

**UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE**

**Jesseniova lekárska fakulta v Martine**

**ZMENY KOSTNEJ MINERÁLOVEJ HUSTOTY  
U PEDIATRICKÝCH PACIENTOV  
S CROHNOVOU CHOROBOU**

**MUDr. Zuzana Havlíčková, PhD.**

**2017**

Autor:

MUDr. Zuzana Havlíčková, PhD.

Klinika detí a dorastu, Jesseniova lekárska fakulta, Univerzitná nemocnica Martin

Vydavateľ: Univerzita Komenského v Bratislave Jesseniova lekárska fakulta v Martine

Recenzenti:

Doc. MUDr. Milan KUČHTA, CSc., mim. prof.

Doc. MUDr. Ľubica Jakušová, PhD.

© MUDr. Zuzana Havlíčková, PhD., 2017

**ISBN 978-80-8187-033-0**

## Obsah

Zoznam tabuliek a ilustrácií.....	4
Zoznam skratiek .....	5
1. Úvod .....	7
2. Charakteristika Crohnovej choroby.....	9
3. Základy fyziológie kostnej formácie, remodelácie a metabolizmu .....	23
4. Osteoporóza v detskom veku .....	27
5. Manažment nízkej kostnej minerálovej hustoty a osteoporózy v detskom veku .....	33
6. Nízka kostná hustota a osteoporóza asociovaná s Crohnovou chorobou v detskom veku ...	40
7. Vlastné skúsenosti s hodnotením kostnej minerálovej hustoty u pediatrických pacientov s Crohnovou chorobou.....	47
8. Záver.....	51
9.Literatúra.....	54

## **Zoznam tabuliek a obrázkov**

<b>Obrázok 1.</b>	Rozdiely v zastúpení etiopatogenetických faktorov na rozvoji IBD v závislosti od veku
<b>Obrázok 2.</b>	Cyklus kostnej remodelácie
<b>Obrázok 3.</b>	Úloha RANK/RANKL systému v procese kostnej remodelácie
<b>Obrázok 4.</b>	Regulačné faktory kostnej remodelácie
<b>Obrázok 5.</b>	Faktory a mechanizmy asociované s poklesom kostnej hmoty a rizikom fraktúr u pacientov s nešpecifickými črevnými zápalovými ochoreniami
<b>Obrázok 6.</b>	Prístroj Hologic Discovery A QRD Series (S/N 83944)
<b>Obrázok 7.</b>	Záznam denzitometrického vyšetrenia
<b>Tabuľka 1.</b>	Hormonálne faktory regulujúce kostný metabolizmus.
<b>Tabuľka 2.</b>	Lokálne faktory ovplyvňujúce remodeláciu kosti
<b>Tabuľka 3.</b>	Najčastejšie príčiny primárnej a sekundárnej osteoporózy a nízkej kostnej minerálovej denzity v detskom veku
<b>Tabuľka 4.</b>	Všeobecné indikácie pre denzitometrické vyšetrenie
<b>Tabuľka 5.</b>	Markery kostnej novotvorby a resorpcie
<b>Tabuľka 6.</b>	Doporučený denný príjem vápnika
<b>Tabuľka 7.</b>	Percentuálny obsah elementárneho vápnika vo vápenatých soliach
<b>Tabuľka 8.</b>	Doporučený denný príjem vitamínu D
<b>Tabuľka 9.</b>	Rizikové faktory nízkej kostnej denzity u pediatrických pacientov s Crohnovou chorobou

## Zoznam skratiek

aBMD	plošná kostná denzita ( <i>areal bone mineral density</i> )
AGA	Americká gastroenterologická asociácia
BMI	<i>body mass index</i>
BMD	kostná minerálová hustota ( <i>bone mineral density</i> )
BMP	morfo genetický proteín kostného tkaniva ( <i>bone morphogenetic protein</i> )
Ca	vápnik
CD	Crohnova choroba ( <i>Crohn disease</i> )
DNA	deoxyribonukleová kyselina
DXA	duálna röntgenová absorpciometria ( <i>dual energy X-ray absorptiometry</i> )
EGF	epidermálny rastový faktor ( <i>epidermal growth factor</i> )
ESPGHAN	Európska spoločnosť pre detskú gastroenterológiu, hepatológiu a výživu ( <i>European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition</i> )
FGF	fibroblastový rastový faktor ( <i>fibroblast growth factors</i> )
GM-CFF	faktor stimulujúci kolónie granulocytov-makrofágov ( <i>granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i> )
GWAS	<i>genome-wide association studies</i>
IBD	nešpecifické črevné zápalové ochorenia ( <i>Inflammatory bowel diseases</i> )
IFN	interferón
Ig	imunoglobulín
IGF-1	inzulínu podobný rastový faktor 1 ( <i>insulin-like growth factor 1</i> )
IL	interleukín
ISCID	Medzinárodná spoločnosť klinickej denzitometrie ( <i>International Society of Clinical Densitometry</i> )
LRP	<i>low-density lipoprotein receptor-related protein</i>
MALT	slizničný imunitný systém ( <i>mucosa-associated lymphoid tissue</i> )
M-CSF	faktor stimulujúci kolónie makrofágov ( <i>macrophage colony-stimulating factor</i> )
Mg	magnézium

QCT	kvantitatívna CT denzitometria
P	fosfor
PBM	vrcholová kostná hmota ( <i>peak bone mass</i> )
PCDAI	Pediatrický index aktivity Crohnovej choroby ( <i>Pediatric Crohn Disease Activity Index</i> )
PDGF	trombocyárny rastový faktor ( <i>platelet-derived growth factor</i> )
PGE	prostaglandín E
PGG	prostaglandín G
PGI	prostaglandín I
pQCT	periférna kvantitatívna CT denzitometria
RANK	receptor aktivujúci nukleárny faktor $\kappa$ B
RANKL	ligand pre receptor aktivujúci nukleárny faktor $\kappa$ B
SD	smerodajná odchýlka
TGF	transformujúci rastový faktor ( <i>transforming growth factor</i> )
TNF	tumor nekrotizujúci faktor ( <i>tumor necrosis factor</i> )
VEO IBD	nešpecifické črevné zápalové ochorenia s veľmi včasným nástupom ( <i>very early onset inflammatory bowel diseases</i> )

## 1. Úvod

Až 90% kostnej hmoty sa formuje v priebehu detstva a adolescencie, pričom najvýznamnejším je obdobie puberty. Kostra môže byť považovaná za metabolicky aktívny orgán podliehajúci počas života neustálej remodelácii, ktorá je regulovaná systémovými a lokálnymi faktormi (Hadjidakis et al., 2006). Identifikácia a adekvátne riešenie rizikových faktorov ovplyvňujúcich kostný metabolizmus v priebehu vývoja dieťaťa umožňujú priaznivo ovplyvniť schopnosť dosiahnuť primeranú vrcholovú kostnú hmotu (*peak bone mass, PBM*) a znížiť riziko osteoporózy v dospelosti (Jakušová et al., 2013, Klabníková et al., 2009).

