekonomickým rozvojem postupně zmenšují<sup>17,18,20</sup>. Počet pacientů s diagnózou IBD v zemích „západního světa“ se nestabilizoval a i nadále narůstá<sup>19-22</sup>. Odhaduje se, že v Evropské unii je IBD postiženo 1,3 milionu obyvatel, a předpokládá se, že do roku 2030 bude prevalence dosahovat 1 %<sup>17,21</sup>. Celkový trend incidencí CD i UC u dětí je nepříznivý a poukazuje na nárůst počtu dětských IBD (v roce 2022 byla v západní Evropě uváděna incidence v rozmezí 5,4-17,4 / 100 000 s odhadovanou prevalencí 58,9-66,3 / 100 000)<sup>23</sup>. V České republice je incidence následující: CD 5,2-6,2 / 100 000 a UC 2,8-3,4 / 100 000<sup>24</sup>.

Diagnóza IBD v dětském věku je dle současných doporučení mezinárodních společností stanovena až po provedení endoskopického vyšetření gastrointestinálního traktu – ezofagogastroduodenoskopie a totální koloskopie do terminálního ilea s histologickým vyšetřením bioptických vzorků ze všech vizualizovaných etáží a zobrazení tenkého střeva (nejčastěji magnetickou rezonanční enterografií, MRE) a jejich zhodnocení podle tzv. Portsých kritérií, jež byly aktualizovány<sup>4,25</sup>.

Identifikace terapeutického cíle je jedním z nejdůležitějších kroků v rámci péče o pacienty s IBD. Pro klinickou praxi byl na základě systematického prohledání dostupné literatury a názorů odborníků navržen tzv. „Treat-to-Target“ koncept s definicí optimálních léčebných cílů. Záměrem tohoto přístupu je selektovat pacienty z pohledu co nejpřesnější predikce nekomplikovaného průběhu onemocnění<sup>26</sup>. V tomto ohledu pak sehrávají důležitou roli informace o rozsahu a chování onemocnění, věku pacienta, přítomnosti poruchy růstu, výskytu možných nežádoucích účinků souvisejících s léčbou a kvalitě života pacienta<sup>27</sup>. Terapeutické přístupy jsou v současnosti mnohem promptnější než v minulých dekádách, což znamená, že pacienti jsou již v počátečních stádiích nemoci (především u CD) stále častěji léčeni intenzivní terapií. I přesto je v léčbě pacientů s nově diagnostikovanou nekomplikovanou formou CD doporučena indukce remise pomocí speciální diety<sup>27,28</sup>. V případě intolerance nebo nedostatečného efektu dietních opatření je možné v rámci indukce remise přistoupit k podání kortikosteroidů nebo zvolit kombinovanou antibiotickou terapii<sup>29</sup>. Současně s indukční léčbou se doporučuje zahájení udržovací terapie s použitím thiopurinů nebo



methotrexátu<sup>30-32</sup>. V případě jedinců s rizikem komplikovaného průběhu je indikována eskalace terapie ihned v úvodu s použitím preparátů biologické léčby, a to primárně protilátky proti tumor-nekrotizujícímu faktoru alfa (aTNF) infliximabu (IFX) nebo adalimumabu (ADA)<sup>27</sup>. U části pacientů s lokalizovanou formou CD s přítomností striktury v ileocékální oblasti je zde možnost chirurgické léčby, a to provedení ileocékální resekce<sup>27</sup>. V léčbě UC má zásadní význam objektivní hodnocení intenzity onemocnění. U dětských pacientů je využíván klinický index aktivity onemocnění PUCAI, který těsně koreluje s endoskopickou aktivitou kolitidy<sup>33,34</sup>. Podle definitivního skóre se volí terapeutický postup – u mírné až středně aktivního onemocnění lze zahájit monoterapii 5-aminosalicyláty (5ASA); od středně závažných UC by se mělo zvážit podání systémových kortikoidů. U pacientů s trvajícím aktivitou onemocnění nebo s opakovanými relapsy se doporučuje do terapie přidat thiopuriny. Preparáty biologické léčby jsou volbou pro jedince s kortikodependentní nebo chronicky aktivní formou onemocnění. V případě život ohrožující akutní těžké kolitidy se řídíme přesně definovaným postupem<sup>35</sup>.

Jednotlivé preparáty biologické léčby se liší charakterem i mírou rizika rozvoje nežádoucích účinků. U aTNF je nejčastějším projevem kožní léze psoriasiformního, méně frekventně atopického charakteru<sup>36</sup>. Mezi nejčastější negativní projevy léčby thiopuriny patří gastrointestinální symptomatika intolerance, reakce alergického typu, myalgie a artralgie, suprese kostní dřeně a rozvoj akutní pankreatitidy<sup>37,38</sup>. Nejobávanějším, i když vzácným, rizikem je rozvoj některých maligních diagnóz<sup>39</sup>.

#### **1.4. Fekální kalprotektin**

Fekální kalprotektin (FC) je markerem zánětu pro sledování pacientů s IBD. Jak u dospělých, tak u dětí se ukázalo, že hladiny FC korelují s aktivitou onemocnění definovanou klinickými parametry, endoskopickým nálezem a histologií<sup>40-44</sup>. FC je i dle aktuálních doporučení považován za vhodný marker pro monitoraci remise i relapsu IBD<sup>26</sup>. Jeho velká variabilita však přináší mnohá úskalí. Na ní se mohou podílet rozdíly v pre-analytické (odběr) i analytické fázi zpracování vzorků (metodika extrakce, odlišné testovací soupravy, apod.). Limitací FC je i definice referenčních hodnot vzhledem k výrazným rozdílům v pediatrickém věkovém rozmezí a vliv individuálních faktorů, včetně jednotlivých modalit léčby<sup>45-48</sup>. Ve všech těchto oblastech je třeba ještě mnoho objasnit.

## **2. Hypotézy a cíle disertační práce**

Lékařské rozhodování vyžaduje aplikaci a integraci pravděpodobnostního (tj. odhad statistických asociací mezi klinickými proměnnými), kauzálního (tj. fyziologická příčina a následek mezi klinickými proměnnými) a deterministického uvažování, při němž jsou strategie sestaveny do dobře definovaných pravidel.

Všechny původní práce disertace spojuje primární záměr přispět ke zlepšení péče o dětské pacienty s IBD díky nově identifikovaným možnostem predikce konkrétního klinického jevu za využití metod biomedicínské informatiky. Soustředili jsme se především na ověření FC v predikci aktivity onemocnění a odpovědi na léčbu. Dále také na hledání dalších potencionálních prediktivních faktorů a tvorbu predikčních modelů pro konkrétní klinické situace u dětí s IBD.

### 3. Materiál a metodika

Do dizertační práce je zařazeno třináct původních prací, dvě v retrospektivním designu <sup>49,50</sup>, zbytek prospektivních <sup>30,51–59</sup>, zabývajících se problematikou predikce aktivity onemocnění, předpovědi udržitelnosti a na druhé straně selhání zvoleného terapeutického přístupu; rizikovými faktory rozvoje nežádoucích účinků konkrétních léčebných modalit a predikcí výskytu extraintestinálních komplikací onemocnění.

Zdrojem dat pro retrospektivní studie byla lékařská dokumentace reprezentovaná elektronickým zdravotním záznamem (EZZ). Základním problémem stávající EZZ je omezená schopnost zpětného použití. Objemná data získána při odběru anamnézy či v nemocničním provozu nejsou rutinně systematicky zaznamenávána, kategorizována ani následně statisticky zpracována. Aktuálně využívané informační systémy zdravotnických zařízení nejsou navrženy k implementaci modulů pro konkrétní diagnózy a integraci vědomostních modulů. Další nevýhodou v souvislosti s retrospektivním přístupem je riziko zkreslení a v případě velkých datových souborů časová náročnost.

V prospektivním designu byla provedena většina zde uvedených prací, pro které byly vytvářeny datové soubory většinou prostřednictvím standardizovaného formátu Microsoft Excel <sup>57,58,60–66</sup>. Jedna ze studií pracovala s daty uloženými cestou zabezpečené webové aplikace pro vytváření a správu online databází REDCap (Research Electronic Data Capture) <sup>56</sup>. Důležitým zdrojem dat pro jednu ze studií byl prospektivní národní registr IBD pacientů léčených preparáty biologické terapie (CREdIT) <sup>59</sup>. Projekt vznikl z iniciativy České gastroenterologické společnosti České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně. Naše centrum přispívá daty do pediatrického ramene registru a účastní se jejich statistického vyhodnocení v rámci společných vědecko-výzkumných projektů <sup>59</sup>. Dlouhodobé prospektivní, optimálně multicentrické registry jsou v současnosti považovány za nejvhodnější způsob získávání dat pro identifikaci a studium potenciačních prediktivních faktorů. Všechny uvedené práce byly realizované na Pediatrické klinice 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Motol a data byla získána od dětských pacientů s diagnózou IBD.

Studie zabývající se postvaccinačním a imunizačním profilem u dětských pacientů s IBD očkovaných proti těžkému akutnímu respiračnímu syndromu vyvolaného koronavirem 2 (SARS-CoV-2) byla realizována ve spolupráci s Ústavem imunologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Motol <sup>57</sup>. Dvě práce zaměřené na studium svalově-kostní jednotky u dětských

pacientů s IBD byly uskutečněny společně s endokrinologickou skupinou a ambulancí klinické antropologie Pediatrické kliniky 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Motol<sup>52,55</sup>. Spolupracovníci z Ústavu lékařské mikrobiologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Motol stanovovali serologický profil EBV (virus Epstein-Barrové) a jeho nálož pomocí PCR (polymerase chain reaction; polymerázová řetězová reakce) pro potřeby studie zabývající se prevalencí EBV v pediatrické populaci pacientů s IBD léčených imunomodulátory<sup>50</sup>. Výrobce a distributor testu vyvinutého pro kvantitativní stanovení hladiny FC v domácím prostředí (IBDoc, Buhlmann) dodával v rámci grantového projektu pro účely studie komerční experimentální sety<sup>65</sup>. Stanovení hladin metabolitů azathioprinu (AZA) v rámci studie zabývající se predikcí úspěšnosti kombinované terapie aTNF a AZA u dětských pacientů s CD probíhalo v Laboratoři růstových regulátorů Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci<sup>58</sup>. Ve spolupráci s Fakultou aplikovaných věd Západočeské Univerzity v Plzni jsme tvořili databázi pro prospektivní pseudonymizovaný systematický sběr a kategorizaci klinických, laboratorních a dalších údajů o pacientech s IBD. Protože se nám nakonec nepodařilo získat svolení vedení nemocnice, nebylo možno ji implementovat a naplnit tak další cíle s rozšířením vlastností a funkcí databáze o kontrolu úplnosti dat a jejich statistické zpracování s možností vytváření predikčních modelů pro široké spektrum klinických situací.

Statistické zpracování dat probíhalo ve vývojovém prostředí R, které poskytuje širokou škálu statistických a grafických technik, včetně lineárního a nelineárního modelování, klasických statistických testů, analýzy časových řad, shlukování a dalších. R je snadno rozšiřitelný pomocí balíčků (packages) vytvořených samotnými uživateli obsahující konkrétní funkce a také pro možnost využití lexikálních pravidel. Navíc má silnější objektově orientované programování než většina ostatních statistických programovacích jazyků. Další pozitivní stránkou R je statická grafika umožňující generování grafů vhodných do vědeckých publikací. Dynamická a interaktivní grafika je dostupná prostřednictvím dalších balíčků.

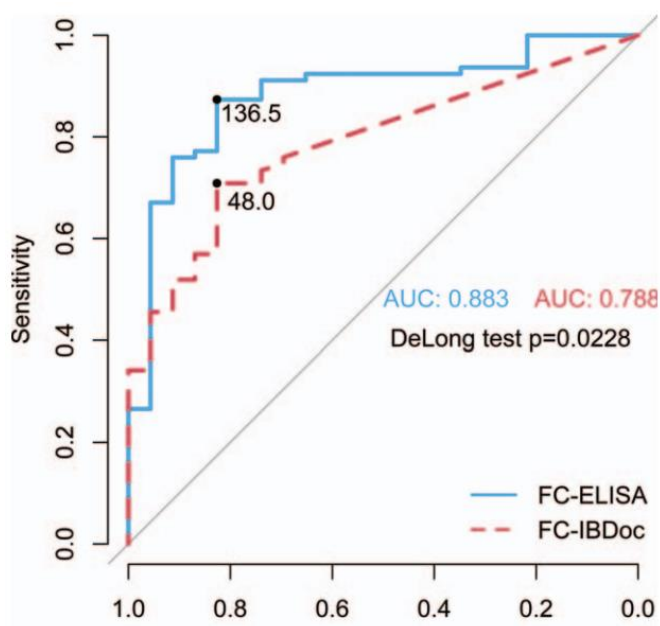
V rámci našich prací byly použity následující metody statistické analýzy: v případě sledování pacientů v průběhu času jsme aplikovali na data survival analýzy a Cox regrese; v souvislosti s opakovaným měřením jednoho pacienta jsme použili mix model; pro kategorické výsledky zobecněný lineární smíšený model a pro lineární výsledky lineární smíšený model; v rámci některých studií bylo možné na základě klinického výběru prediktorů zkonstruovat konečný predikční model a když to bylo vhodné přidali jsme do modelu efekty interakce; k vyhodnocení prediktorů udržitelnosti léčby byly aplikovány Coxovy modely se smíšenými efekty a analýzy propensity skóre.

