

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Genetické aspekty Crohnovy choroby
Drozdová Tereza

Bakalářská práce
2024

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Tereza Drozdová**
Osobní číslo: **C21160**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Genetické aspekty Crohnovy choroby**
Téma práce anglicky: **Genetic Aspects of Crohn's Disease**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Vypracujte literární rešerši na téma genetické aspekty Crohnovy choroby.
2. V úvodu práce se zaměřte na popis Crohnovy choroby (příznaky a diagnostika nemoci), dále popište možnosti léčby této nemoci a v závěrečné kapitole se věnujte možným genetickým aspektům u Crohnovy choroby.
3. Pro vytvoření kompilačního textu využijte elektronických vědeckých databází, jako jsou např. *NCBI/ Pubmed, ScienceDirect, Web of Science, Scopus* apod. Jako zdroje využijte zejména odborné články publikované v recenzovaných zahraničních časopisech.

Rozsah pracovní zprávy: 25 s.
Rozsah grafických prací: dle potřeby
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **RNDr. Karel Královec, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd
Konzultant bakalářské práce: **Ing. Lucie Michalcová**
Katedra biologických a biochemických věd
Datum zadání bakalářské práce: **22. prosince 2023**
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2024**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 29. února 2024

Prohlašuji:

Práci s názvem Genetické aspekty Crohnovy choroby jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 5. června 2024

Drozdová Tereza v.r.

Poděkování:

Ráda bych touto cestou vyjádřila poděkování vedoucímu mé bakalářské práce RNDr. Karlu Královcovi, Ph.D. a konzultantce Ing. Lucii Michalcové za odborné připomínky a vřelý přístup při vypracování této práce. V neposlední řadě nesmím zapomenout na velké poděkování mé rodině za bezmeznou podporu po celou dobu studia.

Anotace

Crohnova choroba je chronickým zánětlivým onemocněním trávicího traktu, které má významný dopad na kvalitu života pacientů a vyžaduje komplexní přístup k diagnostice a léčbě. Tato bakalářská práce poskytuje podrobný přehled aktuálních diagnostických metod, léčebných strategií a genetických faktorů spojených s Crohnovou chorobou. Diskutuje se o různých klinických projevech onemocnění, včetně fází remise a vzplanutí, a jejich vztahu k prognóze a léčbě. Dále se zkoumají faktory ovlivňující výskyt Crohnovy choroby, včetně genetických predispozic, enviromentálních faktorů a imunitní dysregulace. S ohledem na stále rostoucí počet případů Crohnovy choroby je důležité nejen léčit samotné příznaky, ale také identifikovat a adresovat hlavní genetické faktory a rizikové proměnné, které mohou ovlivnit její vývoj a průběh. Tato práce se zaměřuje na integraci poznatků z genetického výzkumu do klinické praxe a na využití nových diagnostických a terapeutických strategií ke zlepšení péče o pacienty s Crohnovou chorobou.

Klíčová slova

Crohnova choroba, chronický zánět, léčba, diagnostika, NOD2, markery

Title

Genetic Aspects of Crohn's Disease

Annotation

Crohn's disease is a chronic inflammatory disorder of the digestive tract that significantly impacts patients quality of life and requires a comprehensive approach to diagnosis and treatment. This bachelor's thesis provides a detailed overview of current diagnostic methods, treatment strategies, and genetic factors associated with Crohn's disease. It discusses various clinical manifestations of the disease, including phases of remission and flare-ups, and their relationship to prognosis and treatment. Additionally, it examines factors influencing the occurrence of Crohn's disease, including genetic predispositions, environmental factors, and immune dysregulation. Given the continuously increasing number of cases of Crohn's disease, it is important not only to treat the symptoms but also to identify and address key genetic factors and risk variables that may affect its development and course. This work focuses on integrating insights from genetic research into clinical practice and utilizing new diagnostic and therapeutic strategies to improve the care of patients with Crohn's disease.

Keywords

Crohn's disease, chronic inflammation, treatment, diagnosis, NOD2, markers

Obsah

Úvod	17
1. Crohnova choroba	18
1.1. Epidemiologie	18
1.2. Klinické příznaky	19
1.3. Patogeneze.....	20
1.3.1. Srovnání terminálního <i>ilea</i> a tlustého střeva	21
1.4. Rizikové faktory.....	22
1.5. Diagnostika	23
1.5.1. Klinické vyšetření.....	23
1.5.2. Laboratorní testy.....	24
1.5.3. Endoskopie.....	24
1.5.4. Histologické vyšetření	25
1.5.5. Diagnostické zobrazení.....	27
2. Léčba Crohnovy choroby	28
2.1. Medikamentózní léčba	29
2.1.1. Aminosalicyláty	29
2.1.1.1. Nežádoucí účinky aminosalicylátů.....	30
2.1.2. Kortikosteroidy.....	31
2.1.2.1. Nežádoucí účinky kortikoidů.....	32
2.1.3. Imunosupresivní léčba	32
2.1.3.1. Thiopuriny.....	33
2.1.3.2. Methotrexát.....	34
2.1.4. Antibiotika.....	35
2.2. Biologická léčba	35
2.2.1. Látky blokující TNF- α	36
2.2.2. Anti-integrinové látky.....	37
2.3. Fekální mikrobiální transplantace.....	38
2.4. Chirurgická léčba.....	39
2.5. Nutriční léčba.....	40
3. Role genetiky u Crohnovy choroby	42

3.1.	Varianty predispozičních genů CCH	43
3.1.1.	<i>NOD2</i>	44
3.1.2.	<i>IL23R</i>	45
3.1.3.	<i>ATG16L1</i>	48
3.1.4.	<i>IRGM</i>	49
3.1.5.	<i>LRRK2</i>	50
3.1.6.	<i>HLA</i>	50
3.1.7.	<i>STAT3</i>	51
3.1.8.	<i>JAK2</i>	52
3.2.	Úloha genů v diagnostice CCH	52
3.2.1.	Serologické markery	53
3.2.2.	Genetické testování.....	55
3.2.2.1.	Celoexomové sekvenování (WES).....	55
3.2.2.2.	Celogenomové sekvenování (WGS).....	56
4.	Závěr.....	58
5.	Použitá literatura	59

Seznam ilustrací

Obrázek 1: Chování CCH podle montrealské klasifikace	21
Obrázek 2: Mikroskopická fotografie sliznice s hlubokými štěrbinovými vředy	26
Obrázek 3: Mikroskopická fotografie sliznice s granulomy	26
Obrázek 4: Studijní rodokmen	47
Obrázek 5: Kombinace protilátek ASCA/p-ANCA u CCH a UC	54

Seznam zkratek

5-ASA	5-aminosalicylová kyselina
A	Adenin
AA	Homozygotní genotyp (A – Adenin)
ACCA	Protilátky proti chitobiosidové sacharidové antigenové složce
ACG	Americké kolegium gastroenterologů
AG	Heterozygotní genotyp
ALCA	Anti-luminální cytoplazmatická protilátka
AMCA	Protilátky proti mannobiosidové sacharidové antigenové složce
AMP	Antimikrobiální peptidy
AMPK	Activated protein kinase
Anti-CBir1	Anti-Caudatein Ira RNA
Anti-OmpC	Anti-Outer membrane protein C
Anti-TNF	Anti-tumor nekrotizující faktor
<i>Arg702Trp</i>	Arginine 702 Tryptophan
ASCA	Protilátky proti <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>ATG16L1</i>	Autophagy related 16 like 1
<i>ATG5</i>	Autophagy related protein 5
B-buňky	Odkazuje se na B-lymfocyty (<i>Bursa</i> – lalok)
CAGI2	Kritické hodnocení interpretace genomu 2
c-ANCA	Cytoplazmatická anti-neutrofilní cytoplazmatická protilátka
<i>CARD15</i>	Caspase recruitment domain family member 15
CD14	Skupina diference 14 (cluster of differentiation 14)
CD4	Skupina diference 4 (cluster of differentiation 4)

CD8	Skupina difference 8 (cluster of differentiation 8)
CDED	Dieta vylučování pro Crohnovu chorobu
CD-TREAT	Crohnova choroba léčená stravou
CE	Kapslová endoskopie
CCH	Crohnova choroba
COR	Spojovací C-konec
CT	Počítačová tomografie
CTE	Počítačová tomografie enterografie
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
<i>ECM1</i>	Extracellular matrix protein 1
EEN	Exkluzivní enterální výživa
FMT	Fekální mikrobiální transplantace
G	Guanin
<i>G149R</i>	Glycin 149 Arginin
<i>G2019S</i>	Glycine 2019 serine
GG	Homozygotní genotyp (G – Guanin)
GI	Gastrointestinální
GIT	Gastrointestinální trakt
<i>Gly908Arg</i>	Glycine 908 Arginine
<i>GPR65G</i>	Protein-coupled receptor 65
GTPáza	Guanosin-trifosfátáza
GWAS	Studie asociací na úrovni celého genomu
HiSeq	Vysokokapacitní sekvenování
<i>HLA</i>	Human leukocyte antigen

<i>HLA-A*02</i>	Mutace genu <i>HLA</i>
<i>HLA-A02:01</i>	Mutace genu <i>HLA</i>
<i>HLA-A02:07</i>	Mutace genu <i>HLA</i>
<i>HLA-A2</i>	Mutace genu <i>HLA</i>
<i>HLA-A24:02</i>	Mutace genu <i>HLA</i>
<i>HLA-B07:02</i>	Mutace genu <i>HLA</i>
<i>HLA-DPA1</i>	Human leukocyte antigen DP α 1
IBD	Zánětlivá střevní onemocnění
IC	Ileokoloskopie
<i>IFI1</i>	Interferon-inducible protein 1
IgA	Imunoglobulin A
IgG	Imunoglobulin G
IL-1	Interleukin 1
IL-10	Interleukin 10
IL-12	Interleukin 12
IL-17	Interleukin 17
IL-2	Interleukin 2
IL-22	Interleukin 22
IL-23	Interleukin 23
<i>IL23R</i>	Interleukin 23 receptor
IL-6	Interleukin 6
IL-8	Interleukin 8
<i>IRGM</i>	Immunity related GTPase family M protein
IUS	Střevní ultrazvuk

<i>JAK2</i>	Janus kinase 2
KD	Knockdown
<i>Leu1007fsinsC</i>	Leucine 1007 frameshift insertion C
<i>LRG-47</i>	Leucine rich α 2 glycoprotein 1
<i>LRRK2</i>	Leucine rich repeat kinase 2
MaRIA score	Magnetic Resonance Index of Activity
MDP	Peptidoglykan muramyl dipeptid
MPN	Myeloproliferativní neoplazie
MRE	Magnetická rezonanční enterografie
MTX	Methotrexát
<i>MUC2</i>	Mucin 2
<i>N2081D</i>	Asparagine 2081 to Aspartic acid
NGT	Nazogastrický tubus
NK	Natural killer buňky
NKT	Natural killer T-buňky
<i>NKX2-3</i>	NK2 Homeobox 3
<i>NOD2</i>	Nucleotide binding oligomerization domain containing 2
NSAID	Nesteroidní protizánětlivé léky
NSQIP	Americký chirurgický kvalitativní zlepšovací program
<i>p.Arg381Gln</i>	Protein Arginine 381 to Glutamine
p-ANCA	Perinukleární anti-neutrofilní cytoplazmatická protilátka
PEN	Částečná enterální výživa
RNA	Ribonukleová kyselina
ROC	Ras of complex

<i>rs10065172</i>	Mutace genu <i>IRGM</i>
<i>rs13361189</i>	Mutace genu <i>IRGM</i>
<i>rs4958847</i>	Mutace genu <i>IRGM</i>
SASP	Sulfasalazin
SNP	Jednonukleotidový polymorfismus
SNV	Jednonukleotidová varianta
<i>SOCS3</i>	Suppressor of cytokine signaling 3
SONIC	Studie biologické a imunomodulátorové terapie u pacientů s CCH
SP	Sulfapyridin
<i>STAT3</i>	Signal transducer and activator transcription 3
<i>STAT4</i>	Signal transducer and activator transcription 4
T helper	<i>Thymus</i> helper
T lymfocyt	(<i>Thymus</i> – brzlík) lymfocyt
<i>T300A</i>	Threonine 300 Alanine
T-buňky	Odkazuje se na T-lymfocyty (<i>Thymus</i> - brzlík)
TGNP	Thioguanosin
TH1	T helper 1
TH17	T helper 17
Th17	T lymfocyty produkující interleukin 17
TNF(α)	Tumor nekrotizující faktor (<i>alfa</i>)
<i>Tyk2</i>	Tyrosine kinase 2
UC	Ulcerózní kolitida
USA	Spojené státy americké
<i>V617F</i>	Valine 617 Phenylalanine

WES	Celoexomové sekvenování
WGS	Celogenomové sekvenování

Úvod

Crohnova choroba je chronické zánětlivé onemocnění trávicího traktu, které postihuje především tenké a tlusté střevo. Patří do skupiny idiopatických střevních zánětů spolu s ulcerózní kolitidou. Crohnova choroba se může projevit bolestmi břicha, chronickými průjmy, úbytkem hmotnosti, krvácením z konečníku a únavou. Onemocnění se typicky vyskytuje ve fázích remise a vzplanutí, přičemž má tendenci se v průběhu času zhoršovat. V závažnějších případech může dojít ke vzniku striktur, abscesů, trhlín a píštělí, což často vyžaduje chirurgický zákrok. Přesná etiologie tohoto střevního onemocnění není dosud zcela objasněna, nicméně je známo, že na patogenezi Crohnovy choroby se ve většině případů podílí více faktorů. Udává se, že rizikové faktory, jako je užívání antibiotik, perorální antikoncepce, kouření cigaret a pravidelné užívání nesteroidních protizánětlivých léků zvyšuje pravděpodobnost vzniku choroby.

Diagnóza Crohnovy choroby není vždy jednoduchá a vyžaduje kompletní posouzení na základě klinické anamnézy, fyzikálního vyšetření a doplňkových diagnostických testů. Jedná se o testy sérologické, fekální biomarkery, průřezové a endoskopické zobrazování a histologické vyšetření bioptických vzorků. Léčba je zaměřena na zmírnění symptomů, indukci, udržení remise a prevenci komplikací pomocí farmakologické, medikamentózní a biologické léčby. V některých případech, kdy farmakologická léčba selže nebo dojde ke komplikacím, může být nezbytný chirurgický zákrok.

Genetický výzkum hraje klíčovou roli v pochopení mechanismů vzniku a průběhu Crohnovy choroby. Studie ukazují, že genetické faktory významně přispívají ke vzniku onemocnění. Dosud bylo identifikováno více než 200 genetických lokusů, které jsou spojeny s Crohnovou chorobou a slouží k její predikci. Mezi nejvýznamnější geny patří *NOD2*, *ATG16L1* a *IRGM*. Dále mohou být genetické faktory využity v diagnostice Crohnovy choroby. Využívají se k tomu laboratorní markery skládající se ze serologických a genetických testů.

Cílem mé bakalářské práce je shrnout a popsat diagnostické metody pro predikci Crohnovy choroby, určit nejvhodnější léčbu pro různé závažné stupně onemocnění, dále určit a popsat důležité geny, serologické markery a genetické testy sloužící k predikci a diagnostice Crohnovy choroby.

1. Crohnova choroba

Crohnova choroba (CCH) je chronické zánětlivé onemocnění postihující gastrointestinální trakt. Je také progresivním onemocněním, které vede k poškození střev a invaliditě. Zánět se může vyskytnout v kterékoliv oblasti trávicího traktu od úst až po konečník, nejběžnější však je poškození tlustého střeva a terminálního *ile*a (1).

Přirozený průběh onemocnění zahrnuje období remise a období vzplanutí. Během remise mohou příznaky onemocnění ustoupit nebo se výrazně zlepšit. V období vzplanutí mohou symptomy opět zesílit. Tyto cykly jsou většinou nepředvídatelné a u každého pacienta odlišné. V rámci Crohnovy choroby rozlišujeme různé fenotypy onemocnění (zánětlivé, zužující a penetrující). Pacienti mohou mít jeden nebo více těchto fenotypů onemocnění v průběhu nemoci a ve velmi početných případech pacienti postupují ze zánětlivého fenotypu do zužujícího nebo penetrujícího (22).

Patogeneze Crohnovy choroby je stále nejasná, ale předpokládá se, že může být výsledkem složité souhry mezi genetickou náchylností, faktory prostředí a změnami střevní mikroflóry (1). Bylo prokázáno, že dané faktory zvyšují riziko onemocnění a vedou k aberantní střevní imunitní reakci, která je pro toto onemocnění charakteristická (3). Typické projevy jsou bolesti břicha, chronický průjem, úbytek hmotnosti a únava (1). Až přibližně 20 % pacientů trpí během života klinicky zjevnými strikturami. Strikтуры jsou hlavní příčinou hospitalizace a operace u pacientů s Crohnovou chorobou. Přestože existuje několik možností léčby striktur, neexistuje v současné době žádná antifibrotická léčba, která by přímo řešila fibrózu a potenciálně změnila přirozený průběh CCH (6). Z těchto důvodů dokáže choroba vážně ovlivnit kvalitu života pacientů, a to jak po fyzické, psychické, tak i po stránce sociální a pracovní. Vzhledem k tomu, že se toto onemocnění stále častěji objevuje v běžné klinické praxi, je nezbytná včasná diagnóza, po níž následuje vhodná terapeutická strategie, aby se předešlo vzniku komplikací (2).

1.1. Epidemiologie

Do druhé poloviny 20. století byla Crohnova choroba v Americe a Evropě považována za vzácné onemocnění. Trvalý nárůst výskytu Crohnovy choroby se v severní Evropě a Severní Americe zaznamenal až po druhé světové válce. Naopak v Africe a Jižní Americe je onemocnění nadále vzácné.

Existuje mnoho rozdílů ve výskytu a prevalenci Crohnovy choroby na základě geografické oblasti, prostředí a etnických skupin (4). Výskyt i prevalence jsou vyšší ve vyspělých zemích než v rozvojových zemích a v městských oblastech než na venkově. Nejvyšší roční výskyt je v Kanadě (20,2 na 100 000 obyvatel), Novém Zélandě (16,5 na 100 000 obyvatel) a Austrálii (29,3 na 100 000 obyvatel). Prevalence je nejvyšší v Evropě (322 na 100 000 obyvatel), Kanadě (319 na 100 000 obyvatel) a ve Spojených státech amerických, nebo-li USA (214 na 100 000 obyvatel) (1). Výskyt Crohnovy choroby nejčastěji postihuje bělochy, zejména typy aškenázského židovského původu. Nicméně během posledního desetiletí se incidence zvyšuje jak v asijské, tak v hispánské populaci. Vrchol výskytu je u lidí ve věku mezi 20. - 40. rokem života bez rozdílu pohlaví (4).

Postupné změny v epidemiologii jsou globální výzvou pro diagnostiku onemocnění, poskytování zdravotní péče a prevenci nemoci. V nově industrializovaných zemích (např. v Asii) se na zvyšujícím se výskytu Crohnovy choroby odráží vliv západního životního stylu, zejména stravy a urbanizace. Kromě toho studie ukázaly, že migranti, kteří přechází z nízké prevalence do oblasti s vysokou prevalencí, jsou vystaveni zvýšenému riziku rozvoje Crohnovy choroby a že toto riziko je nejvýraznější pro děti migrantů (5).