Ako bude podrobnejšie rozobrané v ďalších kapitolách, Crohnova choroba patrí medzi ochorenia, ktoré sú asociované so sekundárnou osteoporózou. Okrem zníženej chuti do jedla s následným nedostatočným príjmom makro – a mikronutrientov a zníženej fyzickej aktivity, ktoré často sprevádzajú mnohé chronické ochorenia, dochádza k ovplyvneniu kostného metabolizmu na viacerých úrovniach. Za najvýznamnejšie sa považuje vplyv mechanizmov perzistujúceho zápalového procesu s produkciou proinflatórnych cytokínov, pôsobenie faktorov vedúcich k malabsorpcii a nežiaduce účinky liečby (predovšetkým glukokortikoidov).

Vzhľadom k tomu, že 20-30% prípadov Crohnovej choroby sa začína v období detstva a adolescencie, predstavujú jedinci s týmto ochorením rizikovú skupinu ohrozenú zníženou kostnou minerálovou hustotou (*bone mineral density, BMD*). Podľa aktuálnych odporúčení Medzinárodnej spoločnosti klinickej denzitometrie (*International Society of Clinical Densitometry, ISCID*) by mali mať ako riziková skupina sekundárnej osteoporózy vyšetrenú kostnú hustotu, ideálne pri diagnostike ochorenia. Zlatým štandardom diagnostiky zmien kostnej hustoty je v súčasnosti duálna röntgenová absorpciometria. Je najdostupnejšou a najpoužívanejšou metódou pre detský vek. Výhodou vyšetrenia je presnosť, nízka radiačná záťaž a rýchlosť vyšetrenia. Predpokladá sa, že výskyt nízkej kostnej hustoty u pediatrických pacientov s Crohnovou chorobou môže dosiahnuť až 70 % (Bernstein et al., 1995, Sebestyen et al., 2012). Priaznivé ovplyvnenie kostného metabolizmu sa preto stáva významnou súčasťou manažmentu ochorenia. Základom liečby je pri dobrej kontrole aktivity základného ochorenia primeraná výživa s adekvátnym príjmom vápnika, vitamínu D a bielkovín, prípadne ich farmakologická substitúcia pri nedostatočnom príjme stravou a primeraná fyzická

aktivita. Pri neúčinnosti diétnych a režimových opatrení predstavuje liečba bisfosfonátmi aktuálne jedinu účinnú a dobre tolerovanú liečbu u dospelých pacientov s nešpecifickými črevnými zápalovými ochoreniami (Melek et al., 2012). Využitie v pediatrickej populácii je však nielen u pacientov s Crohnovou chorobou limitované nedostatkom kontrolovaných štúdií sledujúcich efektívnosť a dlhodobú bezpečnosť liečby. Aktuálne štúdie však naznačujú perspektívy využitia u pediatrických pacientov (Sebestyen et al., 2012).



## 2. Charakteristika Crohnovej choroby

**Crohnovu chorobu (*Crohn disease*, CD)** zaraďujeme spolu s ulceróznou kolitídou (*Ulcerative colitis*, UC) medzi nešpecifické črevné zápalové ochorenia (*Inflammatory bowel diseases*, IBD). Pre ochorenia je charakteristický chronickým priebehom s obdobiami relapsov a remisíí. Pre Crohnovu chorobu je typické zápalové postihnutie je transmurálne, granulomatózne, segmentálne alebo plurisegmentálne a môže postihnúť ktorúkoľvek časť tráviaceho traktu od dutiny ústnej až po rektum. Typické prejavy klinické prejavy sú bolesti brucha, hnačka, pokles hmotnosti, nechutenstvo, prítomnosť krvi v stolici, subfebrílie až febrílie. V detskom veku nemožno zabudnúť na rastovú retardáciu a neprospievanie. Pestrá extraintestinálna symptomatológia môže vzniknúť paralelne, ale aj nezávisle od črevného postihnutia a dokonca môže predchádzať postihnutie gastrointestinálneho traktu niekoľko mesiacov až rokov, čo môže komplikovať diagnostiku. Najčastejšie sa vyskytujú známky poškodenia kože, kĺbov, pečene, očí, kostí a hematopoetického systému. Vzhľadom k heterogenite fenotypových prejavov ochorenia sa od roku 2009 používa Parížska klasifikácia, ktorá je pediatrickou modifikáciou Montrealskej klasifikácie IBD. Klasifikácia je postavená na hodnotení veku v čase diagnostiky (A1a: 0–<10 rokov, A1b: 10–<17 rokov, A2: 17–40 rokov, A3: >40 rokov), lokalizácii (L1: distálna 1/3 ilea ± limitované postihnutie céka, L2: hrubé črevo, L3: ileum + hrubé črevo, L4a: horná časť gastrointestinálneho traktu, proximálne nad Treitzovým ligamentom, L4b: postihnutie distálne od Treitzovho ligamenta až proximálne od dolnej tretiny ilea), správaní sa (B1: nestrikturujúce a nepenetrujúce ochorenie, B2: strikturujúce ochorenie, B3: penetrujúce ochorenie, B2B3 strikturujúce a peneterujúce ochorenie, súčasne alebo izolovane, p: perianálna forma ochorenia) a hodnotení rastu (G<sub>0</sub>: bez rastovej retardácie, G<sub>1</sub>: definovaná rastová retardácia) (Levine et al., 2011) Klasifikácia pacientov umožňuje lepší manažment pacientov vzhľadom k odlišnostiam v liečbe a riziku komplikácií ochorenia. Ako bude diskutované v ďalších kapitolách, tieto rozdiely môžu byť asociované s meniacou sa etiopatogenezou Crohnovej choroby v závislosti od veku nástupu ochorenia. Aktivita ochorenia je hodnotená pomocou skórovacích systémov. V detskom veku sa od roku 1991 používa Pediatrický index aktivity Crohnovej choroby (*Pediatric Crohn Disease Activity Index*, PCDAI) komplexne hodnotiaci klinický obraz a výsledky laboratórnych vyšetrení s možnosťou jeho využitia pri úprave liečby (Hyams et al., 1991). Diagnostika vychádza z revidovaných Portských kritérií (2012)

a je postavená na klinickom obraze, výsledkoch laboratórnych a zobrazovacích vyšetrení a endoskopického nálezu s histologickým vyšetrením (Levine et al., 2014). Najčastejšie komplikácie vyplývajú z transmurálneho postihnutia črevnej steny s tvorbou fistúl medzi črevnými kľučkami alebo enterokutánnymi fistúlami, abscesov, črevných striktúr a adhézií s možným rozvojom syndrómu bakteriálneho prerastania, črevnej obštrukcie až ileózneho stavu s perforáciou čreva. V dospelosti predstavujú pediatrickí pacienti rizikovú skupinu z hľadiska možného rozvoja nádorových komplikácií, predovšetkým pri prejavoch pankolitídy. V liečbe sa využíva v závislosti od klinických prejavov ochorenia kombinácia medikamentózneho liečby (od „klasických“, imunosupresív, až po moderné preparáty biologickej liečby), enterálnej výživy a v indikovaných prípadoch aj liečba chirurgická.