## 4. Výsledky

### 4.1. Fekální kalprotektin jako prediktivní faktor

#### 4.1.1. Fekální kalprotektin jako prediktivní faktor endoskopické aktivity onemocnění

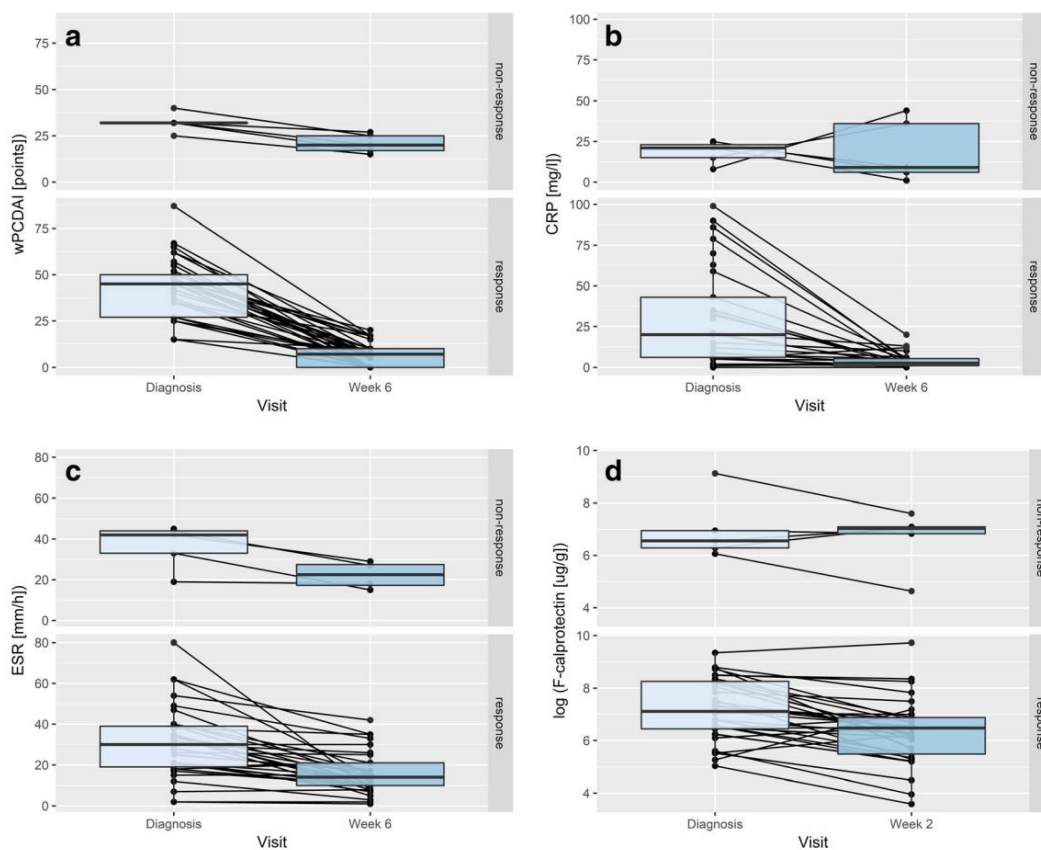
Cílem prospektivní observační studie bylo srovnat domácí test k detekci hladin FC se standardní laboratorní metodou ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) v určení endoskopické aktivity onemocnění. Právě endoskopická aktivita zánětu přesně definovaná použitím endoskopických skórovacích systémů byla zvolena za referenční standard, ke kterému se vztahovalo srovnání dvou různých metod ke stanovení koncentrace FC ve stolici pacientů s IBD. Studie měla přinést informaci o možnostech bezpečného a efektivního využití nové rychlejší metody pro testování u lůžka nebo pro „samotestování“ pacientů s IBD v rámci tzv. self-monitoringu onemocnění a přispět tak k dřívější detekci narůstající aktivity zánětu s následným časnějším klinickým řešením. U obou použitých metod byla nalezena statisticky významná asociace s makroskopickou aktivitou střevního zánětu. Standardní metoda ELISA přinesla při srovnání obou testů signifikantně spolehlivější výsledky hladin FC v predikci slizničního hojení (obrázek 1). Na základě výsledků práce je domácí test možné použít k orientačnímu měření FC, např. v rámci výše popsaného self-monitoringu, neměl by ale nahradit rutinní měření FC standardními laboratorními metodami <sup>65</sup>.



Obrázek 1. Porovnání přesnosti predikce slizničního hojení mezi hladinami fekálního kalprotektinu získanými standardní laboratorní metodou ELISA (FC-ELISA) a testem pro domácí použití

#### 4.1.2. Fekální kalprotektin jako prediktivní faktor trvalého efektu zvoleného léčebného postupu

Výhradní enterální výživa je dle aktuálních mezinárodních doporučení terapií volby v indukční léčbě dětí s nově stanovenou diagnózou CD <sup>27</sup>. Nicméně, část pacientů nedosáhne remise CD ani po 6-8 týdnech léčby pomocí výhradní enterální výživy (EEN) <sup>27</sup>. Z klinického pohledu by byla výhodná časná identifikace „nonrespondérů“ spojená s úpravou terapie. Práce se zaměřuje na možnost využití FC k předpovědi trvalého efektu konkrétního léčebného postupu v kohortě dětských pacientů s nově diagnostikovanou CD, u kterých byla zahájena indukce remise pomocí EEN. Studie neprokázala, že by změna hladiny FC mezi počátkem léčby (týden 0) a druhým týdnem mohla vést k predikci dosažení remise onemocnění v šestém týdnu terapie EEN. Vývoj jednotlivých parametrů aktivity onemocnění v čase je znázorněn na obrázku 6. Výsledky práce ukazují, že FC není vhodným markerem k časné detekci pacientů, kteří nedosáhnou remise onemocnění při indukční léčbě EEN <sup>62</sup>.

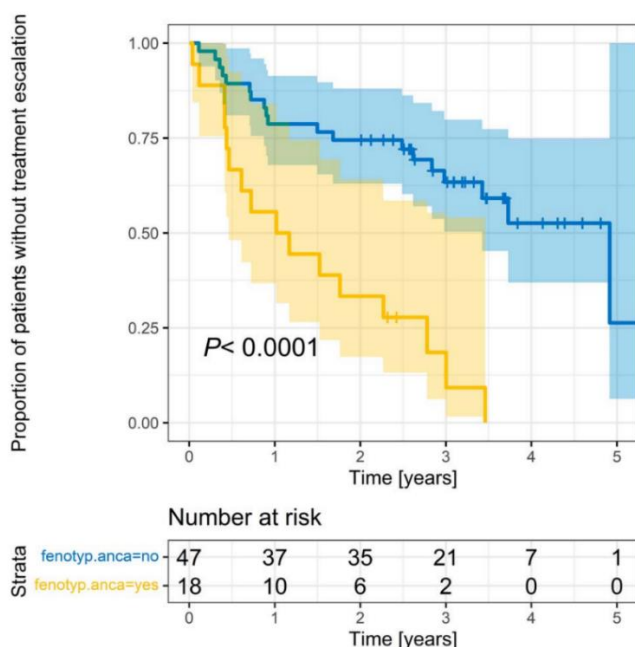


Obrázek 2. Vývoj parametrů aktivity zánětu v průběhu indukce remise výlučnou enterální výživou (týden 0 až 6).

## 4.2. Prediktivní faktory rizika selhání zvoleného terapeutického postupu

### 4.2.1. Prediktivní faktory eskalace aTNF terapie u dětských pacientů s Crohnovou nemocí

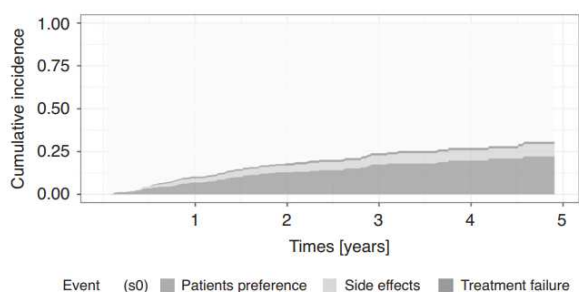
Cílem prospektivní observační studie bylo srovnání dvou preparátů aTNF (ADA a IFX) v terapii dětských pacientů s CD naivních k biologické léčbě pomocí propensity-skóre analýzy a pátrání po potenciálních prediktorech nutnosti eskalace terapie. Subanalýzou celé studované kohorty ani srovnáním použitím propensity-skóre nebyl nalezen rozdíl v celkovém čase do nutnosti eskalace terapie mezi pacienty léčenými ADA nebo IFX, a to ani po adjustaci s ohledem na současné užívání preparátu ze skupiny imunomodulátorů. Nicméně, pokud existuje menší rozdíl v efektivitě nemuselo se jej podařit nalézt z důvodu menšího počtu pacientů zařazených do studie. Pomocí regresní analýzy byla identifikována kombinace serologických markerů - seropozitivita pANCA (anti-neutrophil cytoplasmic antibody; protilátky proti cytoplasmě neutrofilů) a seronegativita ASCA (anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibody; protilátky proti *Saccharomyces cerevisiae*) – jako jediný a silný nezávislý prediktor v předpovědi nutnosti eskalace terapie aTNF (obrázek 3). Další sledované parametry, včetně fenotypu onemocnění, konkomitativní imunomodulační léčby a/nebo typu aTNF preparátu, neměly vliv na sílu predikce po přidání do modelu <sup>56</sup>.



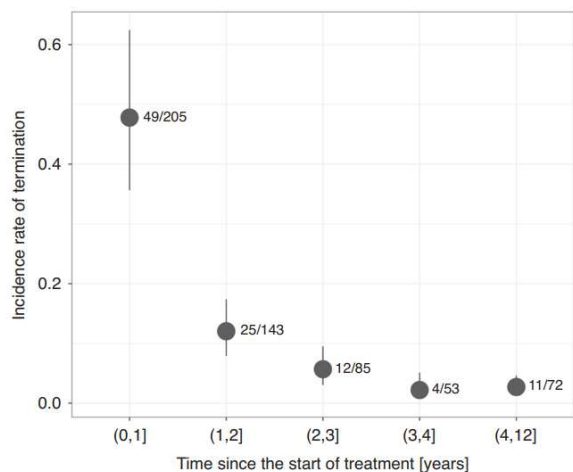
Obrázek 3. Doba do úpravy dávky a intervalu v celé studijní skupině (souhrnné údaje, N = 75) stratifikované podle složeného prediktoru (kombinace ASCA negativity a pANCA pozitivity [fenotyp ANCA = ano] vs kombinace ASCA pozitivity a pANCA negativity [fenotyp ANCA = ne]).

#### 4.2.2. Prediktivní faktory udržitelnosti biologické léčby u dětských pacientů s Crohnovou nemocí

Byla provedena analýza dětského ramene prospektivního národního registru IBD pacientů léčených preparáty biologické terapie (CREdIT). Studie byla zaměřena na hledání potencionálních prediktorů udržitelnosti biologické léčby u dětských pacientů s CD. Výstup byl definován ukončením terapie, jelikož léčba biologickými preparáty není v dětském věku úmyslně přerušována, lze toto považovat za selhání nebo intoleranci terapie (obrázek 4 a 5). Asociace doby do vysazení biologické léčby a potencionálním prediktorem byla testována pomocí Coxova regresního modelu se smíšeným efektem. Ve studii se podařilo identifikovat následující prediktory udržitelnosti biologické léčby u dětí s CD: terapie ADA (verzus IFX), časný zahájení biologické léčby a normální výchozí hladina hemoglobinu. Terapie IFX byla spojena s dřívější potřebou intenzifikace léčby, vyšší expozicí léku a častějším současným podáváním imunomodulátoru. Práce přináší informace o výhodách a nevýhodách jednotlivých preparátů biologické léčby, zejména ze skupiny aTNF. Pacienti a jejich zákonní zástupci by měli být během rozhodovacího procesu plně oboznámeni s vlastnostmi jednotlivých léčebných modalit a také o důležitosti časného zahájení biologické léčby<sup>59</sup>.



Obrázek 4. Kumulativní výskyt ukončení léčby s odpovídajícími důvody.

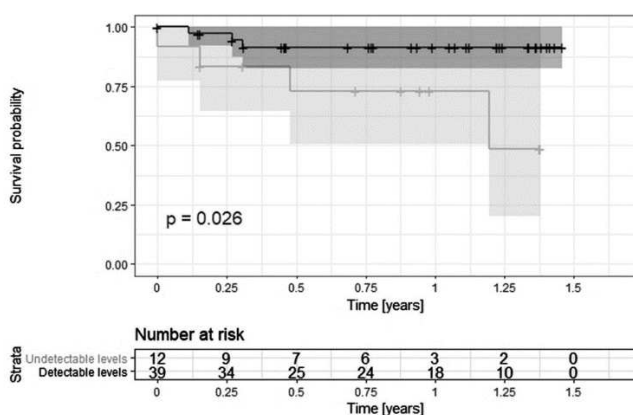


Obrázek 5. Výskyt ukončení léčby v závislosti na době od jejího zahájení.



#### 4.2.3. Prediktivní faktory efektu kombinované léčby imunomodulátorem a preparátem aTNF u dětských pacientů s Crohnovou nemocí

Výstupem multicentrické prospektivní observační studie bylo posouzení přínosu monitorace hladin metabolitů AZA u pacientů na kombinované terapii (AZA a aTNF). Na základě výsledků lze říci, že dostatečné hladiny 6-thioguanin nukleotidu (6-TGN) v erytrocytu jsou asociovány se sérovými hladinami aTNF. U pacientů s nedetekovatelnými hladinami 6-TGN byla nalezena vyšší míra ztráty odpovědi k aTNF (obrázek 6). Práce přináší důležitý poznatek o možnostech optimalizace terapie u pacientů s CD léčených kombinací AZA a aTNF <sup>58</sup>.