1.2. Klinické příznaky

Typickými příznaky u pacientů jsou nejčastěji chronické průjmy, ale u některých případů se tento příznak nemusí objevit. Častá je bolest břicha lokalizovaná v pravém dolním kvadrantu, která se zhoršuje postprandiálně (po jídle). Únava je také velmi převládajícím příznakem Crohnovy choroby a předpokládá se, že vzniká v důsledku řady faktorů, včetně samotného zánětu, anémie nebo různých nedostatků vitamínů a minerálů (7).

U pacientů s postižením tlustého střeva dochází ke krvácení z konečníku nebo krvavému průjmu. Většinou dochází ke zvyšující se horečce při podezření na septické komplikace (celková reakce organismu na infekci). Přibližně u třetiny pacientů dochází k tomu, že zánětlivé účinky CCH se mohou rozšířit mimo střevní lumen, což způsobuje abscesy, trhliny nebo píštěle a mohou ovlivnit i orgány mimo střevní trakt (1).

Mezi extraintestinální projevy Crohnovy choroby patří artropatie (axiální a periferní postižení kloubu), hepatobiliární onemocnění (primární sklerotizující cholangitida), oční projevy a také projevy dermatologické. Kůže je jedna z nejčastěji postižených orgánů a mohou být přítomny kožní projevy nemoci u více než 10 % pacientů (7). Pacienti mohou

mít extraintestinální nálezy dříve, než se projeví gastrointestinální symptomy (5). Mezi méně časté komplikace patří metabolické onemocnění kostí, například osteonekróza, cholelitiáza a nefrolitiáza. S Crohnovou chorobou je spojena řada imunitně podmíněných onemocnění, včetně astmatu, chronické bronchitidy, perikarditidy, celiakie a roztroušené sklerózy (7).

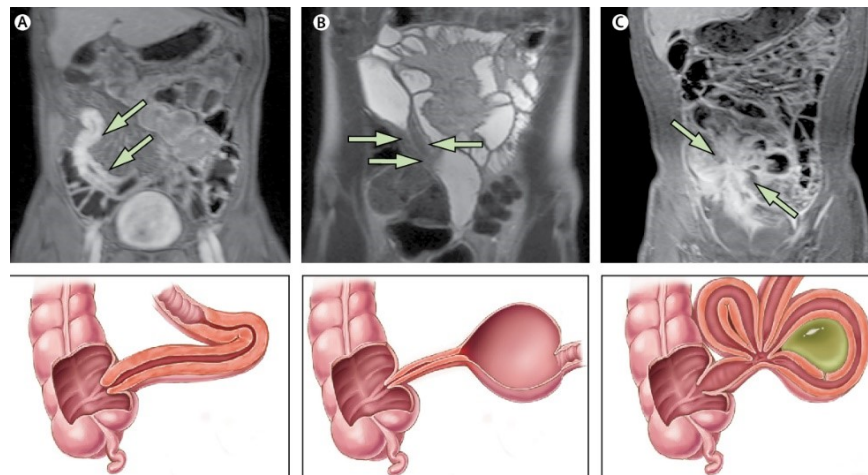
1.3. Patogeneze

Patogeneze Crohnovy choroby je založena na zánětu tkáně, který je způsoben neomezenou imunitní reakcí proti lumenálním bakteriálním antigenům. Imunitní buňky jako CD4 T-buňky, CD8 T-buňky, B-buňky, CD14 monocyty a přirození zabíječi se účastní tohoto procesu a infiltrují střeva pacientů s CCH (11). Neutrofilní zánět se nachází v *lamina propria* a v kryptách nepoškozeného povrchového epitelu, spolu s erozemi, vředy a píštělemi. Neutrofilní zánět se obvykle vyskytuje pouze v hlubokých kryptách nebo alespoň v 50 % krypt (85). Produkce nových krypt je dosažena jejich větvením. Začíná u základny, větvení dále postupuje směrem nahoru, dokud nejsou nakonec vygenerovány dvě identické krypty stejné délky a tvaru (86).

Striktury neboli uzávěry jsou typickým znakem dlouhodobého poškození střev způsobeného zánětlivými i nezápětlivými mechanismy (6). Ke tvorbě striktur dochází přibližně u 10 % pacientů s CCH. U jedné třetiny pacientů může striktura vzniknout během prvních deseti let vývoje onemocnění. Dochází k tomu v důsledku chronického transmuralního zánětu, který způsobuje tkáňovou remodelaci, proliferaci mezenchymálních buněk, fibrózu a následně zužuje střevo. Nejčastější místa výskytu striktur u CCH jsou terminální *ileum*, chirurgická anastomóza, ileocekální chlopeň a rektosigma. Fibrotické striktury nereagují na protizánětlivou léčbu. V tomto bodě pacienti podstupují operaci s resekci postiženého střevního segmentu (18).

Dalším, velmi důležitým projevem, je tvorba perianálních píštělí, také známé jako anální furunkulóza. Jedná se o bolestivé sinusové trakty nebo vředy, které se spontánně tvoří kolem řitního otvoru (20). Patogenní bakterie vstupující do střevní sliznice spouští zánětlivý proces, který způsobuje zvýšenou expresi cytokinů a transformaci buněk střevního epitelu na invazivní mezenchymální buňky (myofibroblasty), což vede ke vzniku píštěle (21). Na výsledek léčby píštělí má zásadní vliv přítomnost proktitidy. Aktivní proktitida může přispět i k tvorbě píštělí a zhoršenému hojení tím, že způsobuje anebo udržuje zánět a tkáňovou destrukci. Anatomie píštěle má rovněž prognostický význam, neboť je méně pravděpodobné,

že se komplexní píštěle zhojí spíše než píštěle jednoduché (19). Crohnova choroba je dále spojená s enterovezikálními, enteroenterálními, enterokutánními a enterovaginálními píštělemi (8). Klinický obraz pacienta závisí na lokaci onemocnění a závažnosti zánětu (Obrázek 1).



Obrázek 1: Chování CCH podle montrealské klasifikace (1).

V levém horním rohu (A) můžeme vidět pomocí magnetické rezonanční enterografie zesílení v distálním *ileu* (šipky) u pacienta s aktivní CCH. Prostřední obrázek (B) ukazuje zúžený lumenální segment se silnou stěnou a dilatací (šipky), což naznačuje přítomnost striktury. Na obrázku C zobrazuje magnetická rezonanční enterografie (MRE) nasycení tukem po injekci chelátů gadolinia a ukazuje mnohočetné sbíhající se kličky tenkého střeva (šipky). Spodní obrázek ukazuje hluboký vřed vedoucí k tvorbě abscesu (1).

1.3.1. Srovnání terminálního *ilea* a tlustého střeva

Charakteristický transmurální zánět může zahrnovat celý GI trakt od úst po perianální oblast, i když nejčastěji zahrnuje terminální *ileum* a tlusté střevo (8).

Ileum je charakterizováno jednou vrstvou hleny, která je částečně prostupná pro střevní mikrobiotu. Hlen v prvním případě poskytuje fyzickou bariéru, dále obsahuje antimikrobiální peptidy (AMP) a také IgA protilátky k obraně proti translokalizujícím bakteriím. Produkci AMP umožňují Panethovy buňky v kryptách. Naproti tomu zdravé tlusté střevo obsahuje dvojitou vrstvu hleny, kde mikroflóra může proniknout lumenální vrstvou hleny, ale ne vrstvou pod ní. Hlen opět obsahuje AMP jako obranný mechanismus, který produkují sekreční buňky (9).

Patologický stav vzniká na základě reakce sliznice na neznámé lumenální antigeny. Infekční antigen může získat přístup do *lamina propria*, přes abnormálně propustný epitel a iniciovat zánětlivou reakci (10).

Terminální *ileum* u pacientů trpících Crohnovou chorobou vykazuje změnu složení hlenu a pokles jeho vrstvy, sníženou diverzitu střevní mikroflóry a AMP. Dále tak narušuje epiteliální bariéru a dominanci T helper (TH1 a TH17) buněk v *lamina propria* terminálního *ilea*. V tlustém střevě se obě vrstvy hlenu rovnoměrně zmenšují a mění své složení. Epiteliální buňky jsou částečně narušeny a dominují TH1 buňky (9).

1.4. Rizikové faktory

Mezi faktory prostředí, spojené se zvýšeným rizikem vzniku Crohnovy choroby, patří užívání perorální antikoncepce, antibiotik, pravidelné užívání nesteroidních protizánětlivých léků (NSAID) a kouření cigaret (12).

Studie Shaw et al. zjistila, že 58 % pacientů raného věku užívalo v prvním roce života antibiotika (4). Mikrobiota střeva je nestabilní v raném dětství a porucha této mikrobioty by mohla ovlivnit imunitní odpověď střeva a zvýšit náchylnost ke CCH (12). Na rozdíl od studií ze západního světa ukázala rozsáhlá populace z Asie ochranný vztah mezi expozicí antibiotik a vývojem nemoci.

Existuje také silná asociace mezi NSAID a CCH, zejména při vyšších dávkách a delším užívání. NSAID mohou vyvolat recidivu onemocnění až u jedné třetiny uživatelů. Perorální antikoncepce patří k dalším vysoce rizikovým faktorům. Ve srovnání s ženami, které perorální antikoncepci nikdy neužívaly, se riziko vzniku CCH zvyšuje až 1,5krát (4).

Kouření cigaret je nejlépe prozkoumaným environmentálním faktorem. Zvýšené riziko Crohnovy choroby je až dvojnásobné. Kouření může být také spojeno se zvýšenou potřebou chirurgického zákroku, častější potřebou imunosuprese a vyšší mírou recidivy pooperačního onemocnění (1). Nikotin byl dlouho považován za spouštěč onemocnění, nicméně studie zaměřené na substituční terapii nikotinem a orální užívání tabáku nepřinesly podobné výsledky. Bylo prokázáno, že kouření ovlivňuje tonus hladké svaloviny, dále endotelovou funkci prostřednictvím produkce oxidu dusnatého, integritu sliznice střeva, způsobuje oxidační stres a ovlivňuje střevní mikrobiotu (4).

Snížené riziko vzniku nemoci mají lidé vlastníci domácí mazlíčky, či hospodářská zvířata. Velmi důležitý je vysoký příjem vlákniny, konzumace ovoce a fyzická aktivita (12).

Naopak časté kolísání příjmu potravy mezi jednotlivými potravinami s vysokým obsahem vlákniny a s nízkým obsahem vlákniny vede ke snížení střevní mikrobioty a jsou spojeny s rozvojem CCH (1).

Dietní intervence a novější eliminační diety mají potenciál onemocnění udržovat pod kontrolou nebo se vyhnout komplikacím, které onemocnění doprovází. Budoucí výzkumy by se měly zaměřit na identifikaci enviromentálních faktorů zvyšující riziko onemocnění a navrhování specifických intervencí, které mohou zabránit rozvoji onemocnění a zlepšit výsledky pacientů (5).

1.5. Diagnostika

Crohnova choroba může připomínat mnoho chorob. Všichni pacienti s průjmem by měli být vyšetřeni na idiopatické střevní záněty (IBD). Mezi další stavy, které se mohou projevovat podobně jako CCH, patří zánět slepého střeva, Behcetova choroba a ulcerózní kolitida (UC). Diagnóza může být poměrně obtížná vzhledem k tomu, že příznaky mohou být zákeřné a nespecifické (14). Proto diagnóza vyžaduje kompletní posouzení na základě klinické anamnézy, fyzikálního vyšetření a doplňkových diagnostických testů. Jedná se o testy sérologické, fekální biomarkery, průřezové a endoskopické zobrazování a histologické vyšetření bioptických vzorků (5).

1.5.1. Klinické vyšetření

Základem klinického vyšetření je provedení osobní a rodinné anamnézy a následuje fyzikální vyšetření. Lékař provádí senzorké vyšetření. Rukama prohmatává břicho a střevo. Takto dokáže rozpoznat aktuální stav střeva. Prohlíží kůži a klouby k určení symptomů mimo trávicí trakt. Pozorují se typické kožní změny, změny sliznic, oblasti konečníku a genitálu (píštěle, marisky).

Anamnéza by měla zahrnovat i rodinou anamnézu, protože příbuzní pacientů prvního stupně s CCH mají 10-15x vyšší riziko ke vzniku onemocnění (12). Stejně jako u většiny genetických poruch se dědičnost Crohnovy choroby neřídí jednoduchým mendelovským vzorcem. To by naznačovalo, že ke vzniku onemocnění není nutná jediná genová mutace, což svědčí o tom, že CCH představuje komplexní, multigenní genetickou poruchu.

U komplexních genetických poruch nebude mít jakákoli mutace jednoho genu určující vliv na rozvoj onemocnění (jako je tomu u mendelovských poruch s jedním genem), ale pouze statisticky zvýšenou, ale nedeterminující náchylnost k rozvoji onemocnění (17).

1.5.2. Laboratorní testy

Laboratorní testování má více účelů včetně diagnostiky, monitorování aktivity onemocnění, sledování průběhu onemocnění, nežádoucích účinků a účinnosti léků (12). Ačkoli neexistuje laboratorní test, který by CCH jednoznačně vyloučil nebo diagnostikoval, nálezy z vyšetření séra a stolice mohou pomoci při stanovení diagnózy. Vyšetřením stolice se dají vyloučit jiné příčiny gastrointestinálních onemocnění a průjmů (14). Fekální kalprotektin je vhodným testem pro vyloučení diagnózy CCH u dospělých (citlivost 83 % až 100 %, specifita 60 % až 100 %), u dětí (citlivost 95 % až 100 %, specifita 44 % až 93 %). Tento test tak může nahradit jiná invazivnější vyšetření.

Když se u pacientů zvažuje diagnóza Crohnovy nemoci, provádí se kompletní krevní obraz, kompletní metabolické vyšetření, těhotenský test, hladina C-reaktivního proteinu, sedimentace erytrocytů a vyšetření stolice na *Clostridium difficile*, vajíčka a parazity (12). C-reaktivní protein, fekální kalprotektin a laktoferin ve stolici mohou pomoci posoudit aktivitu onemocnění a potenciálně omezit potřebu endoskopie při rozhodování o léčbě onemocnění (14). Výsledky mohou poskytnout informace, které podpoří diagnózu, určí závažnost onemocnění nebo určí alternativní diagnózy (12). Pacienti mohou mít anémii z nedostatku železa, takže hemoglobin a hematokrit by měly být pravidelně monitorovány (14).

1.5.3. Endoskopie

Endoskopie horní nebo dolní části zažívacího traktu se běžně používá k potvrzení diagnózy, posouzení onemocnění a získání tkáně k patologickému vyhodnocení (4). Endoskopické postupy umožňují přímou vizualizaci a přístup do střevního lumen. Přímá vizualizace umožňuje identifikaci charakteristických lézí, sledování úspěšnosti či neúspěšnosti terapie a screening kolorektálního karcinomu. Endoskopické postupy (s výjimkou kapslové endoskopie) umožňují také biopsii a terapeutické zákroky (12).

U časných mírných forem CCH se sliznice jeví jako endoskopicky normální nebo jsou

často patrné malé, proděravělé aftózní vředy. Tyto vředy jsou důsledkem expanze submukózních lymfoidních folikulů. U středně závažného onemocnění se vředy spojují do větších vředů, které mohou mít podobu hvězdice (hvězdčovitě vředy). Se zvyšující se závažností onemocnění může dojít k submukóznímu edému a poranění, které může vyústit v dláždění sliznice (4).

Stále častěji se používá kapslová endoskopie (CE), která je v poslední době nejvíce využívaná jak pro diagnostiku, tak i pro léčbu Crohnovy choroby. CE nabízí citlivou a neinvazivní strategii pro stanovení endoskopického vyšetření, správné diagnózy a sledování aktivity onemocnění (15). Je relativně dobře snášena díky zajištění průchodnosti endoskopické kapsle, která minimalizuje riziko neúmyslné retence (16). Nálezy při kapslové endoskopii u CCH zahrnují afty, hluboké ulcerace a striktury. CE je zvláště užitečná v oblastech gastrointestinálního traktu, které nejsou optimálně viditelné při konvenční endoskopii nebo radiologickému zobrazení. Kromě toho může být CE upřednostňována u pacientů, kteří již dříve podstoupili chirurgický zákrok (vedoucí k léčbě CCH) nebo u dětských pacientů se zánětlivým střevním onemocněním (15).

Dalším endoskopickým postupem je tzv. ileokoloskopie. Nese několik výhod, díky kterým nemusí pacienti podstupovat pravidelné a opakované endoskopické vyšetření. Nevýhodou endoskopických vyšetření jsou vyšší finanční náklady, nutnost přípravy střeva, anestezie pomocí sedativ a operační rizika, včetně perforace střeva a krvácení. Standardní ileokoloskopie je schopna hodnotit pouze sliznici terminálního *ilea*, avšak proximální tenké střevo a hlubší podslizniční vrstvy hodnotit nelze (23).

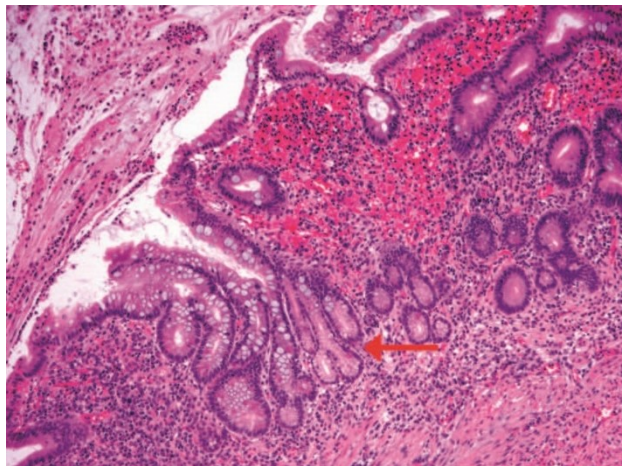
Pozoruhodný je nedávný pokrok v endoskopických technikách, jako je zvětšovací endoskopie, chromoendoskopie nebo konfokální endomikroskopie, vede k přesnějšímu odběru vzorků z biopsií, což má značný dopad na přesnost diagnostiky v přítomnosti jemných histologických změn (24).

1.5.4. Histologické vyšetření

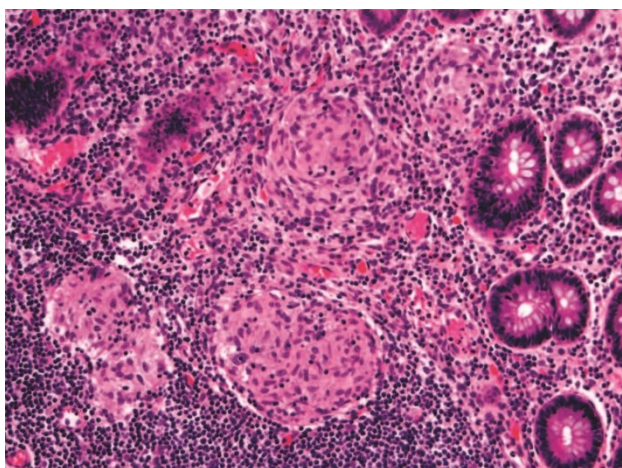
U pacientů s podezřením na Crohnovu chorobu je zásadní provést histologické vyšetření před zahájením léčby, vzhledem ke změnám morfologie vyvolanými některými léky a léčebnými přípravky. Histologická diagnóza CCH je založena na analýze celé série kolonoskopických biopsií. Studie ukazují, že přesnost diagnózy se zvyšuje z 66 % na 92 %, pokud jsou odebrány segmentální biopsie namísto dvou biopsií z celého tlustého střeva.