**Epidemiologické štúdie** upozorňujú na to, že výskyt nešpecifických črevných zápalových ochorení, predovšetkým Crohnovej choroby v detskom veku, predovšetkým v industrializovaných krajinách, má neustále narastajúci trend. Incidencia vykazuje severojužný gradient, s najvyšším počtom v škandinávskych krajinách, Veľkej Británii a severnej Amerike v porovnaní s južnou Európou, Afrikou a Áziou (Shivananda et al., 1996, Benchimol et al., 2011, Molodecky et al., 2012). V Európe sa incidencia pohybuje medzi 0,3-12,7/100 000 obyvateľov, v Ázii a strednom východe 0,04 - 5/100 000 a v severnej Amerike dosahuje až 20,2/100 000 obyvateľov. Najvyššia prevalencia v Európe dosahuje 0,6-322/100 000 a v severnej Amerike 37,5 -248,6/100 000 obyvateľov (Molodecky et al., 2012). V populácii **pediatrických pacientov** severnej Ameriky a Európy sa incidencia aktuálne pohybuje medzi 0,25-13,30/100 000 detí (Benchimol et al., 2011). Incidenciu a prevalenciu nešpecifických črevných zápalových ochorení v **detskom veku na Slovensku** v rokoch 2001-2003 zmapovala práca Čiernej a spol. (2008). Incidencia Crohnovej choroby bola stanovená medzi 1,79-2,28/100000 obyvateľov, podobne s narastajúcou tendenciou. Prevalencia sa pohybuje okolo 13,55/100000 obyvateľov. Najvyššia prevalencia Crohnovej choroby bola pozorovaná v Bratislavskom kraji. Crohnova choroba sa manifestuje v priemernom veku  $12,38 \pm 0,27$  roka a nebol zaznamenaný signifikantný rozdiel medzi pohlaviami (Čierna et al., 2008).

Významným faktom je, že okolo **25% prípadov chorenia sa vyvinie v priebehu detstva a adolescencie**. Vrchol výskytu nešpecifických črevných zápalových ochorení je medzi 20.-30., respektíve 30.-40. rokom. Aj keď dlhodobo bol akceptovaný bimodálny výskyt

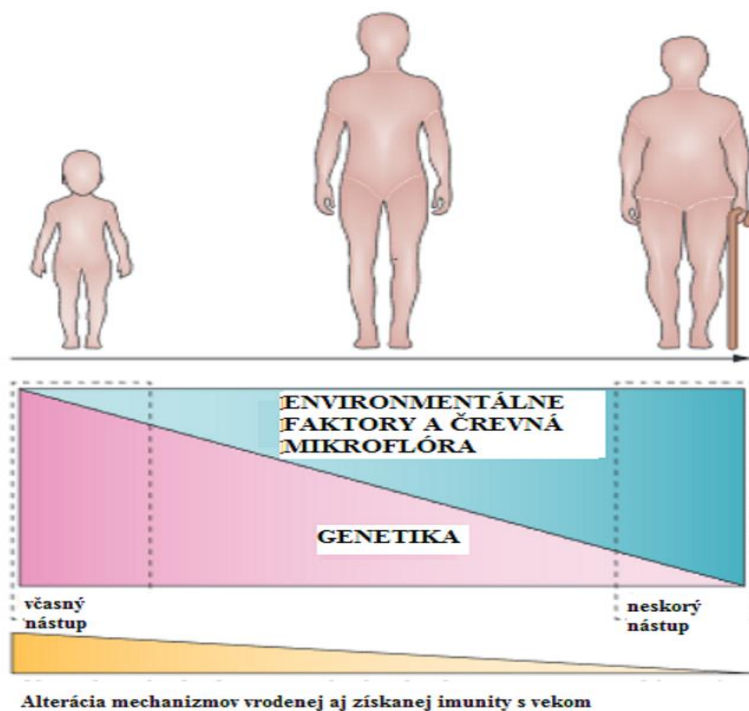
ochorenia, s druhým vrcholom medzi 60.-70. rokom, tento bol pozorovaný asi v len v tretine epidemiologických štúdií (Kelsen et al., 2008, Cosnes et al., 2011, Molodecky, 2012).

**Pohlavné rozdiely** sa menia v závislosti na veku výskytu, v pediatrickej populácii prevažujú muži, medzi dospelými ženy (Shivananda et al., 1996, Mamula et al., 2002, Gupta et al., 2007).

Podobne **lokalizácia a fenotyp ochorenia** v čase diagnostiky sa odlišujú. U pacientov s veľmi včasným nástupom a v staršom veku prevažuje izolované postihnutie hrubého čreva, zatiaľ čo u starších detí a adolescentov prevažuje ileokolické postihnutie. Rozsah ochorenia je najväčší u pediatrických pacientov. Pediatrickí pacienti majú frekventnejšie rozsiahlejšie postihnutie tenkého čreva, ako aj horného gastrointestinálneho traktu. V čase diagnostiky u všetkých pacientov dominuje zápalové správanie sa ochorenia, aj keď v dospelosti je pozorovaný frekventnejší výskyt strikturujúcich a penetrujúcich foriem ochorenia. Perianálne postihnutie je naopak častejšie v detskom veku (Guriso et al., 2010, Ruel et al., 2014). U viac ako 50% pediatrických pacientov sa vyvinie ochorenie s komplikovaným priebehom (Vernier-Massouille et al., 2008).