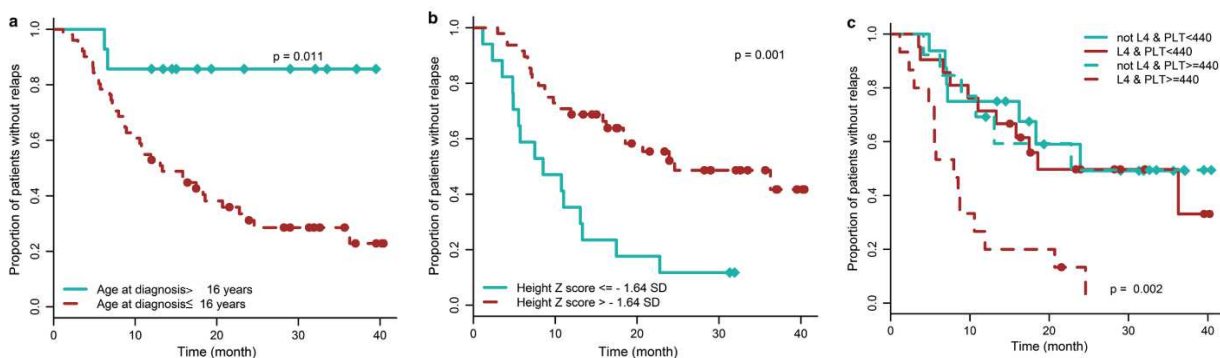


Obrázek 6. Křivka přežití ukazující riziko ztráty odpovědi k infliximabu v závislosti na hladinách 6-thioguanin nukleotidu.

#### 4.2.4. Prediktivní faktory selhání terapie azathioprinem u dětských pacientů s nově diagnostikovanou Crohnovou chorobou léčených kortikosteroidy nebo výhradní enterální výživou

Jak již bylo popsáno, EEN je dle současných doporučení nejvhodnější indukční léčbou dětí s nově diagnostikovanou nekomplikovanou formou CD. Na našem pracovišti jsme postupně u dané skupiny pacientů přecházeli z indukce remise onemocnění kortikosteroidy na léčbu pomocí EEN. Následně jsme ve studii případů a kontrol srovnávali délku trvání remise zmíněných dvou terapeutických přístupů u pacientů s diagnózou IBD současně léčených AZA a hledali prediktory selhání léčby. Oproti výsledkům předchozích prací nebyl v naší IBD kohortě nalezen rozdíl mezi případy a kontrolami. Nicméně v těchto studiích nebyla u pacientů podávána konkomitantní terapie thiopuriny. Je možné předpokládat, že indukční léčba nehraje zásadní roli v délce trvání remise onemocnění u pacientů současně užívajících AZA. Podařilo se nám identifikovat potenciální

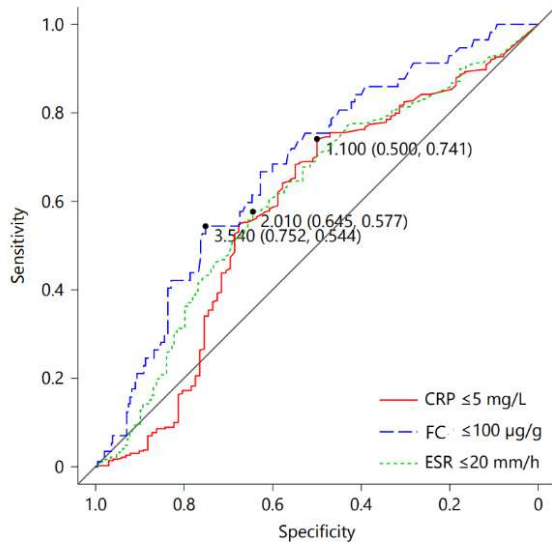
prediktory selhání terapie AZA: nízký věk v době diagnózy, postižení horního gastrointestinálního traktu, zvýšený počet trombocytů v době dosažení remise a růstová retardace v době diagnózy IBD (obrázek 7). Vzhledem k nedostatečné síle jednotlivých prediktorů, nebylo možné vytvořit predikční model k selekci pacientů již v době stanovení diagnózy<sup>66</sup>.



Obrázek 7. Kaplanovy-Meierovy křivky přežití bez relapsu pro nezávislé prediktivní faktory: a) věk v době stanovení diagnózy; b) Z-skóre výšky při diagnóze; c) postižení horního gastrointestinálního a zvýšený počet krevních destiček v době remise.

#### 4.2.5. Prediktivní faktory selhání terapie infliximabem u dětských pacientů s Crohnovou nemocí

Cílem práce bylo na dětské skupině s CD ověřit hypotézu vycházející ze studií u dospělých pacientů s IBD léčených IFX, zda je možné na základě monitorace farmakokinetického/ dynamického profilu IFX (hladina IFX a protilátky proti IFX (ATIs)) předpovědět selhání terapie a identifikovat další potencionální prediktory<sup>67</sup>. U pacientů s významnější aktivitou onemocnění definovanou pomocí zánětlivých markerů (C-reaktivní protein (CRP), FC) byly detekovány nižší hladiny IFX. Neoptimalnější kombinací senzitivity a specificity pro určení remise (definované jako CRP pod 5 mg/l) na základě hladin IFX byla hodnota 1,1  $\mu\text{g/ml}$  (obrázek 8). Na rozdíl od předchozích studií jsme neprokázali, že by průkaz přítomnosti ATIs a jejich kvantifikace přinášely klinicky významnou informaci<sup>54</sup>.



Obrázek 8. ROC křivky pro určení remise onemocnění (definované pomocí zánětlivých markerů – CRP, FC, ESR) na základě hladin infliximabu.

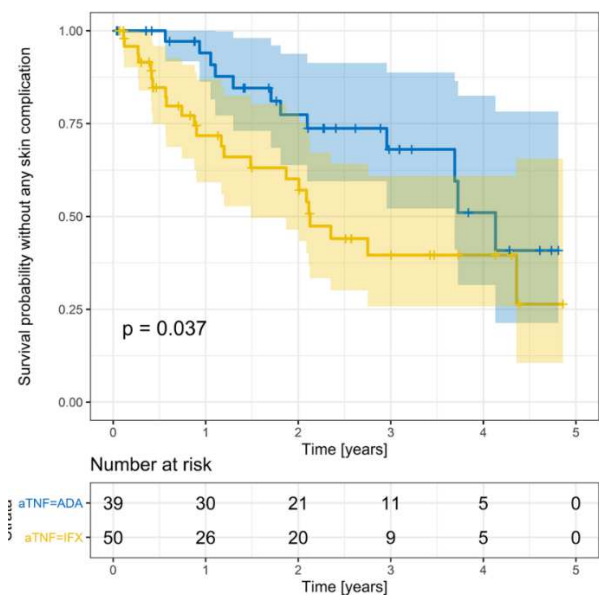
#### 4.2.6. Prediktivní faktory endoskopické rekurence onemocnění u dětských pacientů s Crohnovou nemocí podstupujících ileocékální resekci

V prospektivní studii na kohortě pediatrických pacientů s CD indikovaných k ileocékální resekci (ICR) jsme hledali prediktory endoskopické aktivity onemocnění v šestém měsíci po chirurgickém výkonu. Právě endoskopická aktivita zánětu přesně definovaná použitím endoskopického skórovacího systému (Rutgeerts) byla zvolena za zlatý standard, ke kterému se vztahovalo testování potencionálních rizikových faktorů rekurence onemocnění<sup>68</sup>. Pacienti zařazení do studie byli rozděleni do dvou skupin na základě údajů o aTNF léčbě před ICR a v dalším průběhu byl každý pacient léčen AZA v monoterapii. Ve studii jsme neprokázali rozdíl v aktivitě onemocnění po ICR ve vztahu k předchozí léčbě aTNF preparáty. Současně nebyly nalezeny klinicky významné faktory asociované s endoskopickou rekurencí v šestém měsíci po ICR<sup>53</sup>.

#### 4.3. Prediktivní faktory rozvoje nežádoucích účinků zvoleného terapeutického postupu

#### 4.3.1. Prediktivní faktory rozvoje kožních nežádoucích účinků u dětských pacientů s Crohnovou nemocí léčených různými preparáty aTNF

Ve studii na kohortě dětských pacientů s diagnózou CD léčených aTNF preparáty (IFX a ADA) bylo cílem identifikovat prediktivní faktory rozvoje kožních nežádoucích účinků terapie. Na základě výsledků práce lze konstatovat, že IFX je ve srovnání s ADA prediktorem pro vznik neinfekční kožní léze, včetně atopické dermatitidy, pro kterou je riziko až šestinásobně vyšší. Dále byla zjištěna asociace mezi kožními projevy a nízkou laboratorní zánětlivou aktivitou onemocnění (CRP) ukazující na dobře kompenzovanou CD. Rozdíl v kumulativním výskytu dermatologických komplikací mezi pacienty léčenými ADA nebo IFX znázorňuje obrázek 9. Na základě daných zjištění bude v nejbližší době možné selektovat rizikové pacienty pro vhodnější preparát biologické léčby <sup>49</sup>.

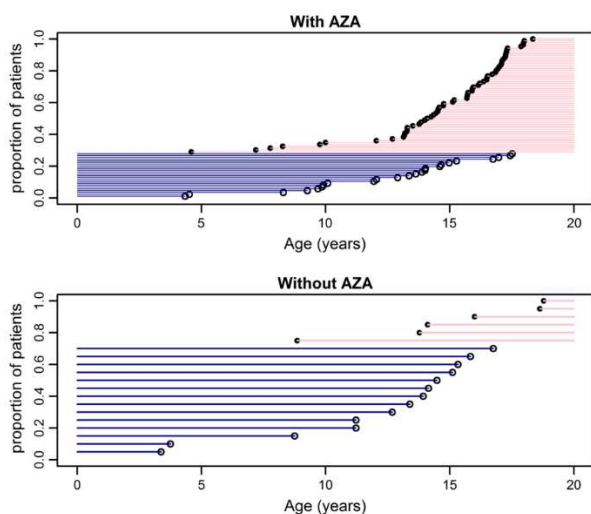


Obrázek 9. Rozdíl v kumulativním výskytu dermatologických komplikací u dětských pacientů s Crohnovou chorobou léčených adalimumabem nebo infliximabem.

#### 4.3.2. Prediktivní faktory serologického profilu a virové nálože EBV, CMV a dalších potenciálně rizikových virů u dětských pacientů s Crohnovou nemocí léčených imunospresivní terapií

Dle současných doporučení je u nekomplikované formy CD zahajována v době diagnózy imunospresivní léčba, převážně preparáty ze skupiny thiopurinů, současně s indukční léčbou, aby bylo dosaženo optimálních výsledků v udržení remise onemocnění <sup>31</sup>. Nejobávanějším, i když

vzácným, rizikem terapie je rozvoj některých maligních diagnóz. Jsou popisovány lymfoproliferativní onemocnění, u kterých kromě léčby sehrává velmi pravděpodobně svou roli chronicky probíhající zánět<sup>37,38</sup>. Častěji je také uváděn výskyt dvou typů lymfomů, na jejichž vzniku se významně podílí EBV infekce, proto bývá zjišťován EBV sérologický profil pacienta před zahájením terapie thiopuriny<sup>39</sup>. V doporučeních pro dospělé pacienty se začaly objevovat názory, zda je vhodné podávat tuto léčbu mladým EBV séronegativním jedincům s IBD<sup>69</sup>. Cílem průřezové studie bylo objektivizovat sérologickou prevalenci EBV a dalších potenciálně rizikových virů (cytomegalovirus (CMV), JC a BK polyomavirus) a současně prevalenci uvedených virů detekovanou metodou real-time PCR a najít možné prediktory ve vztahu k EBV séropozitivitě a virové náloži u dětských pacientů s IBD léčených thiopuriny a/nebo aTNF preparáty. Léčba AZA byla asociována s kratší dobou do dosažení séropozitivity EBV ve sledované skupině pacientů (obrázek 10). S virovou náloží EBV byla asociována aTNF terapie<sup>50</sup>.

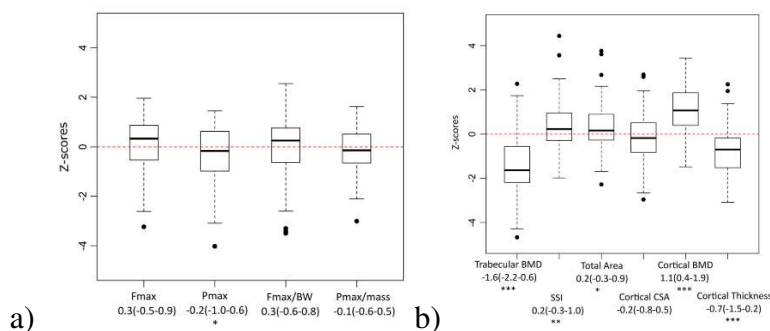


Obrázek 10. Model cenzorovaných dat pro EBV sérologii srovnávající pacienty léčených azathioprinem a bez něj. Každý řádek představuje jednoho pacienta. Plná kolečka představují pozitivní sérologický test, prázdná kolečka negativní test.

#### 4.4. Prediktivní faktory extraintestinálních komplikací u dětských pacientů se zánětlivými střevními onemocněními

#### 4.4.1. Prediktivní faktory insuficience svalově-kostní jednotky u dětských pacientů se zánětlivými střevními onemocněními

Snížená kostní denzita a zvýšená incidence fraktur patří mezi komplikace asociované s IBD<sup>70</sup>. V prospektivní observační studii jsme se zaměřili na vyhodnocení muskuloskeletálních parametrů ve vztahu k výskytu vertebrálních fraktur u dětí a dospívajících s IBD. Zjistili jsme, že námi sledovaní pacienti měli změněnou kostní denzitu a geometrii, ale normální dynamické svalové funkce (obrázek 11). Dalším zajímavým výstupem je zjištění, že kostní změny jsou nezávislé na hladině 25-hydroxyvitamin D (25-OHD) v séru. Na základě výsledků je možné dále konstatovat, že rentgenové zobrazení torakolumbální páteře by nemělo být rutinně doporučováno u dětí s IBD a indikace k provedení by měla vycházet z individuálních nálezů u konkrétních pacientů<sup>63</sup>.