Rektální biopsie jsou nezbytné k potvrzení nebo vyvrácení postižení konečníku a mohou být navíc užitečná při odlišení Crohnovy choroby od jiných zánětlivých lézí (24).

Crohnova nemoc je charakterizována segmentálním submukózním a muralním zánětem a fibrózou. Znaky, které naznačují zvýšený výskyt murálního zánětu v *lamella propria*, jsou deplece mucinu, deplece pohárkových buněk, abscesy v kryptě, deformace, větvení a atrofie v kryptě (25). Biologický vzorek bývá tuhý a udržuje tubulární strukturu. Může se v něm objevit serózní tuk, fistuly a četné striktury. Překrytá sliznice může ukázat chronickou aktivní nebo neaktivní enteritidu s hlubokými šterbinovými vředy (Obrázek 2). Mikroskopicky si u CCH můžeme všimnout transmurální plazmocytózy, lymfoidních agregátů, jizvení submukózy, fibrózy a hypertrofie. U 30 % až 60 % resekčních vzorků se vyskytují granulomy (Obrázek 3) (26).



Obrázek 2: Mikroskopická fotografie sliznice s hlubokými šterbinovými vředy (26).



Obrázek 3: Mikroskopická fotografie sliznice s granulomy (26).

1.5.5. Diagnostické zobrazení

V poslední době došlo k pokroku v kvalitě a přesnosti neinvazivních zobrazovacích metod (23). Tyto metody se dostaly do popředí zájmu při léčbě onemocnění Crohnovy choroby (12). Magnetická rezonanční enterografie (MRE), střevní ultrazvuk (IUS) a CT enterografie (CTE) jsou nyní podporovány jako doplňky k ileokoloskopii (IC). Cílem každé neinvazivní metody detekce aktivity Crohnovy nemoci je dosáhnout rovnocenné citlivosti jako při IC (23). Všechny tyto techniky poskytují přesné výsledky pro stanovení počáteční diagnózy, sledování aktivity onemocnění a identifikaci komplikací (např. píštělí, abscesů). Doplňují endoskopii, protože mohou identifikovat extraluminální patologii a vyšetřit gastrointestinální trakt, které se nemohou vyšetřit endoskopickými postupy.

CTE studie mají nevýhodu radiačního záření. Studie magnetické rezonance nemají radiační expozici, ale jsou drahé a mohou mít omezenou dostupnost. Ultrasonografie je snadno dostupná a není vystavena záření, ale je velmi závislá na operátorovi a může být omezena tělesným habitem (12). Přestože přesnost MRE a CTE je podobná, první z nich je upřednostňována, protože se při ní nevyžaduje expozice zářením. Existují však technické faktory, které mohou ovlivnit přesnost, jako je například distenze střeva a použití lumenálního kontrastu, které mohou ovlivnit posouzení změn spojených s aktivním onemocněním, jako je například ztlustění střevní stěny (27). Další nevýhoda ultrasonografie je omezená schopnost zkoumat tenké střevo v souvislosti s překrývajícími strukturami. Naopak CTE a MRE jsou schopny prozkoumat celou stěnu střeva a detekovat jak vzor postižení střeva, tak komplikace. To je zvláště výhodné u pacientů, kteří nemohou být endoskopicky hodnoceni např. při primárním postižení tenkého střeva (28).

MRE využívá Magnetic Resonance Index of Activity (MaRIA score), který byl prokázán jako platný a spolehlivý index pro hodnocení odpovědi na terapii, s přesností 90 % pro hojení vředů a 83 % pro endoskopickou remisi ve srovnání s ileokoloskopií.

Střevní ultrazvuk je velmi citlivý při detekci endoskopické aktivity. Také může určit odpověď na léčbu, potenciálně snižovat počet ileokoloskopií. Navíc sonografické hojení je spojeno s lepšími klinickými výsledky, jako je snížené riziko eskalace léků, užívání kortikosteroidů, hospitalizace, chirurgie a klinická remise (27).

2. Léčba Crohnovy choroby

Léčba perianální CCH je náročná a vyžaduje multidisciplinární přístup. Cílem je poskytnout pacientovi symptomatickou úlevu a léčit infekci při udržování kontinence (30). Velmi důležité je určení aktivity onemocnění, které může být u CCH obtížnější než u UC, protože symptomy (jako bolest nebo průjem) mohou být způsobeny jinými příčinami než aktivním onemocněním. Proto by měly být vždy zvažovány alternativní vysvětlení příznaků, jako jsou enterické infekce, absces, bakteriální přemnožení a malabsorpce žlučových kyselin. Zkušenosti ukázaly, že lékaři často špatně posuzují aktivitu onemocnění. Proto by měly být získány objektivní důkazy aktivity onemocnění (zánětlivé markery nebo kolonoskopie podle potřeby) před zahájením nebo změnou léčby. Tento koncept podporují výsledky studie SONIC (Studie biologické a imunomodulátorové terapie u pacientů s Crohnovou chorobou). V této klinické studii byla účinná léčba významně vyšší u pacientů s endoskopickými důkazy aktivního onemocnění (33).

Lékaři využívají dva různé způsoby léčby Crohnovy nemoci. Tradiční léčba zahrnuje použití "step-up" postupu, kdy se zpočátku používají méně agresivní léky, než se přikročí k silnějším lékům. Druhou strategií je "step-down" postup, kdy jsou pacienti zpočátku léčeni agresivně a poté, jakmile dojde k remisi, jsou dávky léků snižovány nebo úplně vysazeny (4). Výběr léčby obvykle souvisí s kombinací několika faktorů včetně věku pacienta, doprovodných onemocnění, příznaků, stupněm zánětu a jeho lokalizací, rozsahem onemocnění a celkovým rizikem onemocnění (12). Ve většině případů se využívá první postup s užíváním méně agresivních léků a jejich případným nahrazením silnějšími léky (4).

Existují důkazy o tom, že kouření je spojeno s horšími výsledky léčby u pacientů s CCH a také, že kouření v době chirurgického zákroku vede ke špatnému hojení ran. Všichni pacienti s CCH by měli být informováni o přínosech ukončení kouření, zejména předoperačně, pokud nadále kouří, měla by jim být nabídnuta substituční terapie nikotinem. Dosud neexistují důkazy naznačující, že používání elektronických cigaret je spojeno se špatnými výsledky terapie. Studie vyžadují více důkazů, aby mohly učinit pevné závěry (37).

Včasná a vhodná terapie je spojena s lepšími krátkodobými i dlouhodobými výsledky, včetně snížení počtu hospitalizací a chirurgických zákroků. Předpokládá se, že použití proaktivní léčby a následné monitorování zvýší pravděpodobnost dosažení kontroly onemocnění, endoskopického hojení a snížení komplikací spojených s onemocněním.

V souhrnu by se tak mohly snížit náklady spojené se zdravotní péčí a zátěž pro zdravotnický systém (33).

2.1. Medikamentózní léčba

Využívá se farmakologická léčba na bázi kyseliny 5-aminosalicylové až po kortikosteroidy sloužící ke zmírnění příznaků (29). Závažnější onemocnění a přítomnost rizikových faktorů, které předpovídají špatnou prognózu, ospravedlňují použití vysoce rizikové léčby (12). Rizikovější pacienti jsou léčeni biologickými přípravky s doprovodnými imunomodulátory nebo bez nich, k navození a udržení remise. V horších případech musí pacient podstoupit chirurgický zákrok, který však ve většině případů není zcela účinný a je nutná medikamentózní léčba ke zmírnění recidivy CCH (29).

Jakmile pacienti dosáhnou období remise, měla by se zvážít udržovací léčba s cílem zabránit opakovanému užívání kortikosteroidů a snížení dlouhodobých komplikací. Příznaky onemocnění mohou být špatným ukazatelem pro dosažení kompletní remise. Klinické, biochemické (včetně testu fekálního kalprotektinu) a endoskopické nálezy pomáhají k určení úplné remise a k řízení dalších léčebných rozhodnutí (32). Faktory, které ovlivňují volbu udržovací léčby, zahrnují umístění onemocnění (horní trávicí trakt, tenké střevo, proximální tlusté střevo atd.), závažnost onemocnění, extraintestinální projevy CCH, stejně jako individuální charakteristiky pacienta (věk, pohlaví atd.) (4).

2.1.1. Aminosalicyláty

Aminosalicyláty pro léčbu CCH zahrnují hlavně tradiční sulfasalazin (SASP) a další typy 5-aminosalicylových kyselin (5-ASA). SASP se skládá z 5-ASA a sulfapyridinu (SP) spojených diazo vazbou a byl používán k léčbě CCH po dobu osmdesáti let. Při léčbě CCH je sulfasalazin prekurzor, SP nosič a 5-ASA aktivní část. Mechanismy účinku 5-ASA a SASP zahrnují interferenci s metabolismem kyseliny arachidonové (přeměna na prostaglandin a leukotrien), odstraňování reaktivních druhů kyslíku a účinky na funkci bílých krvinek a produkci cytokinů (37).

Původní publikované studie ukazují, že sulfasalazin a perorální deriváty kyseliny 5-aminosalicylové jsou účinnou léčbou aktivní ileální, ileokolické nebo kolonální Crohnovy

choroby. Sulfasalazin v dávce 3-6 g/den bývá účinný u pacientů s kolonálním onemocněním, ale ne u pacientů s postižením tlustého střeva. Eudragitem potažený mesalazin v dávce 3,2 g/den je účinný při ileokolickém nebo kolonálním onemocnění a ethylcelulosou potažený mesalazin v dávce 4 g/den je účinný při ileitidě, ileokolitidě a kolitidě (31).

Nedávná metaanalýza dospěla k závěru, že role 5-ASA při navození remise aktivní CCH a prevenci relapsů klidové CCH zůstává nejistá. Ačkoli 5-aminosalicyláty mají prokazatelnou účinnost při dosažení a udržení klinické remise u ulcerózní kolitidy existují rozporné důkazy o účinnosti 5-ASA u Crohnovy choroby, ať už jde o navození remise u klinicky aktivního onemocnění nebo o prevenci relapsů u klidového onemocnění. I když jsou obecně považovány za levné léky, užívání 5-ASA k léčbě zánětlivých onemocnění střev může být spojeno s významnými náklady pro zdravotnický systém. Široké užívání 5-ASA představovalo plýtvání zdravotnickými prostředky a vystavovalo pacienty potenciálním (i když vzácným) vedlejším účinkům (34).

Dříve se aminosalicyláty (primárně mesalazin) používaly běžně a stále se předepisují pro léčbu příznaků u mírného až středně závažného onemocnění (12). V poslední době se však přechází na účinnější léčby, protože aminosalicyláty nedokáží změnit průběh onemocnění, což se odráží ve vysoké míře chirurgických zákroků (1). Hlavním problémem léčby aminosalicyláty je neprůkazné hojení sliznic střev (12). Proto se rámec léčby vyvinul z pouhé kontroly symptomů směrem k blokování progresu onemocnění, která vede ke komplikacím, poškození střev, rozvoji onemocnění a následné invaliditě (1).

2.1.1.1. Nežádoucí účinky aminosalicylátů

Vedlejší účinky sulfasalazinu se vyskytují u 10-45 % pacientů, a to v závislosti na denní dávce (31). Může se například jednat o neplodnost, hemolytickou anémii, fotosenzitivitu (zvýšená citlivost kůže na sluneční záření) nebo granulocytózu (37). Mezi běžné vedlejší účinky spojené s 5-ASA patří gastrointestinální potíže, jako je nevolnost, zvracení, průjem, nadýmání nebo abdominální bolesti. Nicméně u některých pacientů mohou nastat závažnější idiosynkratické reakce, jako například hepatitida, pankreatitida nebo kožní reakce. Intolerance na mesalazin bývá méně častá než u sulfasalazinu. Běžné vedlejší účinky mesalazinu zahrnují nevolnost, bolesti hlavy a zažívací potíže. Vzácně mohou nastat vážné nežádoucí účinky, z nichž je nejzávažnější nefrotoxicita, což je poškození ledvin způsobené užíváním léků (31).

Naopak během těhotenství a kojení se spíše doporučuje užívání sulfasalazinu, který je pro matku i dítě bezpečný. Mesalazin se ukázal jako bezpečný během těhotenství v dávkách do 3 g/den, ale bezpečnost vyšších dávek se snižuje. Metaanalýzy identifikovaly mírné zvýšení vrozených malformací a abnormalit. Ale doposud se nedokázalo určit, zda toto riziko bylo sekundární k aktivnímu onemocnění nebo k lékům (35).

2.1.2. Kortikosteroidy

Kortikosteroidy se využívají ke snížení akutních symptomatických projevů. I když pomáhají zmírnit příznaky a dosáhnout remise, nedokáží toto bezpříznakové období udržet dlouhodobě. Po vysazení kortikosteroidů se může onemocnění vrátit, popřípadě může dojít ke zhoršení příznaků. Z těchto důvodů jsou kortikosteroidy obvykle využívány pro krátkodobou léčbu (12).

U pacientů s klidovým průběhem onemocnění nebo závislým na kortikosteroidech může budesonid umožnit postupné snižování dávek běžných kortikosteroidů bez krátkodobého relapsu a s málo vedlejšími účinky. Bohužel není účinný při prevenci relapsu po prvních několika měsících, což vážně omezuje jeho užitečnost jako udržovací terapie (36). Počáteční dávky kortikosteroidů (konkrétně prednisolonu) se pohybují mezi 40-60 mg v závislosti na závažnosti onemocnění. Budesonid se podává v maximální výši 9 mg, kdy by se dávky měly snižovat po dobu 6-8 týdnů až do ukončení léčby. Postupné snižování dávek prednisolonu se doporučuje o 5 mg týdně, dokud pacient nedosáhne dávky 20 mg. Poté se dávka snižuje o 2,5 mg týdně až do ukončení léčby (32).

Budesonid je spojen s nižším výskytem krátkodobých systémových vedlejších účinků než běžné kortikosteroidy. Dochází k tomu kvůli své nízké biologické dostupnosti a specifčnosti pro zánětlivá místa tenkého střeva a ileocekální oblasti. Ve srovnávací studii se projevily s kortikosteroidem související vedlejší účinky u 33 % pacientů léčených budesonidem a u 55 % pacientů léčených prednisolonem (36). Pokud se jedná o difúzní onemocnění nebo se nachází v levé části tlustého střeva, upřednostňuje se pro léčbu prednisolon. Naopak budesonid se využívá při onemocnění postihující *ileum*, popřípadě proximální část tlustého střeva. Budesonid prochází tzv. first-pass metabolismem v játrech, což vede ke zlepšené tolerabilitě nebo-li snášenlivosti (12).

2.1.2.1. Nežádoucí účinky kortikoidů

Kortikosteroidy se neselektivně váží na intracelulární cytoplasmatické receptory s vysokou afinitou, přítomné ve všech lidských buňkách. V důsledku toho jsou schopny ovlivňovat téměř každý orgánový systém a vyvolávat širokou škálu systémových vedlejších účinků. I když mohou nastat idiosynkratické účinky, výskyt a závažnost většiny nežádoucích účinků jsou obvykle spojeny s dávkou a délkou léčby kortikosteroidy. Riziko nežádoucích účinků se zvyšuje při denním užívání po delší dobu než 2 nebo 3 týdny (36).

Budesonid je spojován s vedlejšími účinky, které jsou méně závažné než při užívání prednisolonu. Brzké účinky způsobené suprafyziologickými dávkami používanými k indukci remise u akutní CCH zahrnují vedlejší kosmetické vady (akné, kulatý obličej, otoky a strie na kůži), dále pak poruchy spánku a nálady, dyspepsii nebo intoleranci glukózy. Dále vedlejší účinky spojené s dlouhodobým užíváním (obvykle nad 12 týdnů) zahrnují zadní subkapsulární katarakty, osteoporózu, osteonekrózu femorální hlavice, myopatii a náchylnost k infekcím. V případě postupného odstavení kortikoidů může docházet k akutní nedostatečnosti nadledvin nebo zvýšenému nitrolebnímu tlaku (31). Skrytá nebo potenciálně nevratná povaha některých toxických účinků způsobených kortikosteroidy vyžaduje pečlivé monitorování, aby bylo zajištěno jejich odhalení a vhodná léčba. Jiné zjevné účinky (např. „měsíční obličej“) mohou mít škodlivý vliv na kvalitu života pacientů tím, že narušují denní fungování a vztahy, i přes symptomatické zlepšení. Aby se těmto důsledkům předešlo, měla by být použita nejnižší účinná dávka po co nejkratší dobu. Optimální dávka nebo dávkovací schéma pro kortikosteroidní léčbu u ambulantních pacientů s aktivní CCH nebylo stanoveno. Po dosažení počáteční odpovědi by měla být kortikosteroidní terapie postupně snižována podle klinické odpovědi (36).

Hlavním cílem kortikosteroidů je zajistit, aby pacienti byli stabilizováni a mohli být postupně převedeni na léčby, které jsou účinnější při udržování dlouhodobého období remise a mají nižší riziko nežádoucích účinků (12).

2.1.3. Imunosupresivní léčba

Imunomodulátory se u aktivní CCH používají jako doplňková léčba, protože mají velmi pomalý účinek a jejich hlavní rolí je udržovací léčba (2). Nejčastěji používané imunomodulátory jsou thiopuriny (azathioprin, merkaptopurin) a methotrexát, které by měly

být využívány pouze pro udržovací terapii a po ukončení užívání antibiotik nebo kortikosteroidů (30). Většina z těchto terapií je v těhotenství považována za nízkorizikové, s výjimkou methotrexátu, který může způsobit abnormality plodu a je v těhotenství kontraindikován (37).

Dále se využívají azathioprin (Imuran) a 6-merkaptopurin, které mají pouze omezený účinek. U středně těžkých až rizikových pacientů se azathioprin používá v kombinaci s anti-tumorovými faktory nekrózy (anti-TNF), jako je např. infliximab. Tato kombinace se ukázala jako účinnější než použití každého léku samostatně. Snižuje také působení kortikosteroidů, což má za následek méně nežádoucích účinků a snižuje míru imunogenicity vůči anti-TNF látkám (12).

2.1.3.1. Thiopuriny

Thiopuriny jsou důležité při progresi CCH, kdy aktivované T (*Thymus*) lymfocyty infiltrují zánětlivé místo střevní sliznice a produkují různé cytokiny, dále tak zhoršují střevní zánět. Thiopuriny mohou kontrolovat střevní zánět inhibicí proliferace a aktivace T lymfocytů. Tyto neaktivní léky jsou metabolizovány do farmakologicky aktivního deoxy-6-thioguanosin fosfátu (deoxy-6-TGNP). Deoxy-6-TGNP může interferovat se syntézou deoxyribonukleové kyseliny (DNA) a inhibovat proliferaci lymfocytů (37). Azathioprin v dávce 2-2,5 mg/kg/den se perorálně využívá při dosažení remise se systémovými kortikoidy. Zatímco merkaptopurin v dávce 1-1,5 mg/kg/den se obvykle používá u pacientů netolerujících azathioprin (s výjimkou pacientů s cytopenií nebo pankreatitidou). V případě relapsu u pacientů, kteří již byli léčeni thiopuriny, je třeba zvážit možné nedostatečné dávkování nebo rezistenci vůči thiopurinům (2).