Napriek tomu, že od prvého charakterizovania choroby B. B. Crohnom (1884-1983), uplynulo už takmer storočie a jej výskyt neustále vykazuje narastajúci trend, doposiaľ sa nepodarilo odhaliť všetky **etiologické faktory a presne objasniť patogenetické mechanizmy vzniku**. Podľa aktuálnych poznatkov o Crohnovej chorobe je pre vznik nevyhnutná interakcia celého radu imunologických mechanizmov, ktorých pôsobením vzniká a je udržiavaný chronický zápal. V súčasnosti je všeobecne akceptovaná hypotéza, ktorá pri vzniku IBD predpokladá **neprimerané reakcie imunitného systému na komezálnu, fyziologicky sa vyskytujúcu črevnú mikrobiotu u geneticky predisponovaného jedinca**. Environmentálne faktory pôsobia ako významný modifikujúci faktor (Podolsky, 2002, Rapozo et al., 2017). Rozdiely v genetickej predispozícii a interakcia rôznych environmentálnych faktorov vedie k rozdielom v génovej penetrancii a tým variabilite fenotypových prejavov ochorenia a odpovede na liečbu. Účasť genetických a imunologických faktorov, význam črevnej mikrobioty sa podľa niektorých autorov mení aj v závislosti od veku pri vzniku ochorenia. Pozitívnu rodinnú anamnézu nachádzame častejšie u pediatrických pacientov, naopak význam environmentálnych faktorov a črevnej mikrobioty narastá s vekom. So starnutím sa zvyrazňujú zmeny B a T lymfocytov, slizničnej imunity, s ktorou súvisí

pokles MALT buniek, pokles veľkosti a počtu Peyerových plakov, pokles vývoja lymfatických folikulov a produkcie imunoglobulínov a tiež zníženie črevných slizničných antigén-spezifických IgA odpovedí (Obrázok 1.) (Ruel et al., 2014).



**Obrázok 1.** Rozdiely v zastúpení etiopatogenetických faktorov na rozvoji IBD v závislosti od veku (upravené podľa Ruel et al., 2014)

Iné práce upozornili na to, že v detskom veku môžu byť prítomné zatiaľ nie presne špecifikované environmentálne faktory, ktoré sú charakterizované kratšou a menej frekventnou dobou expozície, ako aj nižšou možnosťou akumulácie environmentálnych toxínov a predisponujú k včasnejšiemu nástupu ochorenia. Perinatálne obdobie korešponduje s iniciálnom vývojom imunitného systému a črevnej mikrobioty a už zmeny v tomto období môžu ovplyvňovať riziko IBD. Vo včasnom veku bol sledovaný rizikový vplyv viacerých faktorov, aj keď väčšinou nie so zhodnými závermi (termín pôrodu, spôsob pôrodu, vek matky, dojčenie, pasívne fajčenie, počet členov domácnosti, hygienický štandard a i.)

(Aujnarain et al., 2013). Okolo 20-25 % pacientov s IBD je diagnostikovaných pred 16 rokom života. Vek nástupu ochorenia preto poskytuje významnú informáciu o správaní sa ochorenia a predpokladaných rizikových faktoroch, vrátane genetických.

**Genetická predispozícia** je zásadným faktorom v etiológii Crohnovej choroby, ktorej podiel sa odhaduje na 60-80 % (Raslston, 2003). Ulcerózna kolitída má v porovnaní s Crohnovou chorobou iné genetické pozadie, aj význam genetických faktorov je menší (Tysk et al., 1988, Halfvarson et al., 2003, Wu et al., 2007). Crohnova choroba je ochorenie charakterizované **komplexnou, polygénnou dedičnosťou s variabilnou penetranciou**. Novšie poznatky naznačujú, že **epigenetické mechanizmy** charakterizované zmenami v expresii génov, ktoré sú nezávislé od sekvencie DNA, môžu byť významným následkom interakcie medzi environmentálnymi faktormi a genómom a tak ovplyvňovať rozvoj fenotypové prejavy IBD. Epigenetické programovanie začína fertilizáciou a pokračuje v priebehu celého života vplyvom rôznych environmentálnych faktorov a diéty. Génová expresia je alterovaná zmenami štruktúry a funkcie chromatinu. V etiopatogenéze IBD je najvýznamnejším epigenetickým mechanizmom metylácia DNA. Diagnosticky je možno stanovenie metylácie DNA použiť ako novú generáciu biomarkerov pri potvrdení diagnózy, stratifikovaní priebehu ochorenia, odpovede na liečbu a predikcii rizika nádorových komplikácií (Ventham et al., 2013). Podobne najnovšie výsledky genetických štúdií poukazujú na existenciu tzv. **microRNA** (miRNA), ktoré pôsobia ako post-transkripčný regulátor génovej expresie. MiRNAs sú krátke, nekódujúce RNA reťazce zložené z 18-23 nukleotidov. Predpokladá sa, že majú zásadnú úlohu v regulácii mnohých biologických procesov, ako diferenciácii imunokompetentných buniek, proliferácii, apoptóze, udržiavaní homeostázy imunitného systému (Xu et al., 2016). V etiopatogenéze IBD sa im pripisuje význam v regulácii mechanizmov vrodenej aj získanej imunity, udržiavaní tkanivovej homeostázy, bunkovej diferenciácie a črevnej barierevej funkcie (Ventham et al., 2013). Viaceré **familiárne štúdie** poukázali na genetickú podmienenosť nešpecifických črevných zápalových ochorení. U pacientov s Crohnovou chorobou sa percento výskytu ochorenia u prvostupňových príbuzných pohybuje medzi 1,5–10,9 % a percento výskytu akéhokoľvek nešpecifického črevného zápalového ochorenia medzi 1,8–15,6 % (Halme et al., 2006, Park et al., 2006). Viaceré práce poukazujú na spoločné charakteristiky u jedincov s familiárnym výskytom Crohnovej choroby v rámci jednej rodiny. Pozorovaná bola signifikantná zhoda v lokalizácii črevného postihnutia, extraintestinálnych manifestáciách, nutnosti použitia