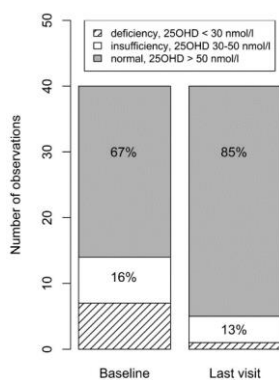


Obrázek 11. a) parametry dynamické svalové funkce a b) parametry hustoty kostního minerálu a geometrie vyjádřené jako Z-skóre specifické pro pohlaví a výšku.

#### 4.4.2. Prediktivní faktory úspěšné substituční léčby cholekalciferolem u dětských pacientů se zánětlivými střevními onemocněními a současnou hypovitaminózou D

V další prospektivní observační studii jsme sledovali změny parametrů svalově-kostní jednotky v průběhu substituční léčby cholekalciferolem v kohortě dětí s IBD a hledali prediktory ve vztahu k těmto změnám. Kvalita kostní hmoty byla objektivizována pomocí periferní kvantitativní výpočetní tomografie (pQCT) a svalové funkce skákačích mechanografií. V našem souboru pacientů jsme pozorovali významné zlepšení hodnoty maximálního svalového výkonu a trabekulární kostní denzity při pravidelné substituci 2000 jednotkami cholekalciferolu (obrázek 12). Nebylo možné vytvořit vhodný model k selekci pacientů profitujících ze substituční léčby z důvodu nedostatečné síly asociace potencionálních prediktorů. Nicméně vzhledem k vysoké prevalenci hypovitaminózy D v terénu IBD a k významnému procentu pacientů dosahujících optimalizaci alespoň jednoho

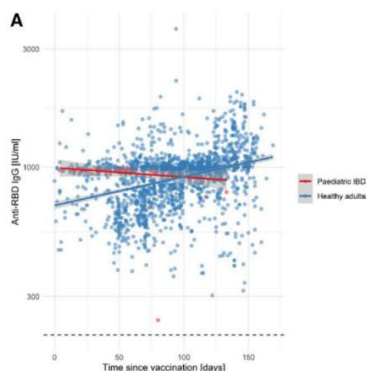
z uvedených parametrů svalově-kostní jednotky je na místě suplementaci 25-OHD zvážit u všech pediatrických pacientů s IBD <sup>61</sup>.



Obrázek 12. Rozdíl mezi podílem pacientů s normálním, nedostatečnou a nedostatečnou hladinou 25-hydroxyvitaminu D (25OHD) v séru při vstupní návštěvě a po denní suplementaci 2000 IU vitaminu D; a) parametry dynamické svalové funkce a b) parametry hustoty kostního minerálu a geometrie vyjádřené jako Z-skóre specifické pro pohlaví a výšku.

#### 4.5. Prediktivní faktory postvakcinační odpovědi v kohortě adolescentů se zánětlivým střevním onemocněním očkováných proti těžkému akutnímu respiračnímu syndromu vyvolaného koronavirem 2

Prospektivně jsme porovnali protilátky po očkování vakcínou BNT162b2 proti těžkému akutnímu respiračnímu syndromu vyvolaného koronavirem 2 (SARS-CoV-2) ve skupině dětských pacientů s IBD a zdravých kontrol. Současně jsme hledali prediktory míry imunitní odpovědi po očkování. Vyšší hladiny anti-spike S2 protilátek byly detekovány u IBD-pacientů. Obrázek 13 znázorňuje asociaci anti-RBD IgG protilátek a doby od očkování u dětských pacientů s IBD a zdravých dospělých. U dětí jsme potvrdili, že léčba aTNF je asociována s nižší produkcí postvakcinačních protilátek, a naopak, že předchozí infekce SARS-CoV-2 je spojena s jejich vyšší hladinou <sup>57</sup>.



Obrázek 13. Asociace anti-RBD IgG protilátek a doby od očkování u dětských pacientů se zánětlivým střevním onemocněním a zdravých dospělých.

## 5. Diskuze

### 5.1. Fekální kalprotektin jako prediktivní faktor

V prospektivní studii jsme zjistili, že prediktivní hodnota FC během časné fáze léčby pomocí EEN u dětí s nově diagnostikovanou luminální CD není dostatečná pro výběr pacientů, kteří pravděpodobně nedosáhnou remise onemocnění na konci této indukční léčby. Jednalo se o první studii, která se snažila předpovědět efekt indukční léčby EEN na základě vývoje parametrů v její časné fázi. U většiny pacientů došlo k poklesu hladiny FC, nicméně, individuální koncentrace FC dosahovaly nadále vysokých hodnot u několika klinických respondérů a to i na konci indukční léčby. V tomto ohledu je důležité zjišťovat nejen aktuální hodnoty FC, nýbrž jejich vývoj v čase nebo přesněji procentuální změnu FC v logaritmické škále. Navíc u části pacientů došlo k přechodnému dalšímu vzestupu hladiny FC v úvodu EEN, které nevyklučovalo její pokles v době ukončení terapie<sup>62</sup>.

Na základě našich zjištění vyvstává otázka, kdy je nejvhodnější čas pro vyhodnocení odpovědi na indukční terapii EEN pomocí FC. Podobná studie, která v průběhu léčby EEN sledovala vývoj biochemických zánětlivých parametrů a FC poukazuje na předpoklad, že námi zvolený interval je pravděpodobně příliš krátký pro změnu tak senzitivního parametru<sup>71,72</sup>. Podstatně delší dobu k obdobně formulované predikci si zvolila další studie, která hodnotila ve třicetidenním intervalu potencionální markery ve vztahu k trvající odpovědi na konci léčby EEN<sup>73</sup>. Nicméně, z klinického pohledu je tento postup nelogický a vhodnější je vyčkat efektu indukční léčby ve standardním trvání šesti týdnů než odhadovat navození remise ve čtvrtém týdnu.

V následující práci jsme jako první porovnali domácí test určený k vyhodnocení FC se standardní ELISA metodou vůči referenčnímu standardu. Dalším přínosem této studie oproti dříve publikovaným pracím bylo nalezení optimálního cut-off pro domácí test určený k vyhodnocení FC počítaného ve vztahu k endoskopické remisi (FC 48  $\mu\text{g/g}$ ). Předchozí studie uváděly cut-off pro domácí testy v intervalu od 50 do 150  $\mu\text{g/g}$ <sup>74-76</sup>. Pro standardní laboratorní metodu ELISA byl meta-analýzou zjištěn nejlepší cut-off FC předpovídající slizniční hojení 250  $\mu\text{g/g}$ <sup>77</sup>, v naší studii to byla hodnota 136  $\mu\text{g/g}$ . U obou použitých metod byla nalezena statisticky významná asociace s makroskopickou aktivitou střevního zánětu. Nicméně, standardní metoda ELISA přinesla při srovnání obou testů signifikantně spolehlivější výsledky v predikci slizničního hojení. Na základě



výsledků práce je domácí test možné použít k orientačnímu měření FC, např. v rámci tzv. self-monitoringu, neměl by ale nahradit rutinní měření FC standardními laboratorními metodami <sup>51</sup>.

## **5.2. Prediktivní faktory ve vztahu k léčbě dětských pacientů se zánětlivými střevními onemocněními**

Námi realizovaná práce byla první prospektivní observační studií srovnávající efektivitu a bezpečnost dvou preparátů aTNF (ADA a IFX) u dětských pacientů s CD naivních k biologické léčbě. Vzhledem k nepřítomnosti head-to-head intervenčních studií porovnávající IFX a ADA je třeba se orientovat podle network meta-analýz a studií z realné praxe. Zatímco network-metanalýza ukazuje, že při standardní dávkování obou léků je ADA efektivnější, výsledky studií z reálné praxe jsou rozporuplné <sup>78-84</sup>. Jedna dříve publikovaná meta-analýza zjistila, že i přes srovnatelnou efektivitu obou preparátů, je vyšší pravděpodobnost úspěšnosti indukční léčby při volbě IFX (86 %) a udržení remise v případě terapie ADA (48 %) <sup>85</sup>. Výsledky studií u dětí přináší obdobné výsledky, včetně RCT prokazující bezpečnost a účinnost obou preparátů v pediatrické populaci <sup>86,87</sup>.

Proporce pacientů vyžadujících eskalaci terapie v průběhu tří let sledování byla v naší kohortě přibližně polovina, na rozdíl od recentně publikovaného systematického přehledu pediatrických prací uvádějícího vyšší procento pacientů pokračujících v nastaveném režimu léčby IFX (61-85 %) <sup>88</sup>. Příčinou této diskrepance by mohla být definice eskalace léčby, která v našem souboru zahrnovala také potřebu úpravy dávky a intervalu <sup>56</sup>.

Identifikace prediktivních faktorů dlouhodobé odpovědi na terapii aTNF byla důležitou součástí naší práce <sup>56</sup>. V dosud publikovaných studiích u dětí bylo nalezených několik rizikových faktorů pro nepříznivý průběh onemocnění, nicméně bez vztahu k aTNF terapii <sup>89,90</sup>. Námi nalezená kombinace pANCA pozitivita a ASCA negativita v predikci eskalace léčby aTNF preparáty nebyla dosud pospána a je vhodná její prospektivní validace v nezávislé kohortě. Jelikož pozitivita pANCA protilátek je typická pro fenotyp UC a účinnost aTNF terapie je prokazatelně nižší u pacientů s diagnózou UC, je otázkou, zda by zjištěná serologická kombinace protilátek mohla být potenciálním proxy markerem odlišného fenotypu CD s nižší citlivostí na léčbu aTNF <sup>91,92</sup>.

Konkomitantní terapie imunomodulátorem nebyla v naší studii identifikována jako prediktor relapsu onemocnění, což by mohlo být důsledkem vysoké míry souběžné terapie v obou sledovaných skupinách <sup>56</sup>.

Je třeba přiznat, že zařazený počet pacientů do této analýzy neumožňoval objevit menší rozdíly mezi preparáty. V další práci jsme proto využili celonárodní populační databáze CReDIT a zjišťovali jsme udržitelnost jednotlivých preparátů biologické léčby.

V sub-analýze jsme nyní na větším počtu pacientů zjistili, že udržitelnost IFX je o 40 % nižší než při léčbě ADA. Studie u dospělých pacientů s IBD přináší v oblasti udržitelnosti ADA verus IFX protichůdné výsledky<sup>78,80,84,93</sup>. V populaci dětských pacientů jsou data omezena<sup>56,94</sup>. Naše výsledky tedy ukazují rozdíly v dlouhodobé udržitelnosti mezi těmito dvěma sledovanými preparáty aTNF navzdory jejich srovnatelné účinnosti v provedených RCT<sup>86,87</sup>. Důvodem tohoto rozdílu může být způsob jejich aplikace (intravenózní podání je spojeno s větší variabilitou sérových koncentrací léčiva)<sup>95–97</sup>. V souvislosti s dosažením co nejstabilnějších hladin biologické léčby se v rámci udržovací léčby v současnosti prosazují subkutánní preparáty<sup>98</sup>.

Pravděpodobnost udržitelnosti terapie v naší kohortě pacientů se zvyšovala s časnějším zahájením biologické léčby a volbou konkrétního preparátu (ADA). V tomto ohledu je důležité zdůraznit, že prodleva v zahájení aTNF terapie může ovlivnit pravděpodobnost její budoucí udržitelnosti. Při rozhodování o volbě preparátu je podstatné popsat pacientovi a jeho zákonným zástupcům možné nevýhody intravenózního IFX oproti subkutánnímu ADA<sup>59</sup>.

Proaktivní monitorování hladin aTNF léků je stále kontroverzní otázkou. Zatímco dvě RCT u dospělých pacientů léčených IFX neprokázali její přínos, studie PILOT sledující hladiny ADA naopak ukázala vyšší míru remise u pacientů proaktivně sledovaných<sup>99–103</sup>. V naší další práci jsme hledali asociaci mezi hladinami IFX, eventuelně ATIs a zánětlivou aktivitou onemocnění v pediatrické skupině pacientů s CD. Nejoptimálnější kombinací senzitivity a specificity pro určení remise (definované jako CRP pod 5 mg/l) na základě hladin IFX byla hodnota 1,1 µg/ml. U dospělých pacientů jsou ve spojení s remisí CD uváděny hodnoty koncentrace IFX nad 2,79 µg/ml<sup>104</sup>. Na rozdíl od předchozích studií jsme neprokázali, že by průkaz přítomnosti ATIs a jejich kvantifikace přinášely klinicky významnou informaci<sup>54,99</sup>. Kombinovaná léčba thiopuriny, nejčastěji AZA vede k větší míře remise než monoterapie<sup>105,106</sup>. Předpokládá se, že spíše než aditivním efektem, je to dáno sníženou tvorbou neutralizačních protilátek proti biologiku<sup>107</sup>.

Stanovení hladin metabolitů AZA a jejich vhodného cut-off predikující dosažení dostatečné hladiny IFX u dětských pacientů s CD na kombinované terapii (AZA a aTNF) bylo výstupem jedné z multicentrických studií<sup>58</sup>. Ve srovnání s jedinou prací realizované na dospělé kohortě byl námi

nalezen cut-off 6-TGN významně vyšší (125 pmol/ 8 x 10<sup>8</sup> 6-TGN v erytrocytu verus 278 pmol/ 8 x 10<sup>8</sup> 6-TGN v erytrocytu) <sup>108</sup>. U pacientů s nedetekovatelnými hladinami 6-TGN byla nalezena vyšší míra ztráty odpovědi k aTNF, což je v souladu s výsledky publikovanými jinými autori <sup>109</sup>. Z toho vyplývá, že kombinovaná léčba je úspěšnější v udržení remise než monoterapie IFX <sup>88</sup>.