Několik studií prokázalo, že použití thiopurinů u CCH bývá spojeno se snížením potřeby chirurgických zákroků a mají mírný prospěch při udržování remisní fáze onemocnění. Thiopuriny by měly být užívány s opatrností u mladých mužů (ve věku < 35 let) a u starších osob, u nichž je zvýšené riziko vzniku malignit (lymfomů, ne-melanomových kožních nádorů, myeloidních onemocnění a rakoviny močových cest) (1). Vzácné vedlejší účinky zřídka vedou k přerušení užívání azathioprinu/6-merkaptopurinu, přesto mohou nastat vážné účinky omezující terapii (36). Bylo hlášeno, že až 39 % pacientů s CCH přeruší užívání thiopurinů kvůli nežádoucím účinkům, z nichž většina nastala do 3 měsíců léčby (37).

Mezi vedlejší účinky obou imunosupresiv patří pankreatitida a suprese kostní dřeně

(leukopenie a trombocytopenie), poškození jater, gastrointestinální intolerance a alergické reakce. Z těchto důvodů se doporučuje pravidelné sledování úplného krevního obrazu a funkce jater (36). Sledování metabolitů thiopurinů může být užitečné při odhalení rezistence na thiopuriny, nedostatečného dávkování a předávkování thiopuriny (1).

2.1.3.2. Methotrexát

Methotrexát pomáhá snižovat zánět a potlačovat imunitní reakce v těle, což může vést k úlevě od symptomů u CCH. Nízké dávky methotrexátu (MTX) mohou inhibovat funkci několika enzymů souvisejících se syntézou DNA a snížit produkci různých zánětlivých cytokinů jako například interleukin 1 (IL-1), interleukin 2 (IL-2), interleukin 6 (IL-6), interleukin 8 (IL-8) atd., čímž inhibují proliferaci T lymfocytů a zánětlivou reakci. Studie zjistila, že 72 % pacientů s aktivní CCH dosáhlo klinické remise po 3 měsících léčby MTX (37). Methotrexát se obvykle používá v dávce 15 mg/týden intramuskulárně u pacientů, u kterých byla dosažena remise právě tímto lékem (počáteční dávka 25 mg/týden) a u pacientů netolerantních nebo rezistentních vůči thiopurinům (2). Methotrexát je teratogenní a velmi často špatně tolerován organismem, proto se doporučuje jeho užití pouze u pacientů, kteří jsou rezistentní na thiopuriny nebo anti-tumorové faktory nekrózy (32).

Mezi nežádoucí účinky methotrexátu, které vedly k ukončení léčby u 17 % pacientů, patří asymptomatické zvýšení hladin jaterních enzymů, nevolnost, vyrážka na kůži a optická neuritida. Nejčastějším omezením léčby je hepatická toxicita, která se vyskytuje s incidencí 5 %. Navrhované pokyny pro snížení rizika závažné jaterní cirhózy zahrnují vyhýbání se léčbě methotrexátem u pacientů s rizikovými faktory pro hepatální toxicitu. Doporučuje se měsíční monitorování koncentrací sérových aminotransferáz a albuminu, také jaterní biopsii u pacientů se zvýšenou hladinou jaterních enzymů nebo hypoalbuminemií. Provádí se také pravidelný krevní obraz k monitorování suprese kostní dřeně (leukopenie) (36).

Methotrexát i thiopuriny jsou indikovány u pacientů s kortikosteroidovou závislostí, protože umožňují odstoupení od kortikosteroidů a udržení remise u přibližně 50 % pacientů (2). Optimální doba pro ukončení léčby se udává po čtyřech letech klinické remise u pacientů. Taková rozhodnutí jsou většinou učiněna individuálně u každého pacienta, přičemž se zohledňuje riziko relapsu proti dlouhodobým rizikům léčby (32).

2.1.4. Antibiotika

Antibiotika jsou považována za vhodná pro léčbu sepsí, symptomů spojených s bakteriálním přemnožením nebo perianálního onemocnění (33). Nedávné studie naznačují, že kombinace antibiotik s biologiky (biologická léčiva) zlepšila míru hojení ve srovnání s použitím samostatných biologik. Kromě toho bylo prokázáno, že chronická antibiotika tlumí příznaky, přičemž po ukončení podávání antibiotik dochází k recidivě onemocnění. K léčbě perianální choroby se využívají standardní antibiotika např. metronidazol nebo ciprofloxacin. Doposud bohužel není známa vhodná délka podávání antibiotik, nicméně se využívají jako dlouhodobé terapie, průměrně 8-12 týdnů. Jak již bylo zmíněno na začátku kapitoly o léčbě CCH, je zapotřebí multimodální terapie s dalšími léky a chirurgickými zákroky k dosažení hojení, a to i v případě antibiotik (30).

Dále se řada studií zabývá účinností antibiotické léčby u lumenální CCH. Metronidazol, ciprofloxacin a protimykobakteriální režimy byly podrobně studovány. Celkově žádný z nich neprokázal účinnost při pravidelném indukovaní klinické remise nebo hojení sliznice ve srovnání s placebem. Navíc vedlejší účinky omezují použití těchto terapií. Nedávno Evropská léková agentura zavedla omezení na používání ciprofloxacinu kvůli potenciálně závažným vedlejším účinkům, které mohou vést k postižení nebo k trvalým následkům. Proto nebylo specificky doporučeno používat antibiotika k léčbě lumenální CCH, i když jsou stále indikována k léčbě septických komplikací (41).

2.2. Biologická léčba

Biologická léčba Crohnovy choroby je terapeutický přístup, který využívá biologické látky nebo jiné léky vyrobené z lidských, živočišných nebo mikrobiálních zdrojů. Tyto látky cíleně působí na specifické molekulární mechanismy v těle, které jsou zapojeny do patogeneze CCH. Biologické léky, které jsou často používány při léčbě CCH, zahrnují anti-TNF látky, anti-integrinové látky a další (39). Tyto léky jsou obvykle využívány pacienty, kteří nedostávají úlevu od běžných léků, jako jsou kortikosteroidy či imunosupresiva nebo u pacientů trpícími nežádoucími účinky a nesnášenlivostí k již zmiňovaným lékům. Biologická léčba může pomoci snížit zánět, zmírnit symptomy a dosáhnout remise (12).

2.2.1. Látky blokující TNF- α

Anti-TNF léčiva (infiximab, adalimumab a certolizumab pegol) jsou neúčinnějšími dostupnými prostředky pro léčbu CCH. Jejich použití je omezeno na pacienty, kteří nereagovali na léčbu steroidy nebo thiopuriny (1). Certolizumab pegol je účinný při indukci a udržování klinické odpovědi a remise. Pro indukční režim se dává 400 mg každý týden a následuje udržovací dávka 400 mg každé 4 týdny (45). Akorát jeho dostupnost je omezena pouze na Severní Ameriku, Švýcarsko a několik dalších zemí. Infiximab byl jedinou anti-TNF látkou, která prokázala účinnost při léčbě perianální nemoci v randomizované kontrolované studii (1). Jediná infuze infiximabu v dávce 5 mg/kg je již účinná při snižování příznaků CCH už po 4 týdnech (45). Naopak jako nejvíce účinným léčivem při hojení píštělí se prokázal adalimumab (1). Indukční dávkování adalimumabu se pohybuje okolo 160 mg a následuje 80 mg po 2 týdnech. Pro udržovací režim se podává 40 mg každý druhý týden u pacientů, kteří nereagovali na počáteční indukční režim. U některých pacientů může být k udržení remise nutné zvýšení dávky na 40 mg týdně (45).

Použití anti-TNF terapie je spojena s několika klinickými výhodami při léčbě CCH, jako například vyšší hojení sliznice, méně hospitalizací, chirurgických zákroků a zlepšení kvality života (38). Léčba anti-TNF látkami se zdá být účinnější, když se podává brzy v průběhu onemocnění (nejpozději do 2 let od nástupu onemocnění) (7). Nicméně, anti-TNF látky jsou drahé a způsobují závažné vedlejší účinky, jako jsou infekce a možná malignita. Některé analýzy ukázaly, že anti-TNF látky u pacientů s CCH zahrnují riziko relapsu, možnou ztrátu účinnosti při znovuzahájení léčby pomocí léku, riziko infuzních reakcí nebo jiných nežádoucích událostí při opětovném podání léčby (38).

Studie SONIC porovnála účinnost monoterapie infiximabem, monoterapie azathioprinem a kombinované léčby oběma těmito léky. Ke studii docházelo u pacientů s nedávno zjištěnou středně až těžce závažnou Crohnovou chorobou bez předchozí imunosupresivní nebo biologické léčby (1). Infiximab jako monoterapie nebo v kombinaci s azathioprinem byl významně účinnější než azathioprin samotný. Dále byla porovnávána účinnost a bezpečnost monoterapie adalimumabem s kombinovanou terapií adalimumabu a azathioprinu. I když klinická účinnost kombinační terapie po dvaceti šesti týdnech nebyla signifikantně odlišná od monoterapie, vede k lepšímu endoskopickému zlepšení než monoterapie (7). Dalším cílem nedávné studie bylo systematicky zkontrolovat a provést metaanalýzu rizika relapsu po ukončení používání anti-TNF léků u pacientů s CCH. Celkem

bylo zahrnuto 27 studií. Celkové riziko relapsu po ukončení anti-TNF terapie bylo u 44 % pacientů. Z těchto pacientů nastal relaps po krátkodobém užívání (6 měsíců) u 38 %, po dvanácti měsících 40 % a po dvaceti pěti měsících až 49 %. Jedná se o procentuální relaps v daném časovém období ve srovnání s počtem pacientů v každé skupině sledovaného časového úseku (38).

U pacientů, kteří ztrácejí v průběhu času reakci na anti-TNF monoterapii, můžeme využít snížení imunogenicity těchto léků přidáním imunosupresiv, což by se do budoucna mohlo stát účinnou strategií. Terapie anti-TNF je obecně dobře snášena v klinické praxi, avšak bylo prokázáno, že zdvojnásobuje riziko oportunních infekcí u pacientů s IBD. Existují také obavy, že by mohla zvýšit riziko vzniku melanomu kůže. I když se zdá, že kombinovaná terapie nezvyšuje riziko vzniku vážných infekcí. Avšak bylo pozorováno zvýšené riziko lymfomu, což je nádor lymfatické tkáně, u těchto pacientů. Bývá to způsobené hlavně užitím thiopurinů (1).

2.2.2. Anti-integrinové látky

Nové biologické léky např. vedolizumab je intravenózně podávaná monoklonální protilátka, která blokuje integrin $\alpha 4\beta 7$, což vede k selektivní anti-zánětlivé aktivitě v zažívacím traktu. Je účinný při indukci a udržení klinické remise u CCH. Vedolizumab byl schválen Evropskou lékovou agenturou a Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv v USA u dospělých s mírným až těžkým Crohnovým onemocněním. Jeho účinnost se snižuje u pacientů, u kterých předchozí léčba anti-TNF selhala (40).

Ustekinumab je monoklonální protilátka zaměřená proti interleukinu 12 a interleukinu 23 prostřednictvím jejich společné podjednotky p40. Po intravenózní infuzi pro indukci se podává subkutánně každých 8 týdnů pro udržovací terapii. Randomizované kontrolované studie u pacientů s mírným až těžkým průběhem onemocnění ukázaly, že ustekinumab je nadměrně účinný oproti placebo u pacientů, kteří nebyli léčeni anti-TNF, a také u pacientů s refrakterním onemocněním. Stejně tak jako vedolizumab bývá ustekinumab méně účinný u pacientů, u kterých léčba anti-TNF selhala (1).

2.3. Fekální mikrobiální transplantace

Během poslední dekády byly stále častěji charakterizovány dysbiotické vzory (anomálie nebo nerovnováhy v mikrobiálním společenství) a nižší rozmanitost mikrobioty u pacientů s CCH. To vyvolalo zájem o manipulaci s mikrobiomem k modulaci zánětu. Konkrétně použití fekální mikrobiální transplantace (FMT), při které je vzorek předem prověřené stolice od zdravého dárce podáván nemocnému pacientovi, získalo popularitu jako potenciální terapie CCH (43). Už i v oblasti pediatrie se projevuje zvláštní zájem o FMT kvůli obavám pacientů a rodičů o možné nežádoucí účinky dlouhodobé léčby léky a jinými látkami již od raného věku (44).

Složení FMT je stále předmětem debat, s důrazem na bakteriální obsah darované stolice, která může pocházet od konkrétních dárců nebo být kombinovaná od více dárců, což poskytuje lepší výsledky při léčbě. Původně měli pacienti možnost určit své vlastní dárce, kteří jim byli mikroekologicky podobní, protože byli vybráni z pacientových rodinných příslušníků a přátel. Některé instituce později nabízely možnost jednoho nebo více anonymních dárců (42).

Stolice vybraných dárců stále vyžaduje pravidelné testování k vyloučení infekčních patogenů. Aby se zlepšila bezpečnost pacientů podstupujících terapii FMT, musí dárce splňovat seznam kritérií pro výběr. Před procedurou musí být poskytnuto podrobné lékařské osvědčení a lékařská anamnéza dárce, stejně jako testy stolice, sérologické testy a zejména informovaný souhlas (42). Určité instituce omezují dárce, kteří častěji cestují, mají sezónní alergie nebo rizikové sexuální chování. Dokonce se zamítají dárkyně, pokud u nich došlo k porodu císařským řezem (43).

Existují různé metody pro zavedení stolic pro transplantaci, včetně metod horního gastrointestinálního traktu (GIT) pomocí nasožaludeční, gastro-jejunální trubice nebo esofagogastroduodenoskopie, dolních GI metod (retence kyslíku nebo kolonoskopie), orální kapsle nebo dokonce více metod pro stejného příjemce (42). První studie při jednorázovém nasogastrickém a duodenálním podání FMT se setkaly s malým neúspěchem. Téměř všechny následující studie zkoumaly přímé podání FMT, ať už prostřednictvím klystýru nebo endoskopicky, do zanícené části střeva. Vzhledem k nyní akceptované potřebě opakovaných aplikací FMT pro potenciální klinický dopad jsou zkoumány alternativní systémy dodávky FMT s cílem minimalizovat náklady a maximalizovat pohodlí, což vede k zájmu o dodávku pomocí orálních kapslí (43). Avšak nejlepší způsob podání FMT je

považován za závislý na typu a lokalizaci IBD. V případě CCH s ileálním zánětem střeva je účinnější gastro-jejunální podání při snižování střevních lézí (42).

2.4. Chirurgická léčba

Na rozdíl od ulcerózní kolitidy, kde chirurgická resekce dokáže v podstatě eliminovat onemocnění, jsou všechny chirurgické intervence u CCH paliativní. Rozhodnutí operovat může být jednoduché (v případě masivního krvácení nebo volné perforace), ale častěji jde o obtížné multidisciplinární rozhodnutí (46). Chirurgická léčba CCH není vždy jednoduchá a může mít svá vlastní rizika a vedlejší účinky. Bývá indikována u symptomatického strikturujícího onemocnění, které je rezistentní nebo nevhodné pro léčbu léky a endoskopickou terapií. Dále tak u případů spojených s podezřením na malignity nebo penetrujícího onemocnění zejména s komplexními fistulami (6). Chirurgické intervence zahrnují resekci střeva, strikturoplastiku nebo drenáž abscesu. Jedna z těchto intervencí je vyžadována až u dvou třetin pacientů s CCH během jejich života. Nejběžnější indikace pro chirurgickou resekci zahrnují i lékově refrakterní onemocnění, perforace střeva, perzistentní nebo recidivující obstrukce, abdominální abscesy nevhodné pro perkutánní drenáž, nekontrolovatelná krvácení, dysplazii nebo rakovinu (45). Chirurgická resekce při brzké diagnóze nebo v časném průběhu onemocnění může vést k delším obdobím klinické remise, sníženému dlouhodobému chirurgickému riziku a snížené potřebě kortikosteroidů a biologických terapií během následného sledování (6).

Důležitou alternativou k resekci střeva při léčbě vybraných fibrózních stenóz je strikturoplastika a měla by být prováděna vždy, když je to možné. Můžeme tak předejít komplikacím, jako je syndrom krátkého střeva, který vede k malabsorpci, průjmům žlučových solí, stolici s vysokým obsahem tuku a nadměrnému bakteriálnímu růstu v tenkém střevě. Nejčastější formou strikturoplastiky je Heineke-Mikuliczova strikturoplastika. Provádí se, když délka stenózy tenkého střeva je menší než 10 cm (45). Dále se preferuje laparoskopický přístup před laparotomií kvůli rychlejšímu zotavení, menšímu výskytu adhezí a srovnatelným mírám chirurgické recidivy. S použitím databáze Amerického chirurgického kvalitativního zlepšovacího programu (NSQIP) provedla nedávná studie hodnocení chirurgických výsledků u strikturujícího onemocnění a zjistila, že laparoskopie je spojena s menším výskytem komplikací a kratší délkou pobytu v nemocnici (6).

Pacienti s abdominálním abscesem a aktivním lumenálním onemocněním by měli být

raději léčení antibiotiky, perkutánní nebo chirurgickou drenáží, následovanou odloženou intestinální resekcí, pokud je to považováno za nutné (45).

2.5. Nutriční léčba

Existuje několik různých typů nutriční terapie. Tyto terapie se liší v délce trvání léčby, indukovaných výsledcích a nutričním složení (47). Nejčastěji se uvádí 4 nutriční terapie. První z nich je tzv. exkluzivní enterální výživa (EEN). Skládá se z kompletní tekuté formulace, která obsahuje všechny nutriční požadavky a vylučuje běžné potraviny na určité období. Aplikuje se prostřednictvím předem smíchané formulace podávané ústy nebo pomocí nazogastrického tubusu (NGT). EEN se od devadesátých let prosazuje jako terapie první volby. Lékaři tímto posilují názor, že kortikosteroidy a imunosupresivní léčba, by se měla využívat pouze v ojedinělých případech (13). Implementace EEN je velmi bezpečná, ačkoli existují drobné obavy, například osmotický průjem. Vzhledem k tomu, že EEN není lék, nemusíme zvažovat možné zhoršení vedlejších účinků v důsledku interakcí se současně podávanými léky (49). U částečné enterální výživy (PEN) pacient dostává pouze část nutričních potřeb v podobě tekutých formulací, které jsou podávány orálně nebo pomocí sondy. Dále se pacientům podává i menší množství běžné denní stravy. Nedávno popsána dieta vylučování pro Crohnovu chorobu (CDED) omezuje expozici živočišných tuků, určitým typům masa, lepku, maltodextrinu, emulgátorům, siřičitanům a určitým monosacharidům. Posledním typem nutriční léčby je CD-TREAT, což znamená Crohnova choroba léčená stravou a jedná se o individuálně upravenou dietu založenou na běžné stravě, která má za cíl napodobit účinky EEN (3).