steroidov alebo iných imunosupresív v liečbe, nutnosť chirurgickej liečby a podobné riziko relapsu. U jedincov s pozitívnou rodinnou anamnézou sa v mladších generáciách ochorenie prejavilo skôr o 15-20 rokov (Colombel et al., 1996, Annese et al., 2001). Henriksen a spol. (2007) nepotvrdili význam familiárneho výskytu nešpecifických črevných zápalových ochorení pri ovplyvňovaní prognózy alebo fenotypu ochorenia (lokalizácii a priebehu) (Henriksen et al., 2007). Napriek tomu, že **štúdie s dvojčikami** nie sú veľmi početné, predstavujú dôležitý nástroj k identifikácii významu genetických a environmentálnych faktorov v etiológii nešpecifických črevných zápalových ochorení (Halme et al., 2006). Štúdie vychádzajú z jednoduchého predpokladu – ak by nešpecifické črevné zápalové ochorenia boli podmienené výlučne geneticky, zhoda ich výskytu by sa u monozygótnych dvojčiek približovala k 100 % a u dizygótnych k 50 %. Na druhej strane závislosť od environmentálnych faktorov by sa u mono- aj dizygótnych dvojčiat prejavila rovnakým výskytom. Podľa viacerých veľkých štúdií sa zhoda výskytu Crohnovej choroby u monozygótnych dvojčiek pohybuje medzi 20-66% a u dizygótnych dvojčiek medzi 3-7% (Thompson et al., 1996, Jess et al., 2005). Výsledky, ktoré sú odrazom súhry genetických a environmentálnych faktorov upozorňujú aj na to, že dedičnosť sa pri Crohnovej chorobe uplatňuje v porovnaní s ulceróznou kolitídou ako silnejší etiologický faktor (Tysk et al., 1988, Halfvarson et al., 2003). **Populačné štúdie** porovnávajúce prevalenciu nešpecifických črevných zápalových ochorení medzi rôznymi etnickými skupinami potvrdili význam genetických faktorov v etiopatogenéze. Crohnova choroba sa vyskytuje u všetkých etnických skupín a rás, s najvyššou frekvenciou u kaukazskej rasy a niektorých geneticky homogénnych etník (typickým príkladom sú aškenázski židia). Pri sledovaní židovských migrantov v rôznych geografických oblastiach boli zistené rozdiely v incidencii (vyššia incidencia v Európe a USA v porovnaní s Áziou a Afrikou), čo naznačuje účasť environmentálnych faktorov pri rozvoji Crohnovej choroby (Fidder et al., 2003). Populačné štúdie sa spolu s familiárnymi stali základom pre ďalší výskum v oblasti molekulárnej genetiky. **Celogenómové asociačné štúdie** (*Genome-wide association studies*, GWAS), do ktorých bolo zaradených viac ako 75 000 tisíc pacientov a zdravých kontrol umožnilo v európskej populácii identifikovať 163 génových lokusov asociovaných s IBD, z ktorých 110 je rizikových pre všetkých pacientov s IBD, 30 pre pacientov s CD a 23 s UC. Identifikovaných bolo tiež okolo 300 potenciálne kandidátnych génov asociovaných s IBD (Jostins, 2012). Následne novšie, trans-etnické štúdie, do ktorých bolo zaradených viac ako 20 000 jedincov

Európskeho ale aj mimo-európskeho pôvodu, umožnilo identifikovať 38 nových IBD lókusov, čo zvýšilo počet genetických polymorfizmov asociovaných s IBD na viac ako 200 (Liu et al., 2015). Genetické štúdie u pacientov s Crohnovou chorobou sa zameriavajú predovšetkým na génové polymorfizmy ovplyvňujúce spracovanie intracelulárnych baktérií, procesu autofágie a mechanizmov vrodenej imunity, zatiaľ čo u pacientov s ulceróznou kolitídou sa štúdie zameriavajú predovšetkým na ovplyvnenie črevnej bariérovej funkcie. *NOD2* gén (*nucleotide-binding oligomerization domain molecule 2*), známy aj pod názvom *CARD15* gén (*caspase activating recruitment domain family member 15*) alebo *IBD1* je prvým génom, u ktorého bola v roku 2001 nezávisle dvomi skupinami popísaná asociácia medzi jeho polymorfizmom a zvýšeným rizikom Crohnovej choroby. (Hugot et al., 2001, Ogura et al., 2001). Odvedy boli identifikované mnohé ďalšie asociované polymorfizmy (*TLR4*, *autophagy related 16-like 1*, *interleukin-23 receptor*, *signal transducer and activator of transcripion*, *E-cadherin* a ďalšie). Kandidátne gény asociované s IBD sa zúčastňujú regulácie imunitných funkcií gastrointestinálneho traktu, črevnej bariérovej funkcie, ale môžu aj nepriamo ovplyvňovať črevný mikrobióm. Väčšina štúdií poukazuje na polygénny charakter ochorenia, aj keď môžeme vyčleniť spektrum väčšinou **monogénnych ochorení**, ktoré sa prejavujú klinickým obrazom imitujúcim nešpecifické črevné zápalové ochorenia (tzv. IBD-like ochorenia) a väčšinou s včasným nástupom v útlom detskom veku. Vzhľadom k nízkemu výskytu týchto ochorení v populácii pacientov s IBD väčšinu nebola možná identifikácia týchto génových polymorfizmov GWA štúdiami. Doposiaľ bolo identifikovaných okolo 50 genetických ochorení s *IBD-like* imunopatológiou, ktoré alterujú črevnú imunitnú homeostázu viacerými mechanizmami. Väčšinou asociované s poruchou epiteliálnej bariérovej funkcie, funkcie neutrofilných granulocytov a/alebo ďalších fagocytov, T a/alebo B-lymfocytov, T-regulačných lymfocytov, IL-10 signalizácie alebo sú asociované a inými hyperinflatórnymi alebo autoinflamačnými ochoreniami (Havlíčková et. al., 2012, Maretel et al., 2012, Uhlig et al., 2014). Na našom pracovisku bol zdokumentovaný prvý prípad bodovej mutácie génu pre *IL10-receptor* na Slovensku u pacientky s veľmi včasným nástupom Crohnovej choroby (strikturujúcej a penetrujúcej formy s perianálnym postihnutím) nereagujúcej na konvenčnú liečbu Crohnovej choroby (Szépeová et al., 2015). Z pohľadu veku nástupu majú ochorenia nastupujúce pred 5. rokom života (tzv. *early onset IBD*, *EO*), či dokonca pred 2. rokom (tzv. *very early onset IBD*, *VEO*) medzi pacientmi s IBD veľmi špecifické postavenie. V diferenciálnej diagnostike je potrebné vylúčiť monogénne

podmienené ochorenia s IBD-like symptomatológiou, predovšetkým pri VEO. Táto skupina ochorení sa v porovnaní s „klasickými“ IBD vyznačuje vysokou morbiditou až mortalitou pri nesprávnom stanovení diagnózy vzhľadom k odlišnej liečebnej stratégii. Genetické vyšetrenie by preto malo byť štandardnou súčasťou diagnostiky u detí s VEO IBD, ale aj u pacientov s atypickou gastrointestinálnou symptomatológiou a/alebo u tých, ktorí neodpovedajú na konvenčnú terapiu (Agrawal a Mayer, 2010, Uhlig et al., 2014).

Výsledky genetických štúdií poukazujú na to, že okrem genetických faktorov zohrávajú pri rozvoji ochorenia významnú úlohu aj ďalšie, **environmentálne faktory**. Na význam genetických faktorov poukazuje aj neustále narastajúci výskyt nešpecifických črevných zápalových ochorení.