Ve studii případů a kontrol jsme ve srovnání s předchozími publikacemi nenalezli rozdíl v délce trvání remise u dětských pacientů s CD indukovaných pomocí EEN nebo kortikosteroidů <sup>110</sup>. Oproti uvedeným studiím byl našim pacientům od počátku současně podáván AZA <sup>110,111</sup>. Lze tedy předpokládat, že pokud jsou pacienti současně léčeni AZA, indukční léčba nehraje zásadní roli v délce trvání remise <sup>112</sup>. Námi identifikované nezávislé prediktivní faktory časného selhání terapie AZA byly nízký věk a snížené Z-skóre výšky v době diagnózy CD, postižení horního gastrointestinálního traktu a zvýšený počet trombocytů v krvi v čase navození remise onemocnění. Jiná studie u dětí popisovala normální hladinu CRP a dosažení remise onemocnění bez použití kortikosteroidů za prediktivní faktory udržení remise v 52. týdnu <sup>113</sup>. Již výše uvedená práce vyhodnotila možnost použití poklesu koncentrace FC pod 200 µg/g ve čtvrtém týdnu indukční léčby pomocí EEN v predikci udržení remise v pediatrické kohortě pacientů s CD <sup>71</sup>. V naší studii jsme neprokázali asociaci CRP ani FC ve vztahu k trvání remise CD indukované EEN u dětských pacientů <sup>30</sup>.

Jako první prospektivní studie u dětí s CD po ICR byla realizovaná naše práce s cílem objasnit rizikové faktory rekurence onemocnění u pacientů léčených po výkonu AZA. Recidiva onemocnění definovaná pomocí endoskopického skóre byla nalezena u 38 % jedinců šest měsíců po proběhlé ICR. Ve studiích u dospělých pacientů je udávána četnost recidivy onemocnění vyšší <sup>68,114</sup>. Na základě výsledků se nezdá, že by terapie aTNF nebo pomocí imunomodulátoru před ICR byla rizikovým faktorem rekurence onemocnění. Použití FC jako markeru aktivity onemocnění v terénu ICR není dle našich výsledků dostatečně přesné. To je v rozporu s publikovanou meta-analýzou u dospělých pacientů a také studií u dětí, ve kterých byl úspěšně detekován jako prediktivní faktor pooperační rekurence u CD <sup>115,116</sup>. Námi identifikovaným potencionálním prediktorem recidivy onemocnění v šestém měsíci po ICR byla hladina sérového albuminu v době chirurgického výkonu, nicméně je potřeba dalších studií k jeho ověření a definování vhodného cut-off <sup>53</sup>. Limitací pro detekci potencionálních prediktorů a hledání rozdílů mezi dvěma různými terapeutickými přístupy před ICR byla velikost souboru.

### 5.3. Prediktivní faktory ve vztahu k rozvoji nežádoucích účinků zvoleného terapeutického postupu u dětských pacientů se zánětlivými střevními onemocněními

V retrospektivní práci jsme prokázali, že IFX je ve srovnání s ADA rizikovým faktorem rozvoje neinfekčních kožních komplikací. Naše výsledky jsou v souladu s jedinou realizovanou studií v rámci dětské populace pacientů s IBD léčených preparáty první linie biologické léčby<sup>117</sup>. Incidence kožních komplikací asociovaných s aTNF léčbou se zdá být nižší ve skupině dospělých pacientů s IBD<sup>118,119</sup>.

Naše práce navíc prokázala zvýšenou pravděpodobnost rozvoje dermatologických nežádoucích účinků při pozitivní anamnéze atopické dermatitidy. Vzhledem k velikosti sledovaného souboru a dalším limitacím studie není možné učinit definitivní závěr. Nicméně v rámci personalizace terapeutických přístupů, lze toto zjištění zohlednit v péči o dětské pacienty s IBD v procesu výběru preparátu aTNF a u jedinců se zvýšeným rizikem rozvoje uvedených komplikací preferovat terapii ADA se srovnatelnou efektivitou a bezpečnostním profilem<sup>49</sup>.

Doporučení Evropské organizace pro Crohnovu chorobu a kolitidu (European Crohn's and Colitis Organisation, ECCO) naznačují, že u EBV séronegativních pacientů mužského pohlaví mladších 35 let je vhodné se vyhnout podávání thiopurinů<sup>39</sup>. Dostupných údajů o séroprevalenci a virové náloži EBV v dětské populaci s IBD je nedostatek<sup>120</sup>. Ve srovnání s dřívější publikací byla prevalence EBV séropozitivních pacientů s nově diagnostikovaným IBD v naší kohortě vyšší (40 % vs. 64 %), navíc naše data naznačují zvyšující se proporcí séropozitivních výsledků v průběhu dětství a adolescence<sup>120</sup>. Na základě daných zjištění bychom se mohli domnívat, že tento podstatný rozdíl v séropozitivitě EBV by mohl souviset s terapií používanou u naší skupiny pacientů, u kterých byl identifikován AZA jako prediktivní faktor časných pozitivních sérologických nálezů EBV. Dalším vysvětlením by mohla být regionální epidemiologická situace a faktory spojené s příslušností k určitému etniku<sup>121–123</sup>.

Prevalence EBV DNA pozitivity u dětí s IBD byla v naší kohortě pacientů nižší ve srovnání s publikovanými údaji z dospělé populace (14 % vs. 35 %)<sup>69</sup>. Stejná studie uvádí, že léčba IFX v monoterapii nebo v kombinaci s AZA byla spojena s vyšší prevalencí EBV DNA séropozitivity. Naše výsledky ukazují srovnatelnou prevalenci v kontrolní skupině a prevalenci pozorované v jiné studii u pacientů léčených IFX (15 % a 12 %)<sup>124</sup>. Navíc jsme prokázali, že počet kopií EBV DNA a dávka IFX (na kg a 8 týdnů) byly významně asociovány. Dle dostupných dat je známo, že virová

nálož je prediktorem rozvoje lymfomu v potransplantačních podmínkách <sup>125</sup>. Nicméně se nám nepodařilo potvrdit předchozí pozorování, že věk při stanovení by byl rizikovým faktorem pro přítomnost a virovou nálož EBV <sup>50,69</sup>.

#### **5.4. Prediktivní faktory extraintestinálních komplikací u dětských pacientů se zánětlivými střevními onemocněními**

V prospektivní observační studii jsme se zaměřili na vyhodnocení muskuloskeletálních parametrů ve vztahu k výskytu vertebrálních fraktur u dětí a dospívajících s IBD. Zjistili jsme, že námi sledovaní pacienti měli mírně sníženou trabekulární kostní denzitu, ale normální dynamické svalové funkce. Na rozdíl od našich výsledků, dříve publikované práce popisovaly, signifikantně sníženou svalovou sílu u dětí a adolescentů s IBD ve srovnání se zdravou populací <sup>126–128</sup>. Důvodem rozdílných výsledků by mohl být odlišný metodologický přístup (denzitometrie (DXA) versus pQCT) <sup>129,130</sup>. Na rozdíl od pQCT, DXA nezohledňuje velikost kosti měřeného pacienta. Proto údaje získané touto metodou musí být interpretována ve vztahu k výšce pacienta. Kromě toho je DXA omezena v tom, že nedokáže odlišit jednotlivé kosti a posoudit geometrii kosti. Kostní parametry vyšetřené na kohortě našich pacientů byly srovnatelné s výstupy studií, ve kterých bylo měření provedeno pomocí pQCT s nálezem signifikantně snížené trabekulární kostní denzity a normální nebo zvýšené kortikální kostní denzity <sup>128,131–133</sup>.

V souladu s výsledky u dospělých pacientů s IBD jsme nenalezli žádnou korelaci mezi snížením výšky obratle a trabekulární denzitou kosti <sup>134</sup>. Z toho vyplývá, že tento parametr kostní jednotky není jediným rizikovým faktorem zvýšeného výskytu vertebrálních fraktur u jedinců s IBD. Na základě těchto zjištění je možné konstatovat, že rentgenové zobrazení torakolumbální páteře by nemělo být rutinně doporučováno u asymptomatických dětí s IBD a indikace k provedení by měla vycházet z individuálních nálezů u konkrétních pacientů <sup>63</sup>.

Dalším zajímavým výstupem je zjištění, že kostní změny jsou nezávislé na hladině 25-hydroxyvitamin D (25-OHD) v séru. S tím souvisí i naše další práce, která se zaměřila na otázku, zda by pacienti s IBD a nedostatečnými hladinami 25-OHD měli být suplementováni a pokud ano, jaké by mělo být optimální dávkování. Zjistili jsme, že pravidelné podávání 2000 jednotek cholekalciferolu dětem a adolescentům s IBD bylo spojeno se zvýšením trabekulární kostní denzity a zlepšením svalové síly. Protože efekt substituce byl nezávislý na koncentraci 25-OHD v úvodu studie, rutinní

suplementace vitamínem D se zdá být rozumným přístupem ke zlepšení pevnosti kostí u této skupiny pacientů, a to bez ohledu na zjištěnou hladinu 25-OHD <sup>55</sup>.

### **5.5. Prediktivní faktory postvakcinační odpovědi v kohortě adolescentů se zánětlivým střevním onemocněním**

Pacienti s IBD dětského a adolescentního věku vykazovali v naší studii vynikající postvakcinační odpověď, a to i přes terapii aTNF preparáty, u kterých by bylo možné předpokládat insuficientní reakci <sup>57</sup>. V souvislosti s negativní asociací mezi aTNF a postvakcinačními protilátkami je sporné, zda by pacienti léčení aTNF preparáty měli být upřednostňováni v indikaci k aplikaci posilovacích vakcín. Na základě dalších studií se zdá, že IBD pacienti jako celek nemají oproti běžné populaci zvýšené riziko těžkého průběhu infekce vyvolané SARS-CoV-2 <sup>135</sup>. Na druhou stranu jiné práce ukazují, že některé preparáty jsou asociovány s vyšším výskytem postvakcinačně se objevujících infekcí. To předpokládáme u kortikosteroidů a dále, ve shodě s nižšími titry v naší studii také ve skupině léčených aTNF <sup>135</sup>.

## 6. Závěr

Se vzestupem důrazu na používání principů personalizované medicíny došlo k obrovskému nárůstu popularity nástrojů pro predikci výsledků pro jednotlivé pacienty. Tyto algoritmy jsou schopny pomáhat v diagnostické a terapeutické části rozhodování. Zánětlivá střevní onemocnění představují oblast medicíny, kde se intenzivně uplatňují jak klasické statistické metody k hledání prediktorů a tvorbě prediktivních modelů pro různé klinické situace, tak metody strojového učení pracující s velkými objemy dat.

Nedílnou součástí prediktivního modelování je uplatnění vhodných proměnných do konečného modelu, tak aby model dokázal zachytit skutečný vztah, který existuje v datech mezi výsledkem a vybranými proměnnými. Ve své práci se zabývám hledáním a studiem prediktorů IBD, včetně slibného markeru, FC.

V jednotlivých studiích jsme uplatnili klasické biostatistické metody k identifikaci prediktivních faktorů. V některých jsme se pokusili vytvořit predikční modely. Statistické zpracování dat probíhalo ve vývojovém prostředí R, které poskytuje širokou škálu statistických a grafických technik, včetně lineárního a nelineárního modelování. V rámci našich prací byly použity následující metody statistické analýzy: v případě sledování pacientů v průběhu času jsme aplikovali na data survival analýzy a Cox regrese; v souvislosti s opakovaným měřením jednoho pacienta jsme použili mix model; pro kategorické výsledky zobecněný lineární smíšený model a pro lineární výsledky lineární smíšený model; v rámci některých studií bylo možné na základě klinického výběru prediktorů zkonstruovat konečný predikční model a když to bylo vhodné přidali jsme do modelu efekty interakce; k vyhodnocení prediktorů udržitelnosti léčby byly aplikovány Coxovy modely se smíšenými efekty a analýzy propensity skóre.

Na základě našich zjištění lze uzavřít, že FC lze využít pro účely domácího testování, nicméně zlatým standardem ke stanovení jeho koncentrace ve stolici zůstává přesnější klasická laboratorní metoda ELISA. Nebyl potvrzen potenciaální přínos FC k časné identifikaci pacientů, kteří nedosáhnou odpovědi na konkrétní typ indukční léčby.

S velkým přispěním našich dat se zdá, že terapie ADA je u pediatrických pacientů udržitelnější než terapie IFX. Zda je to efektivitou však zatím nelze na základě dostupných dat zodpovědět. Částečně je tuto vyšší udržitelnost možno vysvětlit častějším výskytem kožních nežádoucích účinků oproti ADA. Identifikovali jsme četné prediktivní faktory zachování remise onemocnění či udržitelnosti jednotlivých aTNF preparátů. Ve skupině pacientů léčených aTNF se zdá

nejsilnějším prediktorem kombinace serologických markerů - séropozitivita pANCA a séronegativita ASCA. Naopak nejsilnějším a asi nejlépe potvrzeným prediktorem časného selhání je delší doba do zahájení aTNF terapie. Ve shodě s publikovanými daty, se zdá, že hladiny aTNF i hladiny thiopurinů jsou slabými prediktivními faktory remise onemocnění. Ve skupině pacientů léčených monoterapií AZA není typ indukční léčby zásadním faktorem. Přestože jsme v této skupině identifikovali několik rizikových faktorů, jejich síla neumožňovala vytvořit klinicky relevantní predikční model. Seropozitivita EBV je asociovaná s terapií AZA a naopak virová nálož s dávkou aTNF.

At' již je pacient před ICR léčen AZA či aTNF terapií riziko rekurence je relativně vysoké.

Naše studie ukazují, že a rentgenové zobrazení torakolumbální páteře není vhodné paušálně vyšetřovat u všech pediatrických IBD pacientů. Naopak substituci vitamínem D lze zvážit u všech, bez ohledu na jeho hladinu v séru.