Vliv stravy jak na základní patofyziologii, tak na léčbu Crohnovy choroby, zůstává oblastí aktivního výzkumu, s omezenými lidskými údaji, které by mohly vést praktiky a pacienti. Nejnovější směrnice Amerického kolegia gastroenterologů (ACG) o léčbě CCH u dospělých uznává, že i když dietní terapie mohou být účinné u některých pacientů s CCH, tyto výhody často nejsou trvalé a nejlépe fungují jako doplněk k tradičním terapiím (47). Avšak změny stravování jsou užitečné při snižování symptomů, jako jsou bolesti břicha, průjem a zmírnění nežádoucích komplikací (48). Během posledních dvaceti let se cíle léčby u CCH posunuly od úlevy od příznaků k indukci hojení sliznice, přičemž pokračují v udržování růstu, výživového stavu, kvality života a vyhýbání se vedlejšími účinkům (13). Nicméně mechanismy, kterými tyto terapie indukují a udržují remisi, zůstávají nejasné.

Jako potencionální mechanismy pro zlepšení nutričního stavu se doporučuje podpora protizánětlivé odpovědi a zvýšení produkce vrozených obranných proteinů, omezení expozice lumenálních antigenů, zlepšení permeability střev a změny v mikrobiotě střeva (3).

3. Role genetiky u Crohnovy choroby

I přestože patofyziologie Crohnovy choroby není dosud plně pochopena, nyní se předpokládá, že složitá interakce mezi enviromentálními, genetickými a střevními mikrobiálními faktory způsobuje patologickou autoinflamatorní reakci zaměřenou na střeva (1). Většinu identifikovaných genetických příčin CCH spojujeme s defekty v epitelové bariéře, neutrofilů, T-buňkami a B-buňkami, regulačními T-buňkami a interleukinem 10 (IL-10) signálováním nebo s jinými hyperinflamatorními a autoinflamatorními poruchami. Kvůli dobře definované genetice u pacientů postižených CCH mohou lékaři využívat translační studie identifikující zapojené dráhy a potenciální enviromentální spouštěče, které vedou k identifikaci terapeutických cílů (53).

Studie asociací na úrovni celého genomu (GWAS) se stala nedílnou součástí výzkumného oboru multifaktoriálních onemocnění. Analýza polymorfismů nebo genů náchylných k onemocnění pomocí GWAS nabízí nové možnosti pro léčbu CCH a vyhnutí se vedlejším účinkům léků (50). Asociační studie zaměřená na celý genom identifikovala více než 200 alel spojených s IBD, z nichž 37 jsou specifické pro CCH. Objev genů spojených s vnímáním bakterií a vrozenou imunitou, souvisejících s funkcí Th17 buněk (*NOD2*, *ATG16L1*, *LRRK2*, *IRGM*, *IL23R*, *HLA*, *STAT3*, *JAK2* a Th17 dráhy) a změněnou vrstvou hlenu mucin 2 (*MUC2*) přinesl hlavní poznatky do patogeneze onemocnění. Tato zjištění ukázala na změněnou manipulaci s bakteriemi jako na klíčový faktor a vedla k objevu nových terapeutických cílů (1). Další zásadní klíčovou složkou, která dokáže ovlivnit výsledek onemocnění, je prostředí (50). Kromě poskytnutí náhledu do etiopatogeneze CCH je primárním cílem genetiky nabídnout nové informace, které se promítnou do lepších prognostických, diagnostických a terapeutických aplikací a rozhodnutí. Zatím genetická analýza neposkytuje dostatečnou diagnostickou/prognostickou hodnotu pro pacienty s CCH mimo výše uvedená kritéria. Avšak použití selektivního genotypování zůstává předmětem aktivní diskuze. Nyní jsou k dispozici komerční testovací sady, které zahrnují genotypizaci čtyř genů se známou náchylností, a to konkrétně autophagy related 16 like 1 (*ATG-16L1*), extracellular matrix protein 1 (*ECM1*), NK2 Homeobox 3 (*NKX2-3*) a signal transducer and activator transcription 3 (*STAT3*). Tyto testy jsou prováděny ve spojení s panelem sérových markerů a se sérovými protilátkami proti bakteriím, přičemž posledně jmenované se zdají být klíčovým prvkem komerční diagnostické sady. Naopak prognostická testovací sada pro CCH od stejného dodavatele obsahuje pouze sérové protilátky proti bakteriím, ale ne

genotypizace, což naznačuje omezení našeho současného poznání genetiky CCH (53).

Po mnoho let rodinné studie a studie zkoumající genetiku dvojčat naznačují genetickou predispozici při patogenezi IBD. Prevalence CCH mezi příbuznými pacientů s téže chorobou bývá významně vyšší než v základní populaci, kde se pohybuje mezi 2-15 %, přičemž vyšší náchylnost k onemocnění je u sourozenců pacientů (25-35 %). Nicméně mít člena rodiny s IBD (konkrétně CCH) zůstává nejsilnějším známým faktorem rizika pro vznik CCH. Příspěvek k objevu zvýšené incidence CCH u dvojčat a rodin s více postiženými členy definitivně podnítl zájem o molekulární studie po celém světě, především sbíráním pacientů s CCH z rodin s více postiženými členy. Následně se provádí případově-kontrolní asociační studie kandidátních genových markerů nebo studií spojitosti pomocí mikrosatelitních markerů. To vedlo k identifikaci kandidátního lokusu na krátkém rameni chromozomu 16 pacientů s CCH, který byl označen jako *IBD1* (51).

3.1. Varianty predispozičních genů CCH

Genetické faktory byly široce považovány za hlavní rizikový faktor pro vznik IBD, ale příspěvek jediné varianty se ukázal velmi skromný, protože nejsilnější genetické účinky byly prokázány u interleukin 23 receptor (*IL23R*), nucleotide binding oligomerization domain containing 2 (*NOD2*) a human leukocyte antigen (*HLA*). Kromě toho mohou identifikované genetické varianty mít divergentní účinek na predispozici k onemocnění. Například *NOD2* je rizikový faktor pro CCH, ale naopak ochranný faktor pro UC. Nakonec tyto varianty mají obvykle nízkou nebo střední penetranci, což zdůrazňuje složitost a polygenní povahu onemocnění (51).

Rizikové geny specifické pro CCH, jako jsou například *NOD2*, *ATG16L1* a *IRGM* (immunity related GTPase family M protein), upoutaly pozornost na vrozenou imunitu obecně a konkrétně na rozpoznání mikrobů a autofagii (50). Termín autofagie se primárně odkazuje na intracelulární lysozomální degradační proces pro recyklaci dlouhodobých a poškozených proteinů při udržování normální buněčné homeostázy. Autofagie je klíčový proces pro přežití buňky, který funguje na principu degradace proteinů a membránových lipidů, čímž poskytuje aminokyseliny a volné mastné kyseliny pro syntézu proteinů a produkci ATP (61). *NOD2* spouští autofagii rekrutací *ATG16L1* na buněčnou membránu na místě vstupu bakterií. Dendritické buňky u pacientů s CCH, s mutací v *NOD2* nebo *ATG16L1*, jsou vadné v autofagii, manipulaci s bakteriemi a prezentaci antigenu (50). I přestože byly

dosaženy určité pokroky, genetika sama o sobě nedokáže úplně objasnit veškerou variabilitu onemocnění a fenotypů. Proto není genetické hodnocení používáno jako samostatná diagnostická metoda v klinické praxi. Nicméně, i když genetika není schopna vysvětlit všechny aspekty choroby, stále poskytuje cenné informace pro výzkum a lepší porozumění mechanismům onemocnění (1).

Několik studií se pokusilo korelovat genotyp s fenotypem a aplikovat informace o genotypizaci k predikci průběhu onemocnění. Kromě vzácných variant a genů přenášených prostřednictvím Mendelovy dědičnosti, které oba projevují korelaci s časným začátkem a závažnou kolitidou. Studie z projektu European IBDchip zjistila, že lokusy náchylnosti v genu *NOD2* byly významně spojeny s ileální lokalizací, stenotickým a penetrantním chováním a potřebou chirurgického zákroku. Stejně tak bylo u CCH zjištěno, že rozvíjející se onemocnění bylo spojeno s *IL23R* a *NOD2*, zatímco potřeba chirurgického zákroku byla spojena s *IRGM* a *NOD2*. Stenotický fenotyp byl spojen s *NOD2*, *JAK2* a *ATG16L1* (53).

3.1.1. *NOD2*

První genový polymorfismus, spojený s CCH, byl již zmíněný jako *NOD2* umístěný na chromozomu 16. Tento gen, bývá také označován jako caspase recruitment domain family member 15 (*CARD15*) (52). Role *NOD2* ve vývoji CCH je známa již více než 20 let. Ačkoliv skutečný rozsah zapojení do patogeneze onemocnění je pravděpodobně podhodnocen a zůstává v klinickém prostředí většinou nerozpoznán. Těžce replikované studie GWAS, současné údaje ze sekvenování nové generace a nové funkční anotace přímo spojující dysfunkci *NOD2* s intestinální fibrózou, tímto naznačují, že příspěvek *NOD2* ke CCH má významnou a neřešenou složitost (55).

NOD2 kóduje protein, který hraje klíčovou roli v přirozeném imunitním systému (52). Je exprimován v granulocytech, dendritických buňkách a T-buňkách, s největším projevem v terminálních ileálních Panethových buňkách (55). Tento protein rozpoznává bakteriální produkt peptidoglykan muramyl dipeptid (MDP), který se nachází ve všech gram-pozitivních a gram-negativních bakteriích (52). Po detekci bakterií *NOD2* vytváří aktivní oligomer, který rekrutuje adaptérní proteiny k vyvolání kaskády signálních drah. Tyto signální dráhy nakonec vedou k expresi zánětlivých genů nebo stimulují autofagii prostřednictvím asociace s *ATG16L1*. Funkční dopad poškození variant *NOD2* většinou vyvolává svůj účinek prostřednictvím ztráty protizánětlivé signální dráhy a narušené autofagie (prostřednictvím

neschopnosti interakce s *ATG16L1*). Celkově dochází k narušení odstranění bakterií, což vede ke zvýšení alternativních zánětlivých drah (55).

NOD2 detekuje konzervované fragmenty nalezené v buněčné stěně mnoha typů bakterií a aktivují intracelulární signální dráhy, které vyvolávají protizánětlivé a antimikrobiální odpovědi. Dále *NOD2* detekuje bakteriální produkty v hostitelském cytosolu, poskytující další úroveň mikrobiálního sledování, která je často spojena s invazí patogenů (54). Úplnější pochopení vztahu mezi konkrétními genetickými variantami *NOD2*, dysfunkcí proteinu a fenotypy pacientů má potenciál informovat klinické řízení a přinést přímé výhody pacientům (55).

Polymorfismy v genu *NOD2* jsou nejsilnějšími známými genetickými faktory rizika při vývoji Crohnovy choroby (54). Nyní tři nejběžnější mutace spojené s CCH v *NOD2* *Arg702Trp* (Arginine 702 Tryptophan), *Gly908Arg* (Glycine 908 Arginine) a *Leu1007fsinsC* (Leucine 1007 frameshift insertion C) hrají zásadní roli v rozpoznávání a detekci mikrobů. Vázáním mikrobiálních ligandů aktivuje *NOD2* transkripční faktor, nukleární faktor- κ B a pozitivně reguluje vrozenou imunitní obranu hostitele. V případě jedinců evropského původu nese heterozygotní nosič jedné rizikové varianty dvou až čtyřnásobný nárůst rizika pro CCH. Zatímco homozygotní nosič nebo nosič s kombinovanou heterozygotní genotypizací vykazuje sedmnácti až čtyřicetnásobný nárůst rizika pro CCH (1). U většiny jedinců s homozygotními mutacemi genu *NOD2* se však CCH nevyvine. Tento fakt naznačuje, že environmentální faktory, změny v imunitní regulaci anebo střevní mikrobiota jsou klíčové pro vývoj onemocnění (54).

Dále data z exomové sekvence přinesla další důkazy o roli variací v *NOD2* jako příčiny CCH. Nezávislé studie pravidelně uváděly zdánlivě autosomálně recesivní monogenetické onemocnění související s *NOD2*, které je příčinou 7,3-10 % pacientů s CCH. Sekvence exomů v těchto dvou nezávislých studiích, zahrnující dospělé i dětské pacienty s nástupem onemocnění, prokázala konzistentní vzor, kdy nesení etablované *NOD2* rizikové varianty bylo spojeno s mnohem vzácnější variantou v trans na druhém rodičovském chromozomu (55).

3.1.2. *IL23R*

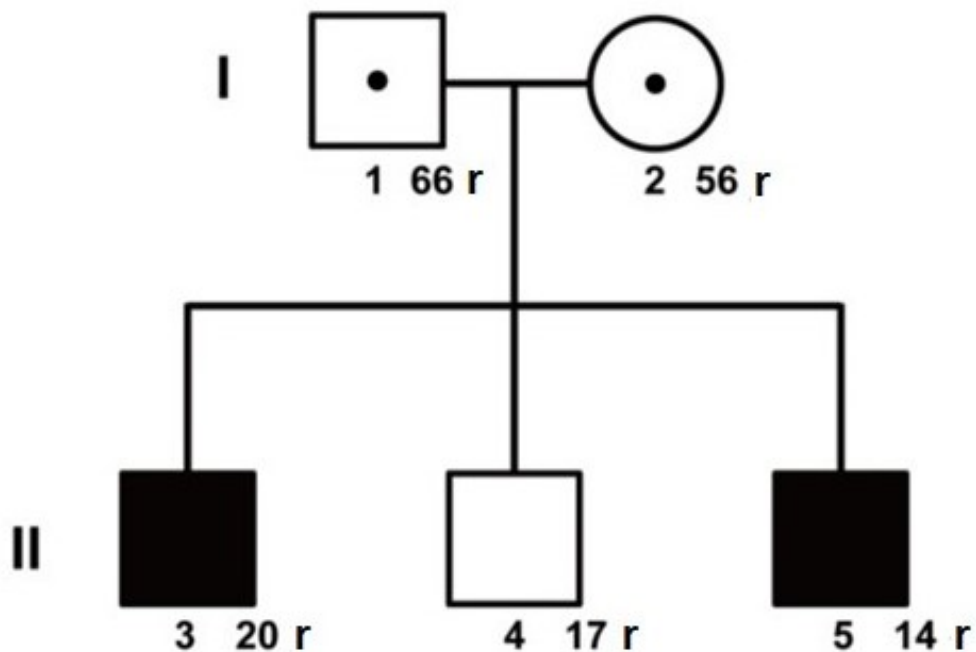
IL23R hraje klíčovou roli v patogenezi Crohnovy choroby, jak naznačují genetické studie a experimentální data z různých modelů. Studie genomové asociace identifikovaly

varianty v genu *IL23R*, které jsou spojeny s náchylností ke CCH, což podtrhuje jeho důležitost v patogenezi této choroby (56).

Gen *IL23R* kóduje podjednotku receptoru pro zánětlivý cytokin interleukinu-23 (59). IL-23 (interleukin 23) je heterodimerní cytokin produkovaný aktivovanými makrofágy a dendritickými buňkami, skládající se ze dvou podjednotek, z nichž jedna je sdílena s cytokinem IL-12 (interleukin 12) (57). Tento cytokin se podílí na aktivaci specifických buněk imunitního systému, jako jsou CD4⁺ T-buňky, a vede k produkci protizánětlivých cytokinů, včetně interleukinu-17 (IL-17), důležitého mediátoru zánětu. Tato informace zdůrazňuje roli IL-23 v iniciaci a udržování zánětu spojeného s CCH a ukazuje na potenciální terapeutické cíle zaměřené na tuto cytokinovou dráhu (56). IL-23 se váže na specifický receptor prostřednictvím své N-terminální imunoglobulinové domény (60). Tento receptor IL-23 se skládá z běžné podjednotky, *IL-23Rβ1*, který je převážně exprimován na aktivovaných paměťových T-buňkách, klonovaných T-buňkách, buňkách natural killer (NK) a v nižší míře také v monocytárních, makrofágových a dendritických buňkách (57). Druhý protein nezbytný pro IL-23 signalizaci, se označuje jako *IL-23Rα*. Po vázání IL-23 na svůj receptor se aktivují Janus kinase 2 (*JAK2*) a Tyrosine kinase 2 (*Tyk2*), následované aktivací a jadernou translokací transkripčních faktorů (STAT3) a Signal transducer and activator transcription 4 (STAT4) (60). Terapie zaměřená na blokaci IL-23 a IL-12 je nyní schválena pro léčbu zánětlivých onemocnění střev, což podporuje jeho význam v patogenezi a léčbě Crohnovy choroby (56).

Bylo také zjištěno, že hladiny sérových cytokinů souvisejících s Th17, jako jsou IL-17 a IL-22 (interleukin 22), jsou zvýšeny u pacientů s CCH a korelují s aktivitou onemocnění. Gen *IL23R* se nachází na chromozomu 1p31 a obsahuje nejméně 11 exonů. Kromě Th17 lymfocytů byla jeho exprese a citlivost na IL-23 pozorována v několika typech buněčných linií, včetně makrofágů, neutrofilů, NKT (natural killer T-buněk) a dendritických buněk. Několik jednonukleotidových polymorfismů (SNP) v *IL23R* bylo spojeno s náchylností ke CCH u evropských populací (58). Studie zaměřené na gen *IL23R* ukázaly jeho důležitou roli v patogenezi CCH. Pilotní studie provedená na 547 pacientech identifikovala asociaci mezi variantami genu *IL23R* na chromozomu 1p31 a ileální CCH. Konkrétně neobvyklá kódovací varianta *p.Arg381Gln* (protein Arginine 381 to Glutamine) poskytovala silnou ochranu proti této chorobě, zatímco další nekódující varianty *IL23R* byly nezávisle spojeny s rizikem vzniku CCH. Tyto výsledky byly podpořeny replikačními studiemi, které potvrdily asociace *IL23R* v nezávislých kohortách pacientů s IBD, což naznačuje, že riziko vzniku jak CCH, tak

i UC, je ovlivněno variantami genu *IL-23R* (60). Pokroky v technologiích sekvenování nové generace umožnily systematické vyhledávání vzácných genetických variant přispívajících k onemocnění u lidí. Vzácné genetické varianty přispívající k onemocnění se mohou vyskytovat například v triech (rodiče a potomek) nebo jiných rodinných vztazích (56). Na základě této koncepce se vytvořila studie zkoumající predispozici CCH u japonských jedinců pomocí celoexomového sekvenování. Do studie byla zařazena rodina o pěti členech, zahrnující zdravé rodiče a tři sourozence. První a třetí syn měli CCH, zatímco druhý syn byl zdravý (Obrázek 4). Otec nacházející se pod číslem 1 (označen symbolem přenašeče nemoci), matka se nachází pod číslem 2 (ta je označena symbolem pro mutaci onemocnění). Zdravý syn (4), starší a mladší postižený syn (3 a 5). Věk je uveden v levém okraji v letech (r).



Obrázek 4: Studijní rodokmen. Převzato a upraveno (64).

Diagnóza CCH byla stanovena na základě standartních klinických, radiologických, endoskopických a histologických kritérií a byla vyloučena střevní infekce. Analýza zahrnovala různé genotypy a modely, včetně dominantního modelu porovnávání AA (homozygotní genotyp adeninu) a AG (heterozygotní genotyp) s GG (homozygotní genotyp guaninu), modelu porovnávajícího AG s GG a modelu alely (analyzující výskyt alely G). Všechny tyto modely prokázaly statisticky významnou asociaci s CCH. Tyto výsledky

naznačují, že varianta *G149R* (Glycin 149 Arginin) může hrát důležitou roli v riziku vzniku CCH (64).