**Fajčenie** je nezávislým rizikovým faktorom rozvoja Crohnovej choroby spojeným so závažnejším, refraktérnym ochorením. U pacientov s Crohnovou chorobou je fajčenie spojené s agresívnejším priebehom ochorenia, perforujúcimi komplikáciami, vyšším rizikom postoperačnej rekurencie a horšou odpoveďou na imunosupresívnu aj biologickú liečbu. Pri ukončení fajčenia je pozorovaný priaznivý efekt na priebeh ochorenia, ktorý je porovnateľný s imunosupresívnou liečbou. Naopak u pacientov s ulceróznou kolitídou fajčenie zlepšuje klinický priebeh ochorenia a samotné ochorenie postihuje frekventnejšie nefajčiarov. Štúdie sledujúce vplyv pasívneho fajčenia zatiaľ nepriniesli konklúzne závery. Príčina rozdielneho vplyvu fajčenia na priebeh oboch ochorení nebola doposiaľ úplne objasnená. Cigaretový dym obsahuje viac ako 150 druhov zložiek s nepriaznivým pôsobením na ľudský organizmus. Predpokladá sa že pri fajčení dochádza k ovplyvneniu prekrvenia črevnej sliznice, tvorby slizničného hlienu, mechanizmov vrodenej aj získanej imunity, tvorby eikozanoidov a cytokínov, črevnej mikrobioty, črevnej integrity a permeability a dokonca môže spôsobovať epigenetické zmeny (Parkes et al., 2014.).

**Stresová záťaž** môže ovplyvňovať klinickú symptomatológiu u pacientov s CD. Viaceré klinické štúdie potvrdili pozitívnu asociáciu medzi chronickou stresovou záťažou, depresiou a exacerbáciou alebo relapsom ochorenia (Greene et al., 1994). Podľa aktuálnych poznatkov môže stres indukovať zápalové zmeny v gastrointestinálnom trakte ovplyvnením osi hypotalmus-glandula pituitaria-nadobličky, alteráciou interakcie medzi baktériami



a črevnou sliznicou a prostredníctvom slizničných mastocytov a mediátorov, z ktorých medzi najvýznamnejšie patrí kortikotropín uvoľňujúci faktor (Mawdsley a Rampton, 2005).

Vzhľadom k tomu, že **antibiotiká** sú potenciálne schopné ovplyvňovať črevnú mikroflóru, expozícia antibiotikami zvyšuje riziko CD, najmä u detí, ale paradoxne nie UC. Na základe výsledkov metaanalýzy je rizikové užívanie všetkých ATB s výnimkou penicilínu. Najsilnejšia bola asociácia s užívaním metronidazolu a fluorochinolónov (Ungaro et al., 2014). Medzi ďalšie lieky u ktorých sa potvrdila asociácia medzi užívaním a zvýšeným rizikom rozvoja patria orálne kontraceptíva a nesteroidné antiflogistiká (Ananthakrishnan et al., 2012, Khalili et al., 2016). Užívanie hormonálnej antikoncepcie zvyšuje riziko CD a tiež chirurgických komplikácií, predovšetkým pri užívaní kombinovaných preparátov (estrogén + progestín). Predpokladá sa, že orálne estrogény zvyšujú bunkovú proliferáciu a humorálne imunitné odpovede, modifikujú črevnú bariérovú funkciu, zvyšujú riziko trombózy, ktorá môže viesť k multifokálnym gastrointestinálnym infarktom (Khalili et al., 2016). Podávanie nesteroidných antiflogistik je spojené s gastrointestinálnym slizničným poškodením pravdepodobne dôsledkom inhibície osi prostaglandín-endoperoxid syntáza alebo cyklooxygenáza. Následne poruchou črevnej epiteliálnej bariéry môže dôjsť k interakcii medzi črevným mikrobiómom a bunkami imunitného systému. Nesteroidné antiflogistiká tiež ovplyvňujú uvoľňovanie zápalových mediátorov a mikrovaskulárnu odpoveď na stres, čo sa môže spolupodieľať na vzniku ochorenia (Ananthakrishnan et al., 2012).

Poznatky o význame **zloženia diéty** v etiopatogenéze Crohnovej choroby a s tým súvisiace snahy o ovplyvnenie priebehu ochorenia diétou neustále narastajú. Strava je okrem črevnej mikroflóry najvýznamnejším zdrojom antigénov, ktorým je črevo exponované. Komponenty diéty môžu ovplyvňovať črevný mikrobióm, imunologický črevný status, slizničnú vrstvu, črevnú permeabilitu, ale aj adherenciu a translokáciu patogénov. Nie je preto prekvapujúce, že diéta je jedným z najvýznamnejších etiopatogentických faktorov IBD. Crohnova choroba sa frekventnejšie vyskytuje v industrializovaných krajinách s typickým severo-južným gradientom (Shivananda et al., 1996). V týchto krajinách bola zaznamenaná vyššia konzumácia rafinovaného cukru, bielkovín, tukov s obsahom n-6-polynenasýtených mastných kyselín, živočíšnych produktov (predovšetkým tmavého mäsa, živočíšnych tukov a mliečnych produktov), nižší príjem vlákniny a vyšší príjem spracovaných potravín, tzv. „západná“ diéta (*Western diet*). Je spojená so zvýšeným obsahom sírnych zlúčenín