Disertační práce přináší v podobě výsledků jednotlivých studií a jejich interpretace pro konkrétní klinické otázky spektrum cenných informací v oblasti péče o pediatrickou populaci s IBD. Identifikace prediktivních faktorů ve vztahu k přesně definovaným jevům umožňuje spřesňovat a více personalizovat rozhodovací proces a vedení vyšetřovacích postupů v konkrétních klinických situacích. Nicméně, samotné nalézání prediktivních faktorů je insuficientní a je potřeba jejich ověření na nezávislých kohortách. Ve většině našich prací nebylo možné sestavit predikční model zejména z důvodu nedostatečného množství asociovaných proměnných a/nebo nevyhovující síly identifikovaných prediktorů.

Významným přínosem pro vědecko-výzkumné projekty v oblasti dětských IBD by byl původně plánovaný hlavní projekt postgraduálního studia - software pro prospektivní pseudonymizovaný systematický sběr a kategorizaci klinických, laboratorních a dalších údajů o pacientech s IBD s možností jejich následného statistického zpracování a automatizovaného vytváření predikčních modelů pro konkrétní klinické situace. Pozitivní je, že v současnosti existují dlouhodobé prospektivní multicentrické registry, které jsou považovány za nejvhodnější způsob získávání dat pro identifikaci a studium potencionálních prediktivních faktorů. V rámci spolupráce se tak daří získávat kvalitní výstupy opírající se o dostatečně objemné a konzistentní datové soubory.

Věřím, že se nám v navazujících studiích bude dařit naplňovat primární myšlenku naší práce a přispět tím ke zlepšení péče o dětské pacienty s IBD díky nově identifikovaným možnostem predikce konkrétního klinického jevu.



## 7. Souhrn

Zánětlivá střevní onemocnění (IBD) představují skupinu chronických, polygenně podmíněných onemocnění postihujících primárně gastrointestinální trakt a jejichž incidence v dospělé i dětské populaci globálně narůstá. Mezi tyto nemoci řadíme Crohnovou nemoc (CD), ulcerózní kolitidu (UC) a tzv. neklasifikovatelné IBD (IBD-U). Fekální kalprotektin (FC) je markerem zánětu u IBD a jeho hladiny korelují s aktivitou onemocnění definovanou klinickými parametry, endoskopickým nálezem a histologií. Současná lékařská praxe je spojena s dostupností velkého množství klinických dat a snahou jejich efektivního uplatnění v procesu medicínského rozhodování takovým způsobem, aby bylo dosaženo maximální možné redukce rizika nepříznivého průběhu onemocnění a výskytu s onemocněním a/nebo léčbou asociovaných komplikací.

Primárním cílem disertační práce bylo použít metody biomedicínské informatiky v procesu ověření FC v predikci aktivity onemocnění a odpovědi na léčbu u dětských pacientů s IBD. Zjistili jsme, že na základě vývoje hladin FC v časné fazi indukční léčby pomocí výhradní enterální výživy nelze rozhodovat o dalším vedení terapie. Ověřením domácího testu na stanovení koncentrace FC ve stolici jsme poukázali na jeho možné benefity pro urychlení procesu rozhodování, nicméně s nutností confirmace výsledku klasickými laboratorními metodami.

Další práce byly zaměřené na hledání potencionálních prediktorů pro přesně definovaný outcome. Stanovením vyváženého cut-off metabolitů azathioprinu k předpovědi dosažení efektivních hladin infliximabu jsme získali vhodný nástroj pro optimalizaci kombinované terapie u pacientů s CD. Srovnáním dvou preparátů první linie biologické léčby jsme upozornili na potřebu zohlednění nalezených rizikových faktorů při volbě terapie. Zjistili jsme, že indukční léčba nehraje zásadní roli v délce trvání remise onemocnění u pacientů s nekomplikovanou CD současně užívajících azathioprin. Zdůvodnili jsme vhodnost suplementace vitamínu D u dětských pacientů s IBD a poukázali na možnost redukce dříve indikovaných vyšetření u asymptomatických jedinců.

Nové poznatky vyplývající z realizovaných studií s sebou přináší možnost exaktnějšího a individuálně zaměřeného přístupu v procesu klinického rozhodování. Nicméně, samotná identifikace prediktivních faktorů je insuficientní a je potřeba jejich ověření na nezávislých kohortách.

## Summary

Inflammatory bowel diseases (IBD) are a group of chronic, polygenic diseases primarily affecting the gastrointestinal tract, and their incidence is increasing globally in both adult and paediatric populations. These diseases include Crohn's disease (CD), ulcerative colitis (UC) and so-called IBD unclassified (IBD-U). Fecal calprotectin (FC) is a marker of inflammation in IBD and its levels correlate with disease activity as defined by clinical parameters, endoscopic findings and histology. Current medical practice is associated with the availability of a large amount of clinical data and the desire to apply it effectively in the medical decision-making process in such a way as to achieve the maximum possible reduction in the risk of adverse disease course and the occurrence of disease- and/or treatment-associated complications.

The primary aim of this dissertation was to apply biomedical informatics methods in the process of validating FC in predicting disease activity and response to treatment in paediatric patients with IBD. We found that the evolution of FC levels in the early phase of induction therapy using exclusive enteral nutrition cannot be used to make decisions about further management. By validating a home test for the determination of FC concentration in stool, we highlighted its potential benefits for speeding up the decision-making process, however, with the need to confirm the result by conventional laboratory methods.

Other work focused on finding potential predictors for a well-defined outcome. By establishing a balanced cut-off of azathioprine metabolites to predict the achievement of effective infliximab levels, we have obtained a suitable tool for optimizing combination therapy in CD patients. By comparing two first-line biologic therapy agents, we highlighted the need to consider the identified risk factors in the choice of therapy. We found that induction therapy does not play a major role in the duration of disease remission in patients with uncomplicated CD concomitantly taking azathioprine. We justified the appropriateness of vitamin D supplementation in paediatric patients with IBD and highlighted the possibility of reducing previously indicated testing in asymptomatic individuals.

The new findings from the conducted studies bring with them the possibility of a more exact and individualized approach in the clinical decision-making process. However, the identification of predictive factors alone is insufficient and their validation in independent cohorts is needed.

## 8. Reference

1. Collins GS, Reitsma JB, Altman DG, Moons KGM. Transparent reporting of a multivariable prediction model for individual prognosis or diagnosis (TRIPOD): The TRIPOD Statement. *BMC Med.* 2015;13(1). doi:10.1186/s12916-014-0241-z
2. Steyerberg EW, Vergouwe Y. Towards better clinical prediction models: Seven steps for development and an ABCD for validation. *Eur Heart J.* 2014;35(29):1925-1931. doi:10.1093/eurheartj/ehu207
3. Steyerberg EW. Evaluation of Clinical Usefulness. In: *Clinical Prediction Models: A Practical Approach to Development, Validation, and Updating.* Springer International Publishing; 2019:309-328. doi:10.1007/978-3-030-16399-0\_16
4. 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(6):795-806. doi:10.1097/MPG.0000000000000239
5. Cleynen I, Boucher G, Jostins L, et al. Inherited determinants of Crohn's disease and ulcerative colitis phenotypes: A genetic association study. *The Lancet.* 2016;387(10014):156-167. doi:10.1016/S0140-6736(15)00465-1
6. Kugathasan S, Judd RH, Hoffmann RG, et al. Epidemiologic and clinical characteristics of children with newly diagnosed inflammatory bowel disease in Wisconsin: A statewide population-based study. *Journal of Pediatrics.* 2003;143(4):525-531. doi:10.1067/S0022-3476(03)00444-X
7. Timmer A, Behrens R, Buderus S, et al. Childhood onset inflammatory bowel disease: Predictors of delayed diagnosis from the CEDATA German-language pediatric inflammatory bowel disease registry. *Journal of Pediatrics.* 2011;158(3). doi:10.1016/j.jpeds.2010.09.014
8. Gupta N, Bostrom AG, Kirschner BS, et al. Presentation and disease course in early- compared to later-onset pediatric Crohn's disease. *American Journal of Gastroenterology.* 2008;103(8):2092-2098. doi:10.1111/j.1572-0241.2008.02000.x
9. Sawczenko A, Sandhu BK. *Presenting Features of Inflammatory Bowel Disease in Great Britain and Ireland.* www.archdischild.com
10. Vernier-Massouille G, Balde M, Salleron J, et al. Natural history of pediatric Crohn's disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology.* 2008;135(4):1106-1113. doi:10.1053/j.gastro.2008.06.079

11. Jose FA, Garnett EA, Vittinghoff E, et al. Development of extraintestinal manifestations in pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2009;15(1):63-68. doi:10.1002/ibd.20604
12. Glocker EO, Kotlarz D, Boztug K, et al. Inflammatory Bowel Disease and Mutations Affecting the Interleukin-10 Receptor. *New England Journal of Medicine*. 2009;361(21):2033-2045. doi:10.1056/nejmoa0907206
13. Jakobsen C, Paerregaard A, Munkholm P, Wewer V. Environmental factors and risk of developing paediatric inflammatory bowel disease - A population based study 2007-2009. *J Crohns Colitis*. 2013;7(1):79-88. doi:10.1016/j.crohns.2012.05.024
14. Kotlarz D, Beier R, Murugan D, et al. Loss of Interleukin-10 Signaling and Infantile Inflammatory Bowel Disease - Implications for Diagnosis and Therapy. *Gastroenterology*. Published online 2012. doi:10.1053/j.gastro.2012.04.045
15. Engelhardt KR, Shah N, Faizura-Yeop I, et al. Clinical outcome in IL-10- and IL-10 receptor-deficient patients with or without hematopoietic stem cell transplantation. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2013;131(3). doi:10.1016/j.jaci.2012.09.025
16. Uhlig HH, Schwerd T, Koletzko S, et al. The Diagnostic Approach to Monogenic Very Early Onset Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*. 2014;(September):1-19. doi:10.1053/j.gastro.2014.07.023
17. Ng SC, Shi HY, Hamidi N, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *The Lancet*. 2017;390(10114):2769-2778. doi:10.1016/S0140-6736(17)32448-0
18. Sýkora J, Pomahačová R, Kreslová M, Cvalínová D, Štych P, Schwarz J. Current global trends in the incidence of pediatric-onset inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2018;24(25):2741-2763. doi:10.3748/wjg.v24.i25.2741
19. Lewis JD, Parlett LE, Jonsson Funk ML, et al. Incidence, Prevalence, and Racial and Ethnic Distribution of Inflammatory Bowel Disease in the United States. *Gastroenterology*. 2023;165(5):1197-1205.e2. doi:10.1053/j.gastro.2023.07.003
20. Kaplan GG, Ng SC. Understanding and Preventing the Global Increase of Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*. 2017;152(2):313-321.e2. doi:10.1053/j.gastro.2016.10.020
21. Zhao M, Gönczi L, Lakatos PL, Burisch J. The Burden of Inflammatory Bowel Disease in Europe in 2020. *J Crohns Colitis*. 2021;15(9):1573-1587. doi:10.1093/ecco-jcc/jjab029
22. Kappelman MD, Rifas-Shiman SL, Kleinman K, et al. The Prevalence and Geographic

Distribution of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis in the United States. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2007;5(12):1424-1429. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cgh.2007.07.012>

23. Kuenzig ME, Fung SG, Marderfeld L, et al. Twenty-first Century Trends in the Global Epidemiology of Pediatric-Onset Inflammatory Bowel Disease: Systematic Review. *Gastroenterology*. 2022;162(4):1147-1159.e4. doi:10.1053/j.gastro.2021.12.282
24. Roberts SE, Thorne K, Thapar N, et al. A systematic review and meta-analysis of paediatric inflammatory bowel disease incidence and prevalence across Europe. *J Crohns Colitis*. 2020;14(8):1119-1148. doi:10.1093/ecco-jcc/jjaa037
25. IBD Working Group of the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Inflammatory bowel disease in children and adolescents: recommendations for diagnosis--the Porto criteria. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005;41(1):1-7. Accessed November 24, 2016. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15990620>
26. Turner D, Ricciuto A, Lewis A, et al. STRIDE-II: An Update on the Selecting Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Disease (STRIDE) Initiative of the International Organization for the Study of IBD (IOIBD): Determining Therapeutic Goals for Treat-to-Target strategies in IBD. *Gastroenterology*. 2021;160(5):1570-1583. doi:10.1053/j.gastro.2020.12.031
27. Van Rheen PF, Aloï M, Assa A, et al. The Medical Management of Paediatric Crohn's Disease: An ECCO-ESPGHAN Guideline Update. *J Crohns Colitis*. 2021;15(2):171-194. doi:10.1093/ecco-jcc/jjaa161
28. Turner D, Griffiths AM, Walters TD, et al. Mathematical Weighting of the Pediatric Crohn's Disease Activity Index (PCDAI) and Comparison with Its Other Short Versions. 2012;18(1):55-62. doi:10.1002/ibd.21649
29. Levine A, Turner D. Combined azithromycin and metronidazole therapy is effective in inducing remission in pediatric Crohn's disease. *J Crohns Colitis*. 2011;5(3):222-226. doi:10.1016/j.crohns.2011.01.006
30. Hradsky O. Time to Relapse in Children with Crohn's Disease Treated with Azathioprine and Nutritional Therapy or Corticosteroids. *Dig Dis Sci*. Published online 2016. doi:10.1007/s10620-016-4103-8
31. Markowitz J, Grancher K, Kohn N, Lesser M, Daum F. A multicenter trial of 6-mercaptopurine and prednisone in children with newly diagnosed Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2000;119(4):895-902. doi:10.1053/gast.2000.18144