3.1.3. *ATG16L1*

Gen *ATG16L1* se nachází na chromozomu 2q37.1 a skládá se z devatenácti exonů (63). Existuje ve 3 alternativních splicingových isoformách (a, b a g). Jedná se o adaptérní protein složený z N-terminální oblasti vázající se na autophagy related protein 5 (*ATG5*) a aminoterminální domény svinuté do spirály, následované 7 opakujícími se doménami tryptofan-kyselina asparagová (61). Polymorfismus v *ATG16L1* byl spojen se zvýšeným přenosem bakteriální DNA z trávicího traktu do krve u pacientů s CCH, což může ovlivňovat účinnost anti-TNF α terapií. Také bylo zjištěno, že několik jednonukleotidových polymorfismů (SNP) v oblasti *ATG16L1* souvisí s klinickými charakteristikami CCH, včetně závažnosti onemocnění (64). V kontextu předchozích kapitol, kde byla zmíněna role SNP v patogenezi CCH, se ukazuje, že některé z těchto SNP se nacházejí v genech spojených s autofagickou dráhou. Tato dráha hraje klíčovou roli v homeostáze buněk a má vliv jak na imunitní systém, tak na adaptivní imunitní systém. SNP v genu *ATG16L1* byly spojeny s vyšším rizikem vzniku CCH (61).

Výzkum Lavoie a kolegů se zaměřil na mutovaný gen známý jako *ATG16L1 T300A* (Threonine 300 Alanine), který zvyšuje riziko vzniku CCH u lidí. Experimenty porovnávaly myši s tímto lidským mutovaným genem s těmi, které ho neměly. Myši začaly jako bezgermové, což znamená, že neměly žádné bakterie ve střevech. Lavoie a kolegové pak myši vystavili vzorkům lidských stolic, které obsahují bakterie střeva, a po měsíci analyzovali střeva myši. Průměrně měly mutované myši více bakterií rodu *Bacteriodes* a Th17 buněk ve svých střevech než normální myši. Nicméně žádná z myši nevyvinula zánětlivé onemocnění střev, což naznačuje, že změny ve střevní mikroflóře a imunitních buňkách mohou nastat předtím, než lze onemocnění diagnostikovat (62). Varianta *T300A* je nejrozšířenější ze všech variant *ATG16L1*, představující asi 55 % alel v evropské populaci a 20-40 % alel v ostatních populacích. Správně fungující *ATG16L1* se uvádí jako nezbytný pro odstranění bakterií a vytváření antigenspecifických T-buněčných odpovědí (61).

3.1.4. *IRGM*

IRGM známý také jako interferon-inducible protein 1 (*IFI1*) hraje klíčovou roli v iniciační rezistenci vůči intracelulárním patogenům. Jeho funkce jako regulátor autofagického toku umožňuje ovlivňování lokalizace proteinů vážících se na glykoforin a dalších faktorů, což má vliv na buňkou-autonomní imunitní rezistenci. Gen *IRGM*, umístěný na chromozomu 5q33.1, obsahuje 5 exonů a 4 introny. Genetické mutace v *IRGM* mohou ovlivnit autofagické čištění intracelulárních bakterií, vést k přežití intracelulárních bakterií, aktivovat imunitní odpověď a tím zvýšit náchylnost ke CCH (66).

Několik SNP v *IRGM*, jako jsou *rs13361189*, *rs10065172* a *rs4958847*, bylo zkoumáno již v dřívějších studiích (66). Tyto polymorfismy byly spojeny s náchylností ke CCH, což představuje jeden z nejstarších dokumentovaných příkladů role autofagie v lidských onemocněních. *IRGM* ovlivňuje autofagii a vykonává své protizánětlivé a antimikrobiální funkce pomocí čtyř konvergentních mechanismů. Za prvé nepřímou aktivací activated protein kinase (*AMPK*) a stabilizací jadrových regulátorů autofagie. Za druhé asociací s jádrem autofagie a řízením jeho sestavení. Za třetí fyzickým spojením s cytoplazmatickými receptory signalizujícími přítomnost mikroorganismů a následným čištěním mikrobů a jejich produktů, čímž se předchází infekci a nadměrné zánětlivé reakci. Tím se potvrzuje významná role *IRGM* v jádře autofagického zařízení a jeho propojení s přirozenou imunitou. Snížená funkce nebo aktivita tohoto genu by mohla vést k přetrvání intracelulárních bakterií, což by mohlo způsobit poškození tkáně a chronický střevní zánět (65).

První spojení mezi autofagií a IBD vzniklo objevem asociace mezi CCH a dvěma genovými variantami, *ATG16L1* a *IRGM*. *ATG16L1* kóduje protein, který funguje jako molekulární kostra, zprostředkovávající protein-proteinové interakce nutné pro tvorbu autofagozomů v odpovědi na různé stimuly autofagie. *IRGM* je gen, který kóduje GTP-vazebný protein a má klíčovou roli v přirozené imunitní odpovědi, regulující tvorbu autofagie v reakci na intracelulární patogeny. Experimenty provedené na myších modelech prokázaly, že exprese muriního homologu leucine rich alpha 2 glycoprotein 1 (*LRG-47*) je indukována interferonem a stimuluje makroautofagii k tvorbě velkých autolysosomálních organel, což slouží jako mechanismus pro odstranění intracelulárních organismů. I když lidský *IRGM* nemá odpověď na interferon, bylo prokázáno, že plní podobnou roli při eliminaci intracelulárních patogenů (67).

3.1.5. *LRRK2*

Leucine rich repeat kinase 2 (*LRRK2*) je protein s několika funkčními a interakčními doménami proteinu. Obsahuje doménu Ras of complex (ROC) s GTPázovou aktivitou, doménu spojovacího C-konce (COR) a kinázovou doménou patřící do rodiny proteinů interagujících s receptory. *LRRK2* byl identifikován jako faktor rizika u CCH, malomocenství a určitých typů rakoviny. Jelikož je *LRRK2* vysoce exprimován v B-lymfocytech a myeloidních buňkách a tyto nemoci jsou spojeny se zánětem, zaměření se obrátilo na imunitní systém s cílem objasnit fyziologické a patofyziologické role *LRRK2*. Účinky *LRRK2* na autofagii zůstávají enigmatické, protože existují rozporné zprávy v různých modelových systémech. V makrofázích bylo prokázáno, že knockdown (KD) *LRRK2* brání autofagickému toku, zatímco exprese nejběžnější patogenní mutace, kinázově hyperaktivní *LRRK2 G2019S* (Glycine 2019 Serine), zvyšuje tvorbu autofagosomů (68).

Studie zjistily, že gen *LRRK2* je součástí síťového propojení genů spojených s CCH, což naznačuje jeho účast v patogenezi této choroby. Z 622 genů v této síti bylo 102 CCH asociovaných genů, což značí, že *LRRK2* hraje klíčovou roli v této biologické souvislosti. Tato asociace je podpořena propojením *LRRK2* s dalšími geny spojenými s CCH, jako je *GPR65* (Protein-coupled receptor 65) a *HLA-DPA1* (Human leukocyte antigen DP α 1), což naznačuje, že *LRRK2* může být důležitým faktorem výskytu CCH a současně je spojen i s Parkinsonovou chorobou. Dále studie zkoumaly, jak rizikové alely *LRRK2 N2081D* (Asparagine 2081 to Aspartic acid) ovlivňují lokalizaci onemocnění CCH. Zatímco 80,5 % pacientů s CCH, kteří byli homozygotní pro divoký typ alely *LRRK2*, měli postižení ilea. U heterozygotních a homozygotních nositelů varianty *N2081D* bylo postižení ilea zaznamenáno u 86,1 % až 90,9 % jedinců. Dále bylo nesení už zmíněné alely významně spojeno s mladším věkem nástupu onemocnění (jedinci bez alely 26,5 let, heterozygotní nositelé 24,6 let a homozygotní nositelé 20,8 let) (69).

3.1.6. *HLA*

Různé úrovně specifické exprese alel *HLA* jsou spojeny s lidskými chorobami, včetně Crohnovy choroby. Nové metody založené na ribonukleové kyselině (RNA) a sekvenování další generace umožňují systematickou analýzu exprese alel *HLA* a identifikaci změn mezi jednotlivci a mezi zdravými a nemocnými jedinci. Tyto studie poskytují důležité informace

o úloze *HLA* genů v imunitní odpovědi, která hraje klíčovou roli v patogenezi CCH. Analýza specifické exprese alel *HLA* ukazuje, že některé alely mohou být spojeny s vyšším rizikem vzniku CCH, zatímco jiné mohou sloužit jako ochranné faktory. Tato poznání mohou vést k lepšímu porozumění mechanismů, které stojí za vývojem Crohnovy choroby, a mohou tak být potenciálně využita pro predikci a léčbu tohoto onemocnění, včetně možnosti lépe vyhodnotit vhodnost pacientů pro hematopoetickou transplantaci kmenových buněk (70).

Statisticky významný vztah alel *HLA* s CCH byl široce zaznamenán, zejména u *HLA* třídy II antigenů, což zahrnuje metaanalýzu od Stokkers et al. Nicméně, interpretace dat z těchto analýz by měla být prováděna opatrně, protože zahrnují údaje získané jak serologickým, tak molekulárním typováním *HLA*, a to i ze studií prováděných na různých etnických skupinách. Několik studií zveřejnilo spojení alel *HLA* třídy I s CCH v japonské populaci. V již zmíněné studii identifikovali dvě nové náchylné alely třídy I *HLA*, *HLA-A02:01* a *HLA-A02:07*, a dvě ochranné alely, *HLA-A24:02* a *HLA-B07:02*, pro CCH v japonské populaci. Signály asociace nebyly významné po úplné korekci Bonferroni. Náchylnost poskytovaná alelami *HLA-A*02* může být způsobena polymorfními změnami aminokyselin v těchto alelách, které se vyskytují uvnitř kapsy B v antigenové vazební rýze molekuly *HLA-A2*. Tyto zjištění naznačují přímou účast molekuly třídy I *HLA* na náchylnost a odolnost vůči CCH prostřednictvím regulace imunitní odpovědi gastrointestinální oblasti (71).

3.1.7. *STAT3*

STAT3 je latentní cytoplazmatický transkripční faktor, který se aktivuje fosforylací tyrozinu. Po aktivaci se *STAT3* může dimerizovat a translokovat do jádra, kde indukuje transkripci genů. Jeho klíčová role v signalizaci prozánětlivých cytokinů, jako je interleukin-6, naznačuje jeho význam v patogenezi roztroušené sklerózy a zánětlivých onemocnění střev, jako je Crohnova choroba. *STAT3* bývá také často spojován s genetickými polymorfismy, které přispívají ke riziku vzniku CCH. Určité polymorfismy v oblasti *STAT3* byly identifikovány jako faktory zvýšené susceptibility ke CCH. Například polymorfismus *rs744166* byl spojen s CCH v některých studiích (konkrétně ve studii GWAS). Tyto genetické varianty mohou ovlivňovat funkci *STAT3* a jeho schopnost regulovat imunitní odpovědi, což má potenciální dopad na patogenezi CCH (72).

Výzkumy naznačují, že *STAT3* hraje klíčovou roli v patogenezi CCH prostřednictvím

regulace imunitních odpovědí. Konstitutivní aktivace *STAT3* v intestinálních T-buňkách pacientů s CCH naznačuje abnormální signalizační dráhu spojenou s tímto onemocněním. Současně zjištění konstitutivní exprese suppressor of cytokine signaling 3 (*SOCS3*) u pacientů s CCH ukazuje na možný mechanismus rezistence těchto buněk vůči exogenním cytokinům, což podporuje návrh, že dysregulace signalizace prostřednictvím *STAT3* je klíčovým faktorem v patogenezi CCH. Tyto poznatky naznačují, že *STAT3* by mohl být potenciálním terapeutickým cílem pro obnovu imunitní homeostázy v intestinálním prostředí u pacientů s CCH (73).

3.1.8. *JAK2*

JAK2 je gen kódující proteinovou kinázu, která hraje klíčovou roli v signalizaci buněčného růstu a diferenciaci prostřednictvím *JAK2/STAT3* signální dráhy. Tato dráha není důležitá pouze pro regulaci hematopoézy, ale také pro imunitní odpověď střevní sliznice. V kontextu s CCH může dysregulace *JAK2/STAT3* signální dráhy hrát klíčovou roli v patogenezi onemocnění. Studie naznačují, že zvýšené riziko myeloproliferativních neoplazií (MPN) u pacientů s CCH, může souviset s dysregulací *JAK2* signalizace. Konkrétně mutaci *JAK2 V617F* (Valine 617 Phenylalanine) spojujeme s MPN, jako je esenciální trombocytopenie, pravá polycytémie a idiopatická myelofibróza, které způsobují trombotické komplikace. V rámci CCH může nadměrná aktivace *JAK2/STAT3* dráhy vést k chronickému zánětu střevní sliznice a exacerbaci symptomů onemocnění (74).

3.2. Úloha genů v diagnostice CCH

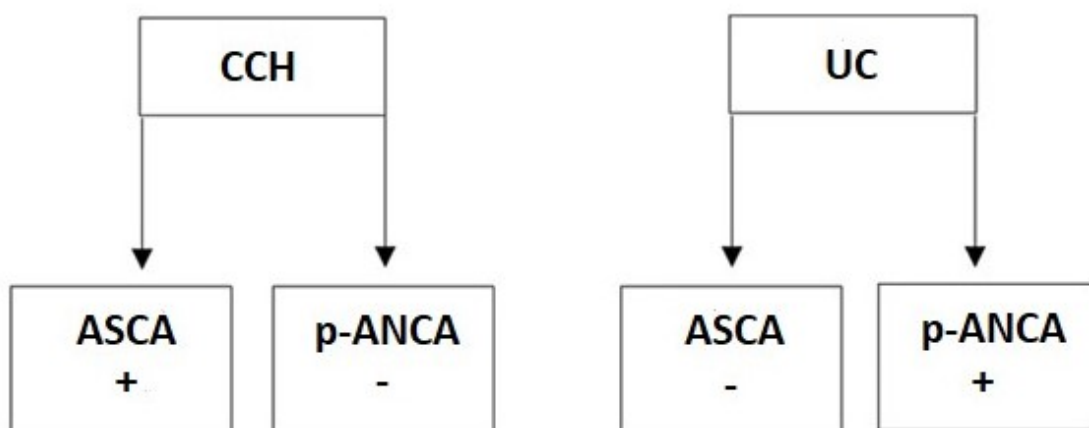
Stanovení definitivní diagnózy CCH by mělo být založeno na kombinovaném hodnocení klinických, endoskopických, radiologických a patologických rysů. I když segmentové rozložení choroby, transmuralní zánět a nekazivní epitelooidní granulomy byly považovány za znaky CCH, jasná diagnóza CCH u některých pacientů byla obtížná kvůli překrývajícím se endoskopickým, radiografickým a histologickým rysům s jinými stavy podobnými zánětlivému onemocněním střev (75). Protože CCH je chronické, znesnadňující a nevyléčitelné onemocnění, vyžaduje konečná diagnóza větší opatrnost, což představuje těžké finanční a psychologické zatížení pro pacienty, jejich rodiny a společnost (76).

Laboratorní markery (serologické a genetické testy) mohou poskytnout další nápovědu pro diagnózu a diferenciální diagnózu CCH. Tato recenze se zaměřuje na aplikaci aktuálně dostupných serologických a genetických markerů při diagnóze a diferenciální diagnóze CCH (75).

3.2.1. Serologické markery

Protilátky u CCH obecně zahrnují dvě kategorie, a to protilátky zaměřené na mikrobiální antigeny a autoprottilátky. Důležitost testování sérových protilátek při diagnostice CCH spočívá v tom, že může pomoci rozlišit pacienty s CCH od zdravé populace nebo pacientů se syndromem dráždivého tračníku a také rozlišit CCH od ulcerózní kolitidy (75). Serologické markery, které zahrnují protilátky proti povrchovým antigenům bakterií nebo hub, mohou odrážet fyziologické funkce, patologické procesy a terapeutické účinky. Mohou být objektivně měřeny a hodnoceny. I když panel serologických testů není doporučen pro rutinní diagnózu CCH, byly navrženy různé serologické testy k predikci chování CCH a k rozlišení CCH od ulcerózní kolitidy. Některé zprávy ukázaly, že protilátky proti kvasince *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) jsou přítomny u 60-70 % pacientů s CCH ve srovnání s 10-15 % u pacientů s UC a 0-5 % u zdravých jedinců. Naopak, perinukleární antineutrofilní cytoplazmatická protilátka (p-ANCA) je považována za relativně specifický marker pro UC, který má prevalenci 60-80 % ve srovnání s 10 % u pacientů s CCH (76). ANCA jsou definovány jako autoprottilátky směřující proti neidentifikované složce jádra v neutrofilních granulech. Při nepřímém imunofluorescenčním testu tyto protilátky vykazují barvení buď cytoplazmatické (c-ANCA) nebo perinukleární (p-ANCA) (78).

K rozlišení obou forem IBD může být prospěšné použití kombinace p-ANCA a ASCA. Bylo zjištěno, že pacienti s CCH a UC měli odlišný vzorec těchto kombinací protilátek. Pacienti s CCH měli pozitivní ASCA a negativní p-ANCA, zatímco ti s UC měli negativní ASCA a pozitivní p-ANCA. Obrázek č. 5 shrnuje výše uvedené informace. Zkratka CCH na obrázku značí Crohnovu chorobu a zkratka UC zase Ulcerózní kolitidu. ASCA jsou protilátky proti kvasince *Saccharomyces cerevisiae* a p-ANCA je perinukleární antineutrofilní cytoplazmatická protilátka (77).



Obrázek 5: Kombinace protilátek ASCA/p-ANCA u CCH a UC. Převzato a upraveno (77).

Další důležité mikrobiální protilátky jsou protilátky proti laminaribiosidové sacharidové antigenové složce (ALCA), protilátky proti chitobiosidové sacharidové antigenové složce (ACCA) a protilátky proti mannobiosidové sacharidové antigenové složce (AMCA). Tyto protilátky jsou novými serologickými biomarkery, které mohou pomoci při diagnostikování a kategorizaci pacientů s CCH. Všechny tři protilátky primárně cílí na buněčné stěny různých mikroorganismů jako jsou kvasinky, houby a bakterie. Ačkoliv pozitivní míry ALCA a ACCA jsou 20-40 % u CCH a pouze 10 % u UC, předpokládá se, že kombinace těchto nových protilátek s ASCA zvýší diagnostickou významnost pro CCH s adekvátní citlivostí a specifitou. Proto byl navržen kombinovaný test zahrnující p-ANCA, ASCA, anti-CBir1 (Anti-Caudatein Ira RNA) a anti-OmpC (Anti-Outer membrane protein C) pro diagnózu a diferenciální diagnózu CCH. Kombinace těchto markerů prokázala schopnost přesně predikovat výskyt CCH. Výsledky naznačují, že soubor serologických markerů je klinicky užitečnější pro diagnostiku CCH než jednotlivé markery (75). Důkazy ukazují, že stupeň imunitní reakce na různé mikrobiální antigeny je přímo spojen s vážností nemoci u daného pacienta, což znamená, že čím silnější je imunitní reakce, tím závažnější je průběh nemoci a naopak. U pacientů, kteří měli pozitivní test na p-ANCA, ASCA, anti-CBir1 a anti-OmpC, se častěji objevovaly komplikace, a to například vznik striktur a perforací, což souviselo se zvýšenou potřebou chirurgických zákroků než u pacientů, kteří měli test negativní. Asi u 72 % těchto pacientů s pozitivními mikrobiálními antigeny se dostavily komplikace, které následně vyžadovaly provedení chirurgických zákroků (77).