umožňujúcich tvorbu merkaptánov, ktoré majú toxický vplyv na epiteliálne bunky hrubého čreva, ovplyvňujú funkciu signálnych proteínov a môžu zvyšovať antigenicitu niektorých zlúčenín. Ďalším nepriaznivým dôsledkom „západného,, štýlu stravovania vo vzťahu k zvýšenému riziku IBD je príjem emulzifikátorov a potravinových konzervantov (karboxymetylcelulóza, polysorbát 80 (E433), karagenan (E407), maltodextrín a iné) (Swidsinski et al., 2009, Roberts et al., 2010, Choi et al., 2016, Nickerson a McDonald, 2012). Už modely experimentálnych kolitíd potvrdili, že diéta s vysokým obsahom tukov s cukrov, typických pre západný štýl stravovania, vedie k črevnej dysbióze a zvyšuje črevnú permeabilitu (Martinez-Medina et al. 2014). Podobný efekt mal aj glutén, maltodextrín, ale aj červené mäso (Nickerson a McDonald, 2012, Wagner et al., 2013). Epidemiologické štúdie poukázali na to, že vysoký obsah **živočíšnych proteínov** v diéte je spojený s vyšším rizikom rozvoja IBD. Riziková je predovšetkým konzumácia mäsa ale aj rýb, nie však vajec a mliečnych produktov. Konzumácia živočíšnych proteínov je spojená aj s konzumáciou tuku, takže vyvstáva problém v izolovanom hodnotení (Jantchou et al., 2010). Črevná mikróflóra jedincov s **diétou založená na živočíšnych produktoch** sa odlišuje od diéty obsahujúcej dominantne rastlinné produkty (ovocie, zelenina, orechy a strukoviny). Nenasýtené mastné kyseliny s krátkym reťazcom, ktoré vznikajú z neresorbovateľnej vlákniny pôsobia protektívne blokáciou aktivácie signálnej cesty sprostredkovanej TLR (Hou et al., 2011). Diéta u jedincov s dominantne živočíšnou stravou zvyšuje obsah fekálnych žľcových kyselín a tým aj zastúpenie mikroorganizmov tolerujúcich žlč (*Bilophila*, *Bacteroides*) a na druhej strane znižuje zastúpenie Firmicutes. Táto zmena črevnej mikróflóry zvyšuje riziko črevných zápalových procesov (Lawrence et al., 2014). Podobne niektoré štúdie naznačili, že fortifikácia potravín **železom** je spojená so zmenou bakteriálneho zloženia črevnej mikróflóry v prospech enterobaktérií a s poklesom bifidobaktérií. Popísaná črevná dysbióza má proinflatórne vlastnosti (Jaeggi et al., 2015). Medzi ďalšie rizikové zložky potravy, ktorých konzumácia je spojená s vyšším rizikom IBD patrí konzumácia mono- a disacharidov, predovšetkým sacharózy, tiež mononenasýtených mastných kyselín (Janson et al., 2011, Jakobsen et al., 2013). Prvým z **protektívnych diétnych faktorov**, s ktorými sa diéta stretáva je **materské mlieko**. Vo včasnom veku zohráva významnú úlohu v modulácii faktorov imunitného systému, navodení tolerancie na potravinové antigény a špecifickú črevnú mikróflóru, ktorej zloženie aj ovplyvňuje. Dojčenie je preto protektívnym faktorom pri rozvoji IBD, dĺžka ochranného pôsobenia je však predmetom diskusií (Koloski et al., 2006).

Aj v ďalšom veku je diéta jedným z najvýznamnejších faktorov ovplyvňujúcich črevnú mikroflóru a viaceré štúdie poukázali na význam viacerých nutrientov v rozvoji a ovplyvňovaní klinického priebehu IBD. U starších detí bol poukázaný protektívny efekt diéty s vysokým obsahom ovocia, zeleniny, olivového oleja, rýb, obilnín a orechov (D'souza et al., 2008). **Vláknina** má v diéte nespochybniteľne protektívne účinky. Fermentovateľná vláknina je metabolizovaná črevnými baktériami za vzniku mastných kyselín s krátkymi reťazcami (acetát, propionát a butyrát). Mastné kyseliny s krátkymi reťazcami slúžia ako významný zdroj energie pre kolonocyty, inhibujú NFκβ a transkripciu proinflamačných mediátorov, tiež majú antioxidantné pôsobenie. Vláknina zohráva významnú úlohu v udržiavaní črevnej bariérovej funkcie. Niektoré štúdie tiež naznačili zmeny zloženia červenej mikroflóry v závislosti od obsahu vlákniny v diéte (D'Souza et al., 2008). Prvé poznatky o prospešnosti vlákniny v etiopatogenéze IBD pochádzajú už z 70-tych rokov minulého storočia. Ananthakrishnan a spol. (2013) sledovali príjem vlákniny u viac ako 170 000 žien v priebehu 26 rokov. Vyšší príjem vlákniny (24,3 g/deň) viedol k redukcii incidencie CD o 40 %, ale nie ulceróznej kolitídy. Najvýznamnejší protektívny účinok mala vláknina z ovocia. Príjem vlákniny z obilnín alebo strukovín riziko nemodifikoval (Ananthakrishnan et al., 2013). Viaceré štúdie upozornili na to, že u pacientov so známou CD je príjem vlákniny v porovnaní s bežnou populáciou nižší, čo však vo väčšine prípadov nie je žiadúce a dokonca môže nepriaznivo ovplyvňovať klinický priebeh ochorenia. Znížený obsah vlákniny je vhodné odporučiť len v štádiu relapsu ochorenia, pri črevnej stenóze, pri syndróme bakteriálneho prerastania a po niektorých chirurgických výkonoch. Adekvátny príjem vlákniny napomáha k udržiavaniu remisie (Brown et al., 2011).

Vzťah medzi **apendektómiou** a rizikom rozvoja CD je stále diskutovaný. Podľa systematickej meta-analýzy je v prvom roku po apendektómii signifikantne zvýšené, s následnou klesajúcou tendenciou v priebehu 1-4 roku po operácii, aj keď aj v tomto období je riziko ešte signifikantne vyššie (Kaplan et al., 2008). Ďalšie štúdie však upozornili na to, že apendektómia u pediatrických pacientov nepredstavuje zvýšené riziko rozvoja CD (Fernández, 2013). Mechanizmus rizikového ani protektívneho pôsobenia však zatiaľ nie je známy.

**Význam životného štýlu** pri rozvoji nešpecifických črevných zápalových ochorení bol skúmaný v mnohých štúdiách. Vyšší výskyt Crohnovej choroby v **ekonomicky vyspelých**

**krajinách** vysvetľuje tzv. „**hygienická hypotéza**“. Pre vznik ochorenia je nevyhnutná genetická predispozícia s nevyzretým imunitným systémom čreva. Pre správny vývoj imunitného systému čreva je potrebné, aby sa imunokompetentné bunky stretávali s mikrobiálnymi antigénmi v útlom detskom veku. Rozhodujúce je obdobie do dvoch rokov, keď dochádza k maturácii slizničného imunitného systému čreva, ktorý má za fyziologických podmienok schopnosť tzv. imunitnej tolerancie, kedy nedochádza k odpovedi na fyziologicky sa vyskytujúce bakteriálne antigénne podnety z črevného lúmenu. **Hygienická teória** predpokladá, že deti v rozvinutých krajinách s prístupom k čistej vode, nekontaminovaným potravinám a hygienickým produktom, so špecifickými postupmi pri spracovaní a uskladňovaní potravín, žijúce v menších rodinách sú menej exponované infekčným bežným infekčným agensom (baktérie vrátane *Helicobacter pylori*, vírusy, ale aj parazity). Vplyvom vysokého hygienického štandardu sa slizničný imunitný systém nestretáva s dostatočným počtom bakteriálnych antigénov a preto sa úplne nevyvinie. Expozícia mikroorganizmom je nevyhnutná pre správne programovanie imunitného systému čreva pri regulácii zápalovej odpovede. Predpokladá sa, že infekcie v rannom detstve pomáhajú nastoliť imunologickú rovnováhu medzi proinflatórnymi  $T_H1$  lymfocytmi a T-regulačnými lymfocytmi, ktorá sa podieľa na prevencii neprimeraných odpovedí voči alergénom, mikrobiálnym a ďalším antigénnym stimulom. Oneskorený kontakt s infekčnými agensami môže viesť k neprimeranej imunitnej odpovedi charakterizovanej abnormálnymi alebo neefektívnymi zápalovými procesmi, ktoré sú potenciálne asociované s vyšším rizikom alergických a autoimunitných ochorení, vrátane nešpecifických črevných zápalových ochorení (Koloski et al., 2008). Koloski a spol. (2008) zrealizovali meta-analýzu relevantných štúdií publikovaných od roku 1966 do roku 2007 zaberajúcich sa hygienickou hypotézou. Zistili, že *H. pylori* zohráva protektívnu úlohu vo vývoji a prirodzeného priebehu Crohnovej choroby. Bude ale potrebné zrealizovať ďalšie štúdie, ktoré by potvrdili, či mikroorganizmus pôsobí iba ako biomarker expozície v detskom veku, alebo má priamy a širší kauzálny či modifikujúci dopad na vývoj imunitného systému gastrointestinálneho traktu. Vyšší hygienický štandard so sebou prináša aj nižší kontakt s bežnými parazitárnymi infekciami. Parazity zohrávajú významnú imunoregulačnú úlohu v črevnej mikroflore. Parazitárna infekcia je asociovaná s  $T_H2$  odpoveďou, ktorá je opozitnou  $T_H1$  odpoveďou asociovanou s autoimunitnými ochoreniami a Crohnovou chorobou. Chronická parazitárna infekcia tiež môže stimulovať T-regulačné lymfocyty k produkcii TGF- $\beta$  a interleukínu 10, ktoré nielenže regulujú  $T_H1$  ale aj  $T_H2$