32. Patel V, MacDonald JK, McDonald JWD, Chande N. Methotrexate for maintenance of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2009;(4). doi:10.1002/14651858.CD006884.pub2
33. Turner D, Mack D, Leleiko N, et al. Severe pediatric ulcerative colitis: a prospective multicenter study of outcomes and predictors of response. *Gastroenterology*. 2010;138(7):2282-2291. doi:10.1053/j.gastro.2010.02.047
34. Turner D, Otley AR, Mack D, et al. Development, validation, and evaluation of a pediatric ulcerative colitis activity index: a prospective multicenter study. *Gastroenterology*. 2007;133(2):423-432. doi:10.1053/j.gastro.2007.05.029
35. Turner D, Ruemmele FM, Orlanski-Meyer E, et al. Management of paediatric ulcerative colitis, part 2: Acute severe colitis - An evidence-based consensus guideline from the european Crohn's and colitis organization and the european society of paediatric gastroenterology, hepatology and nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2018;67(2):292-310. doi:10.1097/MPG.0000000000002036
36. Mälkönen T, Wikström A, Heiskanen K, et al. Skin reactions during anti-TNF $\alpha$  therapy for pediatric inflammatory bowel disease: A 2-year prospective study. *Inflamm Bowel Dis*. 2014;20(8):1309-1315. doi:10.1097/MIB.0000000000000088
37. Geary RB, Barclay ML, Burt MJ, Collett JA, Chapman BA. Thiopurine drug adverse effects in a population of New Zealand patients with inflammatory bowel disease. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*. 2004;13(8):563-567. doi:10.1002/pds.926
38. Hindorf U, Lindqvist M, Hildebrand H, Fagerberg U, Almer S. Adverse events leading to modification of therapy in a large cohort of patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006;24(2):331-342. doi:10.1111/j.1365-2036.2006.02977.x
39. Magro F, Peyrin-Biroulet L, Sokol H, et al. Extra-intestinal malignancies in inflammatory bowel disease: Results of the 3rd ECCO Pathogenesis Scientific Workshop (III). *J Crohns Colitis*. 2014;8(1):31-44. doi:10.1016/j.crohns.2013.04.006
40. Pharmacology A, Sipponen T, Karkkainen P, Savilahti E, et al. Correlation of faecal calprotectin and lactoferrin with an endoscopic score for Crohn's disease and histological findings. Correlation of faecal calprotectin and lactoferrin with an endoscopic score for . 2008;(May 2016). doi:10.1111/j.1365-2036.2008.03835.x
41. Sipponen T. Diagnostics and prognostics of inflammatory bowel disease with fecal neutrophil-derived biomarkers calprotectin and lactoferrin. *Dig Dis*. 2013;31(3-4):336-344.

doi:10.1159/000354689

42. Sipponen T, Kolho KL. Fecal calprotectin in diagnosis and clinical assessment of inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol*. 2014;50(1):74-80. doi:10.3109/00365521.2014.987809
43. Kostakis ID, Cholidou KG. Fecal Calprotectin in Pediatric Inflammatory Bowel Disease : A Systematic Review. Published online 2012. doi:10.1007/s10620-012-2347-5
44. Kammerlander H, Nielsen J, Kjeldsen J, et al. Fecal Calprotectin during Pregnancy in Women with Moderate-Severe Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2018;24(4):839-848. doi:10.1093/ibd/izx055
45. Levine A, Turner D, Pfeffer Gik T, et al. Comparison of outcomes parameters for induction of remission in new onset pediatric Crohn’s disease: evaluation of the porto IBD group “growth relapse and outcomes with therapy” (GROWTH CD) study. *Inflamm Bowel Dis*. 2014;20(2):278-285. doi:10.1097/01.MIB.0000437735.11953.68
46. Kolho KL, Alfthan H. Concentration of fecal calprotectin in 11,255 children aged 0–18 years. *Scand J Gastroenterol*. Published online 2020:1024-1027. doi:10.1080/00365521.2020.1794026
47. Shaoul R, Sladek M, Turner D, et al. Limitations of fecal calprotectin at diagnosis in untreated pediatric Crohn’s disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2012;18(8):1493-1497. doi:10.1002/ibd.21875
48. Koninckx CR, Donat E, Benninga MA, et al. The Use of Fecal Calprotectin Testing in Paediatric Disorders: A Position Paper of the European Society for Paediatric Gastroenterology and Nutrition Gastroenterology Committee. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2021;72(4):617-640. doi:10.1097/MPG.0000000000003046
49. Hradsky O, Kazeka D, Copova I, et al. Risk factors for dermatological complications of anti-TNF therapy in a cohort of children with Crohn’s disease. doi:10.1007/s00431-021-04077-0/Published
50. 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(11):3399-3407. doi:10.1007/s10620-015-3764-z
51. Lerchova T, Hradsky O, Copova I, Potuznikova K, Gonsorcikova L, Bronsky J. The Accuracy of a Home-performed Faecal Calprotectin Test in Paediatric Patients with Inflammatory Bowel Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2019;69(1):75-81. doi:10.1097/MPG.0000000000002331
52. Maratova K, Hradsky O, Matyskova J, et al. Musculoskeletal system in children and

- adolescents with inflammatory bowel disease: normal muscle force, decreased trabecular bone mineral density and low prevalence of vertebral fractures. *Eur J Pediatr*. 2017;176(10):1355-1363. doi:10.1007/s00431-017-2988-7
53. Zarubova K, Hradsky O, Copova I, et al. Endoscopic Recurrence 6 Months after Ileocecal Resection in Children with Crohn Disease Treated with Azathioprine. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2017;65(2):207-211. doi:10.1097/MPG.0000000000001470
  54. Ohem J, Hradsky O, Zarubova K, et al. Evaluation of Infliximab Therapy in Children with Crohn's Disease Using Trough Levels Predictors. *Digestive Diseases*. 2017;36(1):40-48. doi:10.1159/000477962
  55. Hradsky O, Soucek O, Maratova K, et al. Supplementation with 2000 IU of Cholecalciferol is Associated with Improvement of Trabecular Bone Mineral Density and Muscle Power in Pediatric Patients with IBD. *Inflamm Bowel Dis*. 2017;23(4):514-523. doi:10.1097/MIB.0000000000001047
  56. Bronsky J, Copova I, Kazeka D, et al. Adalimumab vs Infliximab in Pediatric Patients With Crohn's Disease: A Propensity Score Analysis and Predictors of Treatment Escalation. *Clin Transl Gastroenterol*. 2022;13(5):e00490. doi:10.14309/ctg.0000000000000490
  57. Bronsky J, Copova I, Durilova M, et al. Postvaccination Immunogenicity of BNT162b2 SARS-CoV-2 Vaccine and Its Predictors in Pediatric Inflammatory Bowel Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2023;76(2):E36-E44. doi:10.1097/MPG.00000000000003661
  58. Pospisilova K, Siroka J, Karaskova E, et al. Is It Useful to Monitor Thiopurine Metabolites in Pediatric Patients with Crohn's Disease on Combination Therapy? A Multicenter Prospective Observational Study. *Pediatric Drugs*. 2021;23(2):183-194. doi:10.1007/s40272-021-00439-1
  59. Hradsky O, Copova I, Durilova M, et al. Sustainability of biologic treatment in paediatric patients with Crohn's disease: population-based registry analysis. *Pediatr Res*. Published online 2023. doi:10.1038/s41390-023-02913-7
  60. Ohem J, Hradsky O, Zarubova K, et al. Evaluation of Infliximab Therapy in Children with Crohn's Disease Using Trough Levels Predictors. *Digestive Diseases*. 2017;36(1). doi:10.1159/000477962
  61. Hradsky O, Soucek O, Maratova K, et al. Supplementation with 2000 IU of Cholecalciferol is Associated with Improvement of Trabecular Bone Mineral Density and Muscle Power in Pediatric Patients with IBD. *Inflamm Bowel Dis*. 2017;23(4). doi:10.1097/MIB.0000000000001047



62. Copova I, Hradsky O, Zarubova K, et al. Fecal calprotectin is not a clinically useful marker for the prediction of the early nonresponse to exclusive enteral nutrition in pediatric patients with Crohn disease. *Eur J Pediatr*. 2018;177(11):1685-1693. doi:10.1007/s00431-018-3228-5
63. Maratova K, Hradsky O, Matyskova J, et al. Musculoskeletal system in children and adolescents with inflammatory bowel disease: normal muscle force, decreased trabecular bone mineral density and low prevalence of vertebral fractures. *Eur J Pediatr*. 2017;176(10). doi:10.1007/s00431-017-2988-7
64. Zarubova K, Hradsky O, Copova I, et al. Endoscopic Recurrence 6 Months after Ileocecal Resection in Children with Crohn Disease Treated with Azathioprine. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2017;65(2):207-211. doi:10.1097/MPG.0000000000001470
65. Lerchova T, Hradsky O, Copova I, Potuznikova K, Gonsorcikova L, Bronsky J. The Accuracy of a Home-performed Faecal Calprotectin Test in Paediatric Patients with Inflammatory Bowel Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2019;69(1). doi:10.1097/MPG.0000000000002331
66. Hradsky O, Copova I, Zarubova K, Nevoral J, Bronsky J. Time to Relapse in Children with Crohn's Disease Treated with Azathioprine and Nutritional Therapy or Corticosteroids. *Dig Dis Sci*. 2016;61(7):2041-2050. doi:10.1007/s10620-016-4103-8
67. D'Haens G, Vermeire S, Lambrecht G, et al. Increasing Infliximab Dose Based on Symptoms, Biomarkers, and Serum Drug Concentrations Does Not Increase Clinical, Endoscopic, and Corticosteroid-Free Remission in Patients With Active Luminal Crohn's Disease. *Gastroenterology*. 2018;154(5):1343-1351.e1. doi:10.1053/j.gastro.2018.01.004
68. Rutgeerts P, Geboes K, Vantrappen G, Beyls J, Kerremans R, Hiele M. Predictability of the postoperative course of Crohn's disease. *Gastroenterology*. 1990;99(4):956-963. doi:10.1016/0016-5085(90)90613-6
69. Magro F, Santos-Antunes J, Albuquerque A, et al. P511 Epstein-Barr Virus in inflammatory bowel disease – correlation with different therapeutic regimens. *J Crohns Colitis*. 2013;7:S215. doi:10.1016/s1873-9946(13)60532-2
70. Schmidt S, Mellström D, Norjavaara E, Sundh SV, Saalman R. Low bone mineral density in children and adolescents with inflammatory bowel disease: A population-based study from western Sweden. *Inflamm Bowel Dis*. 2009;15(12):1844-1850. doi:10.1002/ibd.20962
71. Frivolt K, Schwerdt T, Werkstetter KJ, et al. Repeated exclusive enteral nutrition in the treatment of paediatric Crohn's disease: predictors of efficacy and outcome. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;39(12):1398-1407. doi:10.1111/apt.12770

72. Gerasimidis K, Nikolaou CK, Edwards CA, McGrogan P. Serial fecal calprotectin changes in children with Crohn's disease on treatment with exclusive enteral nutrition: associations with disease activity, treatment response, and prediction of a clinical relapse. *J Clin Gastroenterol.* 2011;45(3):234-239. doi:10.1097/MCG.0b013e3181f39af5
73. Gerasimidis K, Talwar D, Duncan A, et al. Impact of exclusive enteral nutrition on body composition and circulating micronutrients in plasma and erythrocytes of children with active Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2012;18(9):1672-1681. doi:10.1002/ibd.21916
74. Heida A, Knol M, Kobold AM, Bootsman J, Dijkstra G, van Rhee PF. Agreement Between Home-Based Measurement of Stool Calprotectin and ELISA Results for Monitoring Inflammatory Bowel Disease Activity. *Clinical Gastroenterology and Hepatology.* 2017;15(11):1742-1749.e2. doi:10.1016/j.cgh.2017.06.007
75. Elkjaer M, Burisch J, Voxen Hansen V, Deibjerg Kristensen B, Slott Jensen JK, Munkholm P. A new rapid home test for faecal calprotectin in ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010;31(2):323-330. doi:10.1111/j.1365-2036.2009.04164.x
76. Vinding KK, Elsberg H, Thorkilgaard T, et al. Fecal Calprotectin Measured by Patients at Home Using Smartphones-A New Clinical Tool in Monitoring Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2016;22(2):336-344. doi:10.1097/MIB.0000000000000619
77. Lin JF, Chen JM, Zuo JH, et al. Meta-analysis: Fecal calprotectin for assessment of inflammatory bowel disease activity. *Inflamm Bowel Dis.* 2014;20(8):1407-1415. doi:10.1097/MIB.0000000000000057
78. Di Domenicantonio R, Trotta F, Cascini S, et al. Population-based cohort study on comparative effectiveness and safety of biologics in inflammatory bowel disease. *Clin Epidemiol.* 2018;10:203-213. doi:10.2147/CLEP.S150030
79. Jung YS, Han M, Park S, Cheon JH. Biologic Use Patterns and Predictors for Non-persistence and Switching of Biologics in Patients with Inflammatory Bowel Disease: A Nationwide Population-Based Study. *Dig Dis Sci.* 2020;65(5):1436-1444. doi:10.1007/s10620-019-05867-1
80. Ananthakrishnan AN, Cagan A, Cai T, et al. Comparative effectiveness of infliximab and adalimumab in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis.* 2016;22(4):880-885. doi:10.1097/MIB.0000000000000754
81. Kaniewska M, Rosołowski M, Rydzewska G. Efficacy, tolerability, and safety of infliximab