V dnešní době už jsou lékaři schopni detekovat CCH roky před diagnózou. Izrael

a kolektiv ve své studii poprvé prokázali, že 31,3 % pacientů s CCH byli před diagnózou pozitivní na protilátky proti ASCA-IgG (imunoglobulinu G) a ASCA-IgA (imunoglobulinu A). Celkově byl průměrný interval mezi detekcí ASCA a diagnózou 38 měsíců (rozmezí 22-77 měsíců). Později van Schaik a kolektiv s použitím séra odebraného v rámci studie European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition, testovali ASCA-IgG, ASCA-IgA, p-ANCA, anti-OmpC a anti-CBir1 ve vzorcích od 77 jedinců, u nichž se následně vyvinula CCH, a ukázali, že kombinace markerů byla vysoce prediktivní pro CCH (79).

3.2.2. Genetické testování

Sekvenční technologie vytvářejí velké množství dat, což umožňuje podrobnou analýzu lidské genetické variability a její vztah k fenotypovým vlastnostem, jako je např. náchylnost ke genetickým poruchám. Celoxomové sekvenování (WES) se zaměřuje pouze na 1-2 % našeho genomu, který je zodpovědný za kódování genů, a je tedy cenově dostupnější než WGS (celogenomové sekvenování). Přesto dokáže vzorkovat genetické varianty s nejvyšší šancí mít funkční dopad, jako jsou jednonukleotidové varianty (SNV). Dosud bylo WES skutečně velmi cenné pro objevení molekulárních mechanismů ležících v základech mnoha genetických onemocnění (80).

3.2.2.1. Celoxomové sekvenování (WES)

Extrakce DNA a její zpracování pro vyšetření exomů zahrnuje několik kroků, které slouží pro získání kvalitních dat pro následné sekvenování. Nejprve se DNA extrahuje z periferní krve nebo jiného biologického materiálu (krevní buňky, tkáň nebo buňky sliznice). Pro extrakci se využívají speciální extrakční kity. Extrahovaná DNA se fragmentuje na menší kousky, což je důležité pro následné sekvenování. Poté se používají komerční knihovny, které obsahují adaptéry pro připojení k sekvenční platformě. Vygenerovaná knihovna DNA se sekvencuje například na zařízení Illumina HiSeq (vysokokapacitní sekvenování). Během sekvence jsou přečteny a zaznamenány sekvence fragmentů DNA. Získaná data jsou analyzována pomocí bioinformatických nástrojů. Analytický proces zahrnuje zarovnání sekvencí na referenční genom, identifikaci variant ve vztahu ke genetickému stavu a možným fenotypovým projevům (81). Data z WES umožňují výzkumníkům přesněji identifikovat genetické příčiny mnoha mendelovských poruch. Tato

data jsou klíčová pro rozluštění genomické interpretace, která se zaměřuje na vztah mezi genotypem a fenotypem. Avšak před dosažením tohoto cíle je nutné vyřešit mnoho konceptuálních a technických problémů. Proto se zavedly datasety, které měly za cíl rozlišit exomy pacientů s CCH od exomů zdravých jedinců. Tyto datasety se již vyzkoušely v randomizované studii, kdy se použil dataset Kritické hodnocení interpretace genomu 2 (CAGI2), který je veřejně dostupný. Obsahuje 56 exomů, z nichž 42 jsou případy a 14 jsou kontroly (80).

3.2.2.2. Celogenomové sekvenování (WGS)

Celogenomové sekvenování je technologie, která poskytuje kompletní informaci o genetickém materiálu (DNA) organismu. U CCH se WGS využívá k analýze genomů a identifikaci genetických variant spojených s onemocněním. Tato technologie umožňuje zkoumat jak kódující, tak i nekódující části genomu, což je klíčové pro porozumění biologických mechanismů podílejících se na rozvoji CCH. Analyzované WGS data ze střevního mikrobiomu umožňují identifikovat změny v mikrobiální komunitě spojené s IBD a zkoumat vliv těchto mikrobiálních změn na imunitní systém hostitele. WGS vytváří diagnostické nástroje, jako je LightCUD, které dokáží efektivně rozlišovat mezi různými typy IBD a zdravými kontrolami na základě analýzy střevního mikrobiomu (84).

CCH vzniká v kontextu nevhodné aktivace imunitního systému střeva v reakci na environmentální spouštěcí faktor u jedinců s genetickou predispozicí (82). Dosavadní studie GWAS identifikovaly celkem 163 lokusů přecitlivělosti na IBD, z nichž 140 se týká CCH. Tyto lokusy GWAS významně zvyšují riziko náchylnosti k onemocnění (83). I když jsou zánětlivá onemocnění střev jedním z nejúspěšněji studovaných polygenních onemocnění s ohledem na identifikaci lokusů a rizikových alel, stále existují tři hlavní problémy. První problém představuje nedostatečná známost genetických faktorů zvyšujících riziko vzniku CCH. Dalším aspektem se stává nejistota ohledně skutečných zárodků genetických variant podléhajících GWAS asociacím. Poslední problém je nedostatek porozumění různým genetickým architekturám napříč populacemi (82).

Nicméně identifikované varianty dosud vysvětlují méně než 30 % kumulativní genetické variace pro CCH a je předpokládáno, že část tzv. chybějící dědičnosti může být nalezena ve vzácných variantách se závažnějšími účinky. Sekvenování nové generace umožňuje identifikaci nových variant v genomu a exomu a je proto preferovanou metodou

pro hledání nových vzácných predispozičních lokusů při studiu komplexních onemocnění (83).

4. Závěr

V této bakalářské práci byla detailně prozkoumána Crohnova choroba, chronické zánětlivé onemocnění trávicího traktu, která představuje výzvu pro pacienty i lékařské odborníky. Byly rozebrány diagnostické metody, léčebné strategie a genetické faktory spojené s tímto onemocněním, zejména geny *NOD2*, *ATG16L1* a *IRGM*. Dále byly zváženy různé klinické projevy Crohnovy choroby, včetně jejich fází remise a vzplanutí, a jejich vztah k prognóze a léčbě. Důkladně byly analyzovány faktory ovlivňující výskyt Crohnovy choroby, včetně genetických predispozic, enviromentálních faktorů a imunitní dysregulace.

Závěrem je zřejmé, že léčba Crohnovy choroby vyžaduje multidisciplinární přístup a individuální péči. Integrace poznatků z genetického výzkumu do klinické praxe nabízí naději na lepší pochopení mechanismů tohoto onemocnění a vývoj nových terapeutických strategií. Dále je třeba zdůraznit význam včasné diagnostiky a monitorování pacientů s Crohnovou chorobou, aby bylo možné optimalizovat jejich léčbu, zlepšit jejich kvalitu života. Navíc práce přináší nový pohled na využití genetických markerů pro diagnostiku a predikci průběhu onemocnění, což by mohlo vést k individuálnějšímu přístupu k léčbě.

Tato práce přispívá k rozšíření znalostí o Crohnově chorobě a poskytuje základ pro další výzkum a inovace v oblasti diagnostiky a léčby tohoto komplexního onemocnění.

5. Použitá literatura

- 1) TORRES, Joana, Saurabh MEHANDRU, Jean-Frédéric COLOMBEL a Laurent PEYRIN-BIROULET. Crohn's disease. *The Lancet* [online]. 2017, 389(10080), 1741-1755 [cit. 2023-11-17]. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(16)31711-1
- 2) BALLESTER FERRÉ, María Pilar, Marta Maia BOSCA-WATTS a Miguel MÍNGUEZ PÉREZ. Enfermedad de Crohn. *Medicina Clínica* [online]. 2018, 151(1), 26-33 [cit. 2023-11-17]. ISSN 00257753. Dostupné z: doi:10.1016/j.medcli.2017.10.036
- 3) VERBURGT, Charlotte M., Mohammed GHIBOUB, Marc A. BENNINGA, Wouter J. DE JONGE a Johan E. VAN LIMBERGEN. Nutritional Therapy Strategies in Pediatric Crohn's Disease. *Nutrients* [online]. 2021, 13(1) [cit. 2023-11-18]. ISSN 2072-6643. Dostupné z: doi:10.3390/nu13010212
- 4) GAJENDRAN, Mahesh, Priyadarshini LOGANATHAN, Anthony P. CATINELLA, Jana G. HASHASH a Johan E. VAN LIMBERGEN. A comprehensive review and update on Crohn's disease. *Disease-a-Month* [online]. 2018, 64(2), 20-57 [cit. 2023-11-18]. ISSN 00115029. Dostupné z: doi:10.1016/j.disamonth.2017.07.001
- 5) RODA, Giulia, Siew CHIEN NG, Paulo Gustavo KOTZE, et al. Crohn's disease. *Nature Reviews Disease Primers* [online]. 2020, 6(1) [cit. 2023-11-18]. ISSN 2056-676X. Dostupné z: doi:10.1038/s41572-020-0156-2
- 6) SLEIMAN, Joseph, Sara EL OUALI, Taha QAZI, Benjamin COHEN, Scott R. STEELE, Mark E. BAKER a Florian RIEDER. Prevention and Treatment of Strictureing Crohn's Disease – Perspectives and Challenges [online]. 2021, 15(4), 401-411 [cit. 2023-11-18]. ISSN 1747-4124. Dostupné z: doi:10.1080/17474124.2021.1854732
- 7) LICHTENSTEIN, Gary R, Edward V LOFTUS, Kim L ISAACS, Miguel D REGUEIRO, Lauren B GERSON a Bruce E SANDS. ACG Clinical Guideline: Management of Crohn's Disease in Adults. *American Journal of Gastroenterology* [online]. 2018, 113(4), 481-517 [cit. 2023-11-18]. ISSN 0002-9270. Dostupné z: doi:10.1038/ajg.2018.27

- 8) OGURA, Yasunori, Denise K. BONEN, Nahurŭ INOHARA, et al. Nature [online]. 2001, 411(6837) [cit. 2023-11-18]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/35079114
- 9) ICKRATH, Franziska, Johanna STOEVE SANDT, Lena SCHULMEYER, et al. Metastatic Crohn's disease: an underestimated entity. JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft [online]. 2021, 19(7), 973-982 [cit. 2023-11-18]. ISSN 1610-0379. Dostupné z: doi:10.1111/ddg.14447
- 10) BUISINE, Marie-Pierre, Pierre DESREUMAUX, Virginie DEBAILLEUL, et al. Abnormalities in Mucin Gene Expression in Crohn's Disease. Inflammatory Bowel Diseases [online]. 1999, 5(1), 24-32 [cit. 2023-11-18]. ISSN 1078-0998. Dostupné z: doi:10.1097/00054725-199902000-00004
- 11) PETAGNA, L., A. ANTONELLI, C. GANINI, et al. Metastatic Crohn's disease: an underestimated entity. Biology Direct [online]. 2020, 15(1), 973-982 [cit. 2023-11-18]. ISSN 1745-6150. Dostupné z: doi:10.1186/s13062-020-00280-5
- 12) Crohn's Disease: Diagnosis and Management. American Family Physician [online]. 2018, 14 [cit. 2023-11-18]. Dostupné z: <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2018/1201/p661.html>
- 13) ASHTON, James J., Joan GAVIN a R. Mark BEATTIE. Exclusive enteral nutrition in Crohn's disease: Evidence and practicalities. Clinical Nutrition [online]. 2019, 38(1), 80-89 [cit. 2024-03-12]. ISSN 02615614. Dostupné z: doi:10.1016/j.clnu.2018.01.020
- 14) FEUERSTEIN, Joseph D., Adam S. CHEIFETZ, Paulo Gustavo KOTZE, et al. Crohn Disease: Epidemiology, Diagnosis, and Management. Mayo Clinic Proceedings [online]. 2017, 92(7), 1088-1103 [cit. 2023-11-18]. ISSN 00256196. Dostupné z: doi:10.1016/j.mayocp.2017.04.010
- 15) World Journal of Gastroenterology [online]. 2014 [cit. 2023-11-18]. ISSN 1007-9327. Dostupné z: doi:10.3748/wjg.v20.i36.13044
- 16) HUDESMAN, David, Priyadarshini LOGANATHAN, Anthony P. CATINELLA, et al. Capsule endoscopy in Crohn's disease: Are we seeing any better? World Journal of Gastroenterology [online]. 2014, 20(36), 20-57 [cit. 2023-11-18]. ISSN 1007-9327. Dostupné z: doi:DOI: 10.1097/MCG.0000000000001865
- 17) CHO, Judy H, Priyadarshini LOGANATHAN, Anthony P. CATINELLA, et al. Inflammatory bowel disease: Genetic and epidemiologic considerations. World

- Journal of Gastroenterology [online]. 2008, 14(3), 20-57 [cit. 2023-11-18]. ISSN 1007-9327. Dostupné z: doi:10.3748/wjg.14.338
- 18) The characteristics of the stricture, but not the ongoing treatment, could influence the outcome of endoscopic dilation in recurrent Crohn's disease. *Gastroenterología y Hepatología* [online]. 2022, 45(8), 614-620 [cit. 2023-11-29]. Dostupné z: doi:doi.org/10.1016/j.gastre.2022.01.005
 - 19) PANÉS, Julián a Jordi RIMOLA. Perianal fistulizing Crohn's disease: pathogenesis, diagnosis and therapy [online]. 2017, 14(11), 652-664 [cit. 2023-11-29]. ISSN 1759-5045. Dostupné z: doi:10.1038/nrgastro.2017.104
 - 20) *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* [online]. 2019 [cit. 2023-11-29]. ISSN 01955616. Dostupné z: doi: 10.1016/j.cvsm.2018.08.006
 - 21) Clinical characteristics and treatment of perianal fistulising Crohn's disease in Colombia: Results of a multicentric registry. *Gastroenterología y Hepatología* [online]. 2022, 45(9), 690-696 [cit. 2023-11-29]. Dostupné z: doi:doi.org/10.1016/j.gastre.2022.02.002
 - 22) Crohn Disease: Epidemiology, Diagnosis, and Management. *Mayo Clinic Proceedings* [online]. 2017, 92(7), 1088-1103 [cit. 2023-11-29]. Dostupné z: doi:doi.org/10.1016/j.mayocp.2017.04.010
 - 23) BOHRA, Anuj, Abhinav VASUDEVAN, Numan KUTAIBA a Daniel Ross VAN LANGENBERG. Replacing Endoscopy with Magnetic Resonance Enterography for Mucosal Activity Assessment in Terminal Ileal Crohn's Disease: Are We There Yet? *Diagnostics* [online]. 2023, 13(6) [cit. 2023-12-01]. ISSN 2075-4418. Dostupné z: doi:10.3390/diagnostics13061061
 - 24) MAGRO, F., C. LANGNER, A. DRIESSEN, et al. *Journal of Crohn's and Colitis* [online]. 2013, 7(10) [cit. 2024-01-05]. ISSN 18739946. Dostupné z: doi:10.1016/j.crohns.2013.06.001
 - 25) KIYOKAWA, Hiroki, Masatoshi ABE, Takahiro MATSUI, et al. Deep Learning Analysis of Histologic Images from Intestinal Specimen Reveals Adipocyte Shrinkage and Mast Cell Infiltration to Predict Postoperative Crohn Disease. *The American Journal of Pathology* [online]. 2022, 192(6), 904-916 [cit. 2024-01-05]. ISSN 00029440. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajpath.2022.03.006
 - 26) LEE, Hwajeong, Maria WESTERHOFF, Bo SHEN a Xiuli LIU. Clinical Aspects of Idiopathic Inflammatory Bowel Disease: A Review for Pathologists [online].

- 2016, 140(5), 413-428 [cit. 2024-01-05]. ISSN 1543-2165. Dostupné z: doi:10.5858/arpa.2015-0305-RA
- 27) CARRETERO, Cristina, Alejandro BOJORQUEZ, Rami ELIAKIM a Nikolaos LAZARIDIS. Updates in the diagnosis and management of small-bowel Crohn's disease [online]. 2023, 64-65 [cit. 2024-01-05]. ISSN 15216918. Dostupné z: doi:10.1016/j.bpg.2023.101855
- 28) GRASSI, Giovanni, Maria Elena LAINO, Massimo Claudio FANTINI, et al. Advanced imaging and Crohn's disease: An overview of clinical application and the added value of artificial intelligence. *European Journal of Radiology* [online]. 2022, 157 [cit. 2024-01-05]. ISSN 0720048X. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejrad.2022.110551
- 29) CAIO, Giacomo, Lisa LUNGARO, Fabio CAPUTO, Eleonora ZOLI, Fiorella GIANCOLA, Giuseppe CHIARIONI, Roberto DE GIORGIO a Giorgio ZOLI. Nutritional Treatment in Crohn's Disease. *Nutrients* [online]. 2021, 13(5) [cit. 2024-02-12]. ISSN 2072-6643. Dostupné z: doi:10.3390/nu13051628
- 30) ZALIECKAS, Jill M. Treatment of perianal Crohn's disease. *Seminars in Pediatric Surgery* [online]. 2017, 26(6), 391-397 [cit. 2024-02-16]. ISSN 10558586. Dostupné z: doi:10.1053/j.sempedsurg.2017.10.009
- 31) GOMOLLÓN, Fernando, Axel DIGNASS, Vito ANNESE, et al. *Journal of Crohn's and Colitis* [online]. 2016, 11(1) [cit. 2024-02-16]. ISSN 1873-9946. Dostupné z: doi:10.1093/ecco-jcc/jjw168
- 32) KALLA, R., N. T. VENTHAM, J. SATSANGI a I. D. R. ARNOTT. Crohn's disease. *BMJ* [online]. 2014, 349(19), g6670-g6670 [cit. 2024-02-17]. ISSN 1756-1833. Dostupné z: doi:10.1136/bmj.g6670
- 33) GARCIA, Nicole M., Nathaniel A. COHEN a David T. RUBIN. Treat-to-target and sequencing therapies in Crohn's disease. *United European Gastroenterology Journal* [online]. 2022, 10(10), 1121-1128 [cit. 2024-02-18]. ISSN 2050-6406. Dostupné z: doi:10.1002/ueg2.12336
- 34) SCHOEPFER, A.M., M. BORTOLOTTI, V. PITTET, et al. The gap between scientific evidence and clinical practice: 5-aminosalicylates are frequently used for the treatment of Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* [online]. 2014, 40(8), 930-937 [cit. 2024-02-18]. Dostupné z: doi:10.1111/apt.12929