odpovede. Parazitárna infekcia so sebou prináša aj ďalšie obranné mechanizmy, ako zvýšenie produkcie hlienu a sekrécie vody do črevného lúmenu, ovplyvnenie črevnej motility, zloženie črevnej mikrofóry a neuroendokrinné odpovede. Ďalšie sledované charakteristiky – rodinné pomery a hygienické zvyklosti, socioekonomický status, navštevovanie predškolského zariadenia zatiaľ nepriniesli konklúzne závery (Koloski et al., 2008). Vplyv urbanizácie sa v etiopatogenéze IBD ukazuje ako významný rizikový faktor. Soon a spol. zrealizovali v roku 2015 metaanalýzu 40 klinických štúdií, kde poukázali na vyšší výskyt Crohnovej choroby, aj ulceróznej kolitídy v urbanizovanej spoločnosti, ktorý zdôvodňujú hygienickou hypotézou, vyšším výskytom fajčenia a užívania ATB (Soon et al., 2012). Boggild a spol. (1996) zistili vyšší výskyt nešpecifických črevných zápalových ochorení u ľudí so „sedavým zamestnaním“, pravdepodobne následkom dlhšieho črevného tranzitného času s dlhším pôsobením potravinových antigénov na črevnú sliznicu (Boggild et al., 1996). Naopak predpokladá sa, že cvičenie môže mať priaznivý efekt na aktivitu IBD, bol potvrdený priaznivý vplyv v experimentálnych modeloch kolitíd. Fyzická aktivita tiež priaznivo ovplyvňuje náladu pacientov a v neposlednom rade prispieva k udržaniu hmotnosti. Na druhej strane však významná fyzická aktivita môže evokovať prejavy miernej systémovej zápalovej odpovede, stimulovať uvoľňovanie prozápalových cytokínov a následne spustiť exacerbáciu gastrointestinálnej symptomatológie (Bilski et al., 2016). Obezita je nepriaznivým prognostickým rizikovým faktorom CD, u obezných pacientov boli namerané vyššie hladiny fekálneho kalprotektínu, aj keď mechanizmus vplyvu adipozity zatiaľ nebol objasnený (Khalili et al., 2015).

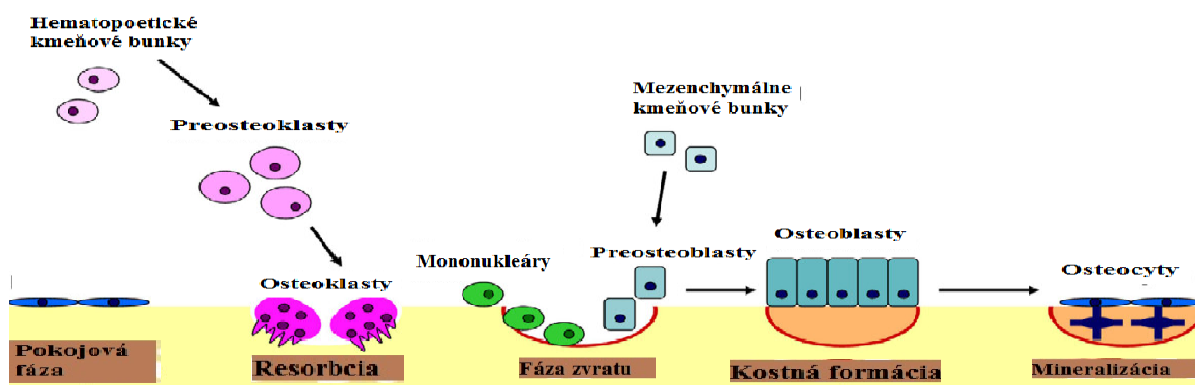
Sledovanie vplyvu **očkovania** na rozvoj rôznych ochorení vrátane IBD je stále aktuálna a diskutovaná téma. Vo vzťahu k IBD sa zvažovalo, že znížený výskyt infekcií v detskom veku môže predisponovať k rozvoju imunologicky podmienených ochorení. Tiež boli hodnotené vplyvy vírusových a bakteriálnych komponentov vakcín, ako aj rôznych adjuvancií, ktoré môžu viesť dysregulovanej zápalovej odpovedi. Pineton de Chambrun (2015) zrealizovali meta-analýzu 11 štúdií pediatrických aj dospelých pacientov hodnotiacich asociáciu medzi vakcináciou a rozvojom IBD. Hodnotené boli vakcíny proti tuberkulóze, diftérii, tetanu, varicelle, poliomyelitíde, pertusis, chrípke H1N1, osýpkam, mumpsu a rubeole. Len u jednej z vyšetovaných podskupín bola nájdená asociácia medzi vakcináciou proti poliomyelitíde a rozvojom CD (RR 2,28, 95% CI, 1.12–4.63), ktorá však vyžaduje

d'alšie prehodnotenie vzhľadom k jej heterogenite. Meta-analýza neposkytla žiadne výsledky, ktoré by potvrdzovali možnú asociáciu medzi vakcináciou a rozvojom IBD (Pineton de Chambrun et al., 2015).

### 3. Základy fyziológie kostnej formácie, remodelácie a metabolizmu