- biosimilar in comparison to originator biologic and adalimumab in patients with Crohn disease. *Pol Arch Intern Med.* 2019;129(7-8):484-489. doi:10.20452/pamw.14901
82. Ma C, Huang V, Fedorak DK, et al. Crohn's disease outpatients treated with adalimumab have an earlier secondary loss of response and requirement for dose escalation compared to infliximab: A real life cohort study. *J Crohns Colitis.* 2014;8(11):1454-1463. doi:10.1016/j.crohns.2014.05.007
  83. Riis Å, Martinsen TC, Waldum HL, Fossmark R. Clinical experience with infliximab and adalimumab in a single-center cohort of patients with Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol.* 2012;47(6):649-657. doi:10.3109/00365521.2012.672591
  84. Singh S, Heien HC, Sangaralingham LR, et al. Comparative Effectiveness and Safety of Anti-Tumor Necrosis Factor Agents in Biologic-Naive Patients With Crohn's Disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology.* 2016;14(8):1120-1129.e6. doi:https://doi.org/10.1016/j.cgh.2016.03.038
  85. Singh S, Murad MH, Fumery M, et al. Comparative efficacy and safety of biologic therapies for moderate-to-severe Crohn's disease: a systematic review and network meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2021;6(12):1002-1014. doi:10.1016/S2468-1253(21)00312-5
  86. Hyams J, Damaraju L, Blank M, et al. Induction and maintenance therapy with infliximab for children with moderate to severe ulcerative colitis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2012;10(4):391-9.e1. doi:10.1016/j.cgh.2011.11.026
  87. Hyams JS, Griffiths A, Markowitz J, et al. Safety and efficacy of adalimumab for moderate to severe Crohn's disease in children. *Gastroenterology.* 2012;143(2):365-74.e2. doi:10.1053/j.gastro.2012.04.046
  88. Rheenen H Van, van Rheenen PF. Long-term efficacy of anti-tumor necrosis factor agents in pediatric luminal crohn's disease: A systematic review of real-world evidence studies. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr.* 2020;23(2). doi:10.5223/pghn.2020.23.2.121
  89. Ricciuto A, Aardoom M, Orlanski-Meyer E, et al. Predicting Outcomes in Pediatric Crohn's Disease for Management Optimization: Systematic Review and Consensus Statements From the Pediatric Inflammatory Bowel Disease-Ahead Program. *Gastroenterology.* 2021;160(1):403-436.e26. doi:https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.07.065
  90. Kugathasan S, Denson LA, Walters TD, et al. Prediction of complicated disease course for children newly diagnosed with Crohn's disease: a multicentre inception cohort study. *The Lancet.* 2017;389(10080):1710-1718. doi:10.1016/S0140-6736(17)30317-3

91. Bank 2015.
92. Romeo AC, Ventimiglia M, Dipasquale V, et al. Effectiveness and safety of biologics in pediatric inflammatory bowel disease: Real-life data from the Sicilian Network. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2020;44(2):223-229. doi:<https://doi.org/10.1016/j.clinre.2019.05.008>
93. Schultheiss JPD, Mahmoud R, Louwers JM, et al. Loss of response to anti-TNF $\alpha$  agents depends on treatment duration in patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2021;54(10):1298-1308. doi:10.1111/apt.16605
94. Nuti F, Civitelli F, Bloise S, et al. Prospective evaluation of the achievement of mucosal healing with anti-TNF- $\alpha$  therapy in a paediatric Crohn's disease cohort. *J Crohns Colitis*. 2016;10(1):5-12. doi:10.1093/ecco-jcc/jjv126
95. Schreiber S, Ben-Horin S, Leszczyszyn J, et al. Randomized Controlled Trial: Subcutaneous vs Intravenous Infliximab CT-P13 Maintenance in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*. 2021;160(7):2340-2353. doi:<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2021.02.068>
96. Bittner B, Richter W, Schmidt J. Subcutaneous Administration of Biotherapeutics: An Overview of Current Challenges and Opportunities. *BioDrugs*. 2018;32(5):425-440. doi:10.1007/s40259-018-0295-0
97. Sandborn WJ, Baert F, Danese S, et al. Efficacy and Safety of Vedolizumab Subcutaneous Formulation in a Randomized Trial of Patients With Ulcerative Colitis. *Gastroenterology*. 2020;158(3):562-572.e12. doi:<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.08.027>
98. Baumgart DC, Le Berre C. Newer Biologic and Small-Molecule Therapies for Inflammatory Bowel Disease. *New England Journal of Medicine*. 2021;385(14):1302-1315. doi:10.1056/NEJMra1907607
99. Vande Casteele N, Ferrante M, Van Assche G, et al. Trough Concentrations of Infliximab Guide Dosing for Patients With Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*. 2015;148(7):1320-1329.e3. doi:<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.02.031>
100. Papamichael K, Juncadella A, Wong D, et al. Proactive Therapeutic Drug Monitoring of Adalimumab Is Associated with Better Long-term Outcomes Compared with Standard of Care in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *J Crohns Colitis*. 2019;13(8):976-981. doi:10.1093/ecco-jcc/jjz018
101. Assa A, Matar M, Turner D, et al. Proactive Monitoring of Adalimumab Trough Concentration Associated With Increased Clinical Remission in Children With Crohn's Disease Compared With Reactive Monitoring. *Gastroenterology*. 2019;157(4):985-996.e2.

doi:10.1053/j.gastro.2019.06.003

102. Nguyen NH, Solitano V, Vuuyuru SK, et al. Proactive Therapeutic Drug Monitoring Versus Conventional Management for Inflammatory Bowel Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Gastroenterology*. Published online 2022. doi:10.1053/j.gastro.2022.06.052
103. D'Haens G, Vermeire S, Lambrecht G, et al. Increasing Infliximab Dose Based on Symptoms, Biomarkers, and Serum Drug Concentrations Does Not Increase Clinical, Endoscopic, and Corticosteroid-Free Remission in Patients With Active Luminal Crohn's Disease. *Gastroenterology*. 2018;154(5):1343-1351.e1. doi:10.1053/j.gastro.2018.01.004
104. Castele N Vande, Khanna R, Levesque BG, et al. The relationship between infliximab concentrations, antibodies to infliximab and disease activity in Crohn's disease. *Gut*. 2015;64(10):1539-1545. doi:10.1136/gutjnl-2014-307883
105. Frédéric Colombel J, Sandborn WJ, Reinisch W, et al. *Infliximab, Azathioprine, or Combination Therapy for Crohn's Disease A Bs Tr Ac t.*; 2010.
106. Matsumoto T, Motoya S, Watanabe K, et al. Adalimumab monotherapy and a combination with azathioprine for Crohn's disease: A prospective, randomized trial. *J Crohns Colitis*. 2016;10(11):1259-1266. doi:10.1093/ecco-jcc/jjw152
107. Colombel JF, Reinisch W, Mantzaris GJ, et al. Randomised clinical trial: Deep remission in biologic and immunomodulator naïve patients with Crohn's disease - A SONIC post hoc analysis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015;41(8):734-746. doi:10.1111/apt.13139
108. Yarur AJ, Kubiliun MJ, Czul F, et al. Concentrations of 6-Thioguanine Nucleotide Correlate With Trough Levels of Infliximab in Patients With Inflammatory Bowel Disease on Combination Therapy. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2015;13(6):1118-1124.e3. doi:https://doi.org/10.1016/j.cgh.2014.12.026
109. Grossi V, Lerer T, Griffiths A, et al. Concomitant Use of Immunomodulators Affects the Durability of Infliximab Therapy in Children With Crohn's Disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2015;13(10):1748-1756. doi:https://doi.org/10.1016/j.cgh.2015.04.010
110. Berni Canani R, Terrin G, Borrelli O, et al. Short- and long-term therapeutic efficacy of nutritional therapy and corticosteroids in paediatric Crohn's disease. *Digestive and Liver Disease*. 2006;38(6):381-387. doi:https://doi.org/10.1016/j.dld.2005.10.005
111. Lambert B, Lemberg DA, Leach ST, Day AS. Longer-term outcomes of nutritional management of Crohn's disease in children. *Dig Dis Sci*. 2012;57(8):2171-2177. doi:10.1007/s10620-012-2232-2

112. Riello L, Talbotec C, Garnier-Lengliné H, et al. Tolerance and efficacy of azathioprine in pediatric Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2011;17(10):2138-2143. doi:10.1002/ibd.21612
113. Levine A, Turner D, Gik TP, et al. Comparison of outcomes parameters for induction of remission in new onset pediatric Crohn's disease: Evaluation of the porto IBD group "growth relapse and outcomes with therapy" (GROWTH CD) study. *Inflamm Bowel Dis.* 2014;20(2):278-285. doi:10.1097/01.MIB.0000437735.11953.68
114. Rutgeerts P, Geboes K, Vantrappen G, Kerremans R, Coenegrachts JL, Coremans G. *Natural History of Recurrent Crohn's Disease at the Ileocolonic Anastomosis after Curative Surgery.* Vol 25.; 1984.
115. Qiu Y, Mao R, Chen BL, et al. Fecal calprotectin for evaluating postoperative recurrence of Crohn's disease: A meta-analysis of prospective studies. *Inflamm Bowel Dis.* 2015;21(2):315-322. doi:10.1097/MIB.0000000000000262
116. Hukkinen M, Pakarinen MP, Merras-Salmio L, Koivusalo A, Rintala R, Kolho KL. Fecal calprotectin in the prediction of postoperative recurrence of Crohn's disease in children and adolescents. *J Pediatr Surg.* 2016;51(9):1467-1472. doi:https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2016.01.017
117. Sridhar S, Maltz RM, Boyle B, Kim SC. Dermatological Manifestations in Pediatric Patients with Inflammatory Bowel Diseases on Anti-TNF Therapy. *Inflamm Bowel Dis.* 2018;24(9):2086-2092. doi:10.1093/ibd/izy112
118. Fréling E, Baumann C, Cuny JF, et al. Cumulative incidence of, risk factors for, and outcome of dermatological complications of Anti-TNF therapy in inflammatory bowel disease: A 14-year experience. *American Journal of Gastroenterology.* 2015;110(8):1186-1196. doi:10.1038/ajg.2015.205
119. Tillack C, Ehmann LM, Friedrich M, et al. Anti-TNF antibody-induced psoriasiform skin lesions in patients with inflammatory bowel disease are characterised by interferon- $\gamma$ -expressing Th1 cells and IL-17A/IL-22-expressing Th17 cells and respond to anti-IL-12/IL-23 antibody treatment Inflammatory bowel disease. *Gut.* 2014;63:567-577. doi:10.1136/gutjnl-2012
120. Love KA, Henderson P, Garrick V, Barclay AR, McGrogan P, Russell RK. Letter: Epstein-Barr virus status may be especially important in paediatric IBD populations. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39(2):231-232. doi:https://doi.org/10.1111/apt.12558
121. Linton MS, Kroeker K, Fedorak D, Dieleman L, Fedorak RN. Prevalence of Epstein-Barr Virus

- in a population of patients with inflammatory bowel disease: A prospective cohort study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013;38(10):1248-1254. doi:10.1111/apt.12503
122. Balfour HH, Sifakis F, Sliman JA, Knight JA, Schmeling DO, Thomas W. Age-Specific prevalence of epstein-barr virus infection among individuals aged 6-19 years in the United States and factors affecting its acquisition. *Journal of Infectious Diseases.* 2013;208(8):1286-1293. doi:10.1093/infdis/jit321
  123. Dowd JB, Palermo T, Brite J, McDade TW, Aiello A. Seroprevalence of Epstein-Barr Virus Infection in U.S. Children Ages 6-19, 2003-2010. *PLoS One.* 2013;8(5). doi:10.1371/journal.pone.0064921
  124. Lavagna A, Bergallo M, Daperno M, et al. Infliximab and the risk of latent viruses reactivation in active Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2007;13(7):896-902. doi:10.1002/ibd.20131
  125. Stevens SJC, Verschuuren EAM, Pronk I, et al. *Frequent Monitoring of Epstein-Barr Virus DNA Load in Unfractionated Whole Blood Is Essential for Early Detection of Posttransplant Lymphoproliferative Disease in High-Risk Patients.*; 2001. www.bloodjournal.org
  126. Werkstetter KJ, Ullrich J, Schatz SB, Prell C, Koletzko B, Koletzko S. Lean body mass, physical activity and quality of life in paediatric patients with inflammatory bowel disease and in healthy controls. *J Crohns Colitis.* 2012;6(6):665-673. doi:10.1016/j.crohns.2011.11.017
  127. Werkstetter KJ, Schatz SB, Alberer M, Filipiak-Pittroff B, Koletzko S. Influence of exclusive enteral nutrition therapy on bone density and geometry in newly diagnosed pediatric crohn's disease patients. *Ann Nutr Metab.* 2013;63(1-2):10-16. doi:10.1159/000350369
  128. Bechtold S, Alberer M, Arenz T, et al. Reduced muscle mass and bone size in pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2010;16(2):216-225. doi:10.1002/ibd.21021
  129. Rauch F, Neu CM, Wassmer G, et al. *Muscle Analysis by Measurement of Maximal Isometric Grip Force: New Reference Data and Clinical Applications in Pediatrics.*; 2002.
  130. Soucek O, Matyskova J, Anliker E, et al. The muscle-bone interaction in Turner syndrome. *Bone.* 2015;74:160-165. doi:https://doi.org/10.1016/j.bone.2015.01.017
  131. Tsampalieros A, Berkenstock MK, Zemel BS, et al. Changes in trabecular bone density in incident pediatric Crohn's disease: A comparison of imaging methods. *Osteoporosis International.* 2014;25(7):1875-1883. doi:10.1007/s00198-014-2701-x
  132. Griffin LM, Thayu M, Baldassano RN, et al. Improvements in bone density and structure during anti-TNF- $\alpha$  therapy in pediatric Crohn's disease. *Journal of Clinical Endocrinology and*

*Metabolism*. 2015;100(7):2630-2639. doi:10.1210/jc.2014-4152

133. Dubner SE, Shults J, Baldassano RN, et al. Longitudinal Assessment of Bone Density and Structure in an Incident Cohort of Children With Crohn's Disease. *Gastroenterology*. 2009;136(1):123-130. doi:10.1053/j.gastro.2008.09.072
134. Angeles Vázquez M, Lopez E, José Montoya M, Giner M, Pérez-Temprano R, Pérez-Cano R. *Vertebral Fractures in Patients with Inflammatory Bowel Disease COMPARED with a Healthy Population: A Prospective Case-Control Study.*; 2012. <http://www.biomedcentral.com/1471-230X/12/47>
135. Lin S, Kennedy NA, Saifuddin A, et al. Antibody decay, T cell immunity and breakthrough infections following two SARS-CoV-2 vaccine doses in inflammatory bowel disease patients treated with infliximab and vedolizumab. *Nat Commun*. 2022;13(1). doi:10.1038/s41467-022-28517-z