- 35) IBARRA BARRUETA, Olatz, Estela GARCÍA MARTÍN, Piedad LÓPEZ SÁNCHEZ, Esther RAMÍREZ HERRÁIZ, Vicente MERINO BOHÓRQUEZ a Arantza AIS LARISGOITIA. [Translated article] Biological and immunosuppressive medications in pregnancy, breastfeeding and fertility in immune mediated diseases. *Farmacia Hospitalaria* [online]. 2023, 47(1), 39-49 [cit. 2024-02-18]. ISSN 11306343. Dostupné z: doi:10.1016/j.farma.2022.12.016
- 36) PLEVY, S. Corticosteroid-sparing treatments in patients with Crohn's disease. *The American Journal of Gastroenterology* [online]. 97(7), 1607-1617 [cit. 2024-03-04]. ISSN 00029270. Dostupné z: doi:10.1016/S0002-9270(02)04174-6
- 37) CAI, Zhaobei, Shu WANG a Jiannan LI. Treatment of Inflammatory Bowel Disease: A Comprehensive Review. *Frontiers in Medicine* [online]. 2021, 8 [cit. 2024-03-08]. ISSN 2296-858X. Dostupné z: doi:10.3389/fmed.2021.765474
- 38) DOHERTY, Glen, Konstantinos H KATSANOS, Johan BURISCH, et al. European Crohn's and Colitis Organisation Topical Review on Treatment Withdrawal ['Exit Strategies'] in Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Crohn's and Colitis* [online]. 2018, 12(1), 17-31 [cit. 2024-03-08]. ISSN 1873-9946. Dostupné z: doi:10.1093/ecco-jcc/jjx101
- 39) DANESE, Silvio, Lucine VUITTON, Laurent PEYRIN-BIROULET, et al. Biologic agents for IBD: practical insights. *Journal of Crohn's and Colitis* [online]. 2015, 12(9), 537-545 [cit. 2024-03-08]. ISSN 1759-5045. Dostupné z: doi:10.1038/nrgastro.2015.135
- 40) SANDS, Bruce E., Brian G. FEAGAN, Paul RUTGEERTS, et al. ACG Clinical Guideline: Management of Crohn's Disease in Adults. *Gastroenterology* [online]. 2018, 147(3), 481-517 [cit. 2024-03-08]. ISSN 00165085. Dostupné z: doi:10.1053/j.gastro.2014.05.008
- 41) TORRES, Joana, Stefanos BONOVAS, Glen DOHERTY, et al. ECCO Guidelines on Therapeutics in Crohn's Disease: Medical Treatment. *Journal of Crohn's and Colitis* [online]. 2020, 14(1), 4-22 [cit. 2024-03-10]. ISSN 1873-9946. Dostupné z: doi:10.1093/ecco-jcc/jjz180
- 42) BOICEAN, Adrian, Victoria BIRLUTIU, Cristian ICHIM, Paula ANDERCO a Sabrina BIRSAN. Fecal Microbiota Transplantation in Inflammatory Bowel Disease. *Biomedicines* [online]. 2023, 11(4) [cit. 2024-03-10]. ISSN 2227-9059. Dostupné z: doi:10.3390/biomedicines11041016

- 43) CLAYTOR, Jennifer D., Najwa EL-NACHEF, Cristian ICHIM, Paula ANDERCO a Sabrina BIRSAN. Fecal microbial transplant for inflammatory bowel disease. *Biomedicines* [online]. 2020, 23(5), 355-360 [cit. 2024-03-10]. ISSN 1363-1950. Dostupné z: doi:10.1097/MCO.0000000000000676
- 44) WANG, Alice Yuxin, Jelena POPOV a Nikhil PAI. Fecal microbial transplant for the treatment of pediatric inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology* [online]. 2016, 22(47) [cit. 2024-03-10]. ISSN 1007-9327. Dostupné z: doi:10.3748/wjg.v22.i47.10304
- 45) GAJENDRAN, Mahesh, Priyadarshini LOGANATHAN, Anthony P. CATINELLA a Jana G. HASHASH. A comprehensive review and update on Crohn's disease. *Disease-a-Month* [online]. 2018, 64(2), 20-57 [cit. 2024-03-11]. ISSN 00115029. Dostupné z: doi:10.1016/j.disamonth.2017.07.001
- 46) MAGUIRE, Lillias Holmes, Karim ALAVI, Ranjan SUDAN, Paul E. WISE, Andreas M. KAISER, Liliana BORDEIANOU a Florian RIEDER. Surgical Considerations in the Treatment of Small Bowel Crohn's Disease. *Journal of Gastrointestinal Surgery* [online]. 2017, 21(2), 398-411 [cit. 2024-03-11]. ISSN 1091255X. Dostupné z: doi:10.1007/s11605-016-3330-9
- 47) GOENS, Donald a Dejan MICIC. Role of Diet in the Development and Management of Crohn's Disease. *Current Gastroenterology Reports* [online]. 2020, 22(4) [cit. 2024-03-11]. ISSN 1522-8037. Dostupné z: doi:10.1007/s11894-020-0755-9
- 48) RONCORONI, Leda, Rachele GORI, Luca ELLI, et al. Nutrition in Patients with Inflammatory Bowel Diseases: A Narrative Review. *Nutrients* [online]. 2022, 14(4) [cit. 2024-03-11]. ISSN 2072-6643. Dostupné z: doi:10.3390/nu14040751
- 49) HIRAI, Fumihito, Teruyuki TAKEDA, Yasumichi TAKADA, et al. Efficacy of enteral nutrition in patients with Crohn's disease on maintenance anti-TNF-alpha antibody therapy: a meta-analysis. *Journal of Gastroenterology* [online]. 2020, 55(2), 133-141 [cit. 2024-03-12]. ISSN 0944-1174. Dostupné z: doi:10.1007/s00535-019-01634-1
- 50) SCHMITT, Heike, Clemens NEUFERT, Markus F. NEURATH a Raja ATREYA. Resolution of Crohn's disease. *Seminars in Immunopathology* [online]. 2019, 41(6), 737-746 [cit. 2024-03-14]. ISSN 1863-2297. Dostupné z: doi:10.1007/s00281-019-00756-1

- 51) ANNESE, Vito. Genetics and epigenetics of IBD. *Pharmacological Research* [online]. 2020, 159 [cit. 2024-03-15]. ISSN 10436618. Dostupné z: doi:10.1016/j.phrs.2020.104892
- 52) MOAZZAMI, Bobak, Kasra MOAZZAMI a Nima REZAEI. Early onset inflammatory bowel disease: manifestations, genetics and diagnosis. *The Turkish Journal of Pediatrics* [online]. 2019, 61(5) [cit. 2024-03-15]. ISSN 0041-4301. Dostupné z: doi:10.24953/turkjped.2019.05.001
- 53) LIU, Ta-Chiang a Thaddeus S. STAPPENBECK. Genetics and Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* [online]. 2016, 11(1), 127-148 [cit. 2024-03-21]. ISSN 1553-4006. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-pathol-012615-044152
- 54) CARUSO, Roberta, Neil WARNER, Naohiro INOHARA a Gabriel NÚÑEZ. NOD1 and NOD2: Signaling, Host Defense, and Inflammatory Disease. *Immunity* [online]. 2014, 41(6), 898-908 [cit. 2024-03-25]. ISSN 10747613. Dostupné z: doi:10.1016/j.immuni.2014.12.010
- 55) ASHTON, James J, Eleanor G SEABY, R Mark BEATTIE a Sarah ENNIS. NOD2 in Crohn's Disease-Unfinished Business. *Journal of Crohn's and Colitis* [online]. 2023, 17(3), 450-458 [cit. 2024-03-25]. ISSN 1873-9946. Dostupné z: doi:10.1093/ecco-jcc/jjac124
- 56) SEWELL, Gavin W a Arthur KASER. Interleukin-23 in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease and Implications for Therapeutic Intervention. *Journal of Crohn's and Colitis* [online]. 2022, 16(2), ii3-ii19 [cit. 2024-03-25]. ISSN 1873-9946. Dostupné z: doi:10.1093/ecco-jcc/jjac034
- 57) SERBATI, Nadia, Nezha SENHAJI, Brehima DIAKITE, Wafaa BADRE a Sellama NADIFI. IL23R and ATG16L1 variants in Moroccan patients with inflammatory bowel disease. *BMC Research Notes* [online]. 2014, 7(1) [cit. 2024-03-25]. ISSN 1756-0500. Dostupné z: doi:10.1186/1756-0500-7-570
- 58) BORECKI, Krzysztof, Iwona ZAWADA, Nermin Nusret SALKIĆ, Beata KARAKIEWICZ a Grażyna ADLER. Relationship between the IL23R SNPs and Crohn's Disease Susceptibility and Phenotype in the Polish and Bosnian Populations: A Case-Control Study. *International Journal of Environmental Research and Public Health* [online]. 2019, 16(9) [cit. 2024-03-25]. ISSN 1660-4601. Dostupné z: doi:10.3390/ijerph16091551

- 59) MEDDOUR, Y., S. CHAIB, A. BOUSSELOUB, et al. NOD2/CARD15 and IL23R genetic variability in 204 Algerian Crohn's disease: A Case-Control Study. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology* [online]. 2014, 38(4), 499-504 [cit. 2024-03-25]. ISSN 22107401. Dostupné z: doi:10.1016/j.clinre.2014.02.003
- 60) NEURATH, Markus F., S. CHAIB, A. BOUSSELOUB, et al. IL-23 in inflammatory bowel diseases and colon cancer: A Case-Control Study. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology* [online]. 2019, 45(4), 1-8 [cit. 2024-03-25]. ISSN 13596101. Dostupné z: doi:10.1016/j.cytogfr.2018.12.002
- 61) SALEM, Mohammad, Mette AMMITZBOELL, Kris NYS, et al. ATG16L1: A multifunctional susceptibility factor in Crohn disease. *Autophagy* [online]. 2015, 11(4), 585-594 [cit. 2024-03-25]. ISSN 1554-8627. Dostupné z: doi:10.1080/15548627.2015.1017187
- 62) LAVOIE, Sydney, Kara L CONWAY, Kara G LASSEN, et al. The Crohn's disease polymorphism, ATG16L1 T300A, alters the gut microbiota and enhances the local Th1/Th17 response: A multifunctional susceptibility factor in Crohn disease. *ELife* [online]. 2019, 8(4), 585-594 [cit. 2024-03-25]. ISSN 2050-084X. Dostupné z: doi:10.7554/eLife.39982
- 63) KEE, Boon Pin, Jin Guan NG, Ching Ching NG, et al. The Crohn's disease polymorphism, ATG16L1 T300A, alters the gut microbiota and enhances the local Th1/Th17 response: A multifunctional susceptibility factor in Crohn disease. *Journal of Digestive Diseases* [online]. 2020, 21(1), 585-594 [cit. 2024-03-25]. ISSN 1751-2972. Dostupné z: doi:10.1111/1751-2980.12829
- 64) ONODERA, Kei, Yoshiaki ARIMURA, Hiroyuki ISSHIKI, et al. Low-Frequency IL23R Coding Variant Associated with Crohn's Disease Susceptibility in Japanese Subjects Identified by Personal Genomics Analysis: A multifunctional susceptibility factor in Crohn disease. *PLOS ONE* [online]. 2015, 10(9), 29-37 [cit. 2024-03-25]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0137801
- 65) CHAUHAN, Santosh, Michael A. MANDELL, Vojo DERETIC, et al. Mechanism of action of the tuberculosis and Crohn disease risk factor IRGM in autophagy: A multifunctional susceptibility factor in Crohn disease. *Autophagy* [online]. 2016, 12(2), 429-431 [cit. 2024-03-25]. ISSN 1554-8627. Dostupné z: doi:10.1080/15548627.2015.1084457

- 66) LI, Y., S.-T. FENG, Y. YAO, et al. Correlation between IRGM genetic polymorphisms and Crohn's disease risk: a meta-analysis of case-control studies. *Genetics and Molecular Research* [online]. 2014, 13(4), 10741-10753 [cit. 2024-03-25]. ISSN 16765680. Dostupné z: doi:10.4238/2014.December.18.15
- 67) RUFINI, Sara, Cinzia CICCACCI, Davide DI FUSCO, et al. Autophagy and inflammatory bowel disease: Association between variants of the autophagy-related IRGM gene and susceptibility to Crohn's disease. *Digestive and Liver Disease* [online]. 2015, 47(9), 744-750 [cit. 2024-03-25]. ISSN 15908658. Dostupné z: doi:10.1016/j.dld.2015.05.012
- 68) NABAR, Neel R., Christopher N. HEIJER, Chong-Shan SHI, et al. LRRK2 is required for CD38-mediated NAADP-Ca²⁺ signaling and the downstream activation of TFEB (transcription factor EB) in immune cells: Association between variants of the autophagy-related IRGM gene and susceptibility to Crohn's disease. *Autophagy* [online]. 2022, 18(1), 204-222 [cit. 2024-03-25]. ISSN 1554-8627. Dostupné z: doi:10.1080/15548627.2021.1954779
- 69) HUI, Ken Y., Heriberto FERNANDEZ-HERNANDEZ, Jianzhong HU, et al. *Science Translational Medicine* [online]. 2018, 10(423) [cit. 2024-04-02]. ISSN 1946-6234. Dostupné z: doi:10.1126/scitranslmed.aai7795
- 70) JOHANSSON, Tiira, Jukka PARTANEN, Päivi SAAVALAINEN, et al. HLA allele-specific expression: Methods, disease associations, and relevance in hematopoietic stem cell transplantation. *Frontiers in Immunology* [online]. 2022, 13(1), 54-56 [cit. 2024-04-02]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2022.1007425
- 71) ORYOJI, D, T HISAMATSU, K TSUCHIYA, et al. Associations of HLA class I alleles in Japanese patients with Crohn's disease: Methods, disease associations, and relevance in hematopoietic stem cell transplantation. *Frontiers in Immunology* [online]. 2015, 16(1), 54-56 [cit. 2024-04-02]. ISSN 1466-4879. Dostupné z: doi:10.1038/gene.2014.61
- 72) CÉNIT, M C, A ALCINA, A MÁRQUEZ, et al. STAT3 locus in inflammatory bowel disease and multiple sclerosis susceptibility [online]. 2010, 11(3), 264-268 [cit. 2024-04-07]. ISSN 1466-4879. Dostupné z: doi:10.1038/gene.2010.10
- 73) CAN, Guray, Ahmet TEZEL, Hakan GURKAN, et al. Investigation of IL23R, JAK2, and STAT3 gene polymorphisms and gene-gene interactions in Crohn's disease and ulcerative colitis in a Turkish population. *The Turkish Journal of*

- Gastroenterology [online]. 2016, 27(6), 525-536 [cit. 2024-04-07]. ISSN 13004948. Dostupné z: doi:10.5152/tjg.2016.16327
- 74) ASADZADEH-AGHD AEI, Hamid, Kazem MASHAYEKHI, Khadijeh KOUSHKI, et al. V617F-independent upregulation of JAK2 gene expression in patients with inflammatory bowel disease: the potential role of serological and genetic tests. Journal of Cellular Biochemistry [online]. 2019, 120(9), 15746-15755 [cit. 2024-04-08]. ISSN 0730-2312. Dostupné z: doi:10.1002/jcb.28844
- 75) Expert Review of Molecular Diagnostics [online]. 2015 [cit. 2024-04-08]. ISSN 1473-7159. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1586/14737159.2015.1068121>
- 76) GAO, Xin a Yan ZHANG. Serological markers facilitate the diagnosis of Crohn's disease. Postgraduate Medicine [online]. 2021, 133(3), 286-290 [cit. 2024-04-08]. ISSN 0032-5481. Dostupné z: doi:10.1080/00325481.2021.1873649
- 77) REGHEFAOUI, Maiss, Tariladei S PERESUODEI, Michell S SAAVEDRA PALACIOS, et al. The Role of Serological Markers in the Prediction of Disease Course and Response to Therapy in Inflammatory Bowel Disease: the potential role of serological and genetic tests. Cureus [online]. 2021, 58(4), 495-503 [cit. 2024-04-08]. ISSN 2168-8184. Dostupné z: doi:10.7759/cureus.48442
- 78) RODRIGUES, Maraci, Cleonice BUENO, Elizete Aparecida LOMAZI, et al. CLASSICAL SEROLOGICAL MARKERS IN PEDIATRIC INFLAMMATORY BOWEL DISEASE IN BRAZIL: the potential role of serological and genetic tests. Arquivos de Gastroenterologia [online]. 2021, 58(4), 495-503 [cit. 2024-04-08]. ISSN 1678-4219. Dostupné z: doi:10.1590/s0004-2803.202100000-89
- 79) CHOUNG, R. S., F. PRINCEN, T. P. STOCKFISCH, et al. Serologic microbial associated markers can predict Crohn's disease behaviour years before disease diagnosis: the potential role of serological and genetic tests. Cureus [online]. 2016, 43(12), 1300-1310 [cit. 2024-04-08]. ISSN 0269-2813. Dostupné z: doi:10.1111/apt.13641
- 80) RAIMONDI, Daniele, Jaak SIMM, Adam ARANY, et al. An interpretable low-complexity machine learning framework for robust exome-based in-silico diagnosis of Crohn's disease patients: the potential role of serological and genetic tests. NAR Genomics and Bioinformatics [online]. 2020, 2(1), 1300-1310 [cit. 2024-04-08]. ISSN 2631-9268. Dostupné z: doi:10.1093/nargab/lqaa011

- 81) AWWAD, JOHNNY, MIRNA SOUAID, TONY YAMMINE, et al. A homozygous missense variant in PTPN2 with early-onset Crohn's disease, growth failure and dysmorphic features in an infant: a case report. *Journal of Genetics* [online]. 2023, 102(2), 1300-1310 [cit. 2024-04-08]. ISSN 0973-7731. Dostupné z: doi:10.1007/s12041-023-01433-x
- 82) SOMINENI, Hari K., Sini NAGPAL, Suresh VENKATESWARAN, et al. A homozygous missense variant in PTPN2 with early-onset Crohn's disease, growth failure and dysmorphic features in an infant: a case report. *The American Journal of Human Genetics* [online]. 2021, 108(3), 1300-1310 [cit. 2024-04-08]. ISSN 00029297. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajhg.2021.02.001
- 83) PETERSEN, Britt-Sabina, Martina E SPEHLMANN, Andreas RAEDLER, et al. Whole genome and exome sequencing of monozygotic twins discordant for Crohn's disease: a case report. *BMC Genomics* [online]. 2014, 15(1), 431-445 [cit. 2024-04-08]. ISSN 1471-2164. Dostupné z: doi:10.1186/1471-2164-15-564
- 84) XU, Congmin, Man ZHOU, Zhongjie XIE, et al. LightCUD: a program for diagnosing IBD based on human gut microbiome data. *BioData Mining* [online]. 2021, 14(1), 431-445 [cit. 2024-04-08]. ISSN 1756-0381. Dostupné z: doi:10.1186/s13040-021-00241-2
- 85) GORDON, Ilyssa O, Dominik BETTENWORTH, Arne BOKEMEYER, et al. Branching crypts in inflammatory bowel disease revisited. *Gut* [online]. 2022, 71(3), 440-445 [cit. 2024-04-29]. ISSN 0017-5749. Dostupné z: doi:10.1136/gutjnl-2021-324374
- 86) RUBIO, Carlos A., Peter T. SCHMIDT, Corinna LANG-SCHWARZ a Michael VIETH. Branching crypts in inflammatory bowel disease revisited. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* [online]. 2022, 37(3), 440-445 [cit. 2024-04-29]. ISSN 0815-9319. Dostupné z: doi:10.1111/jgh.15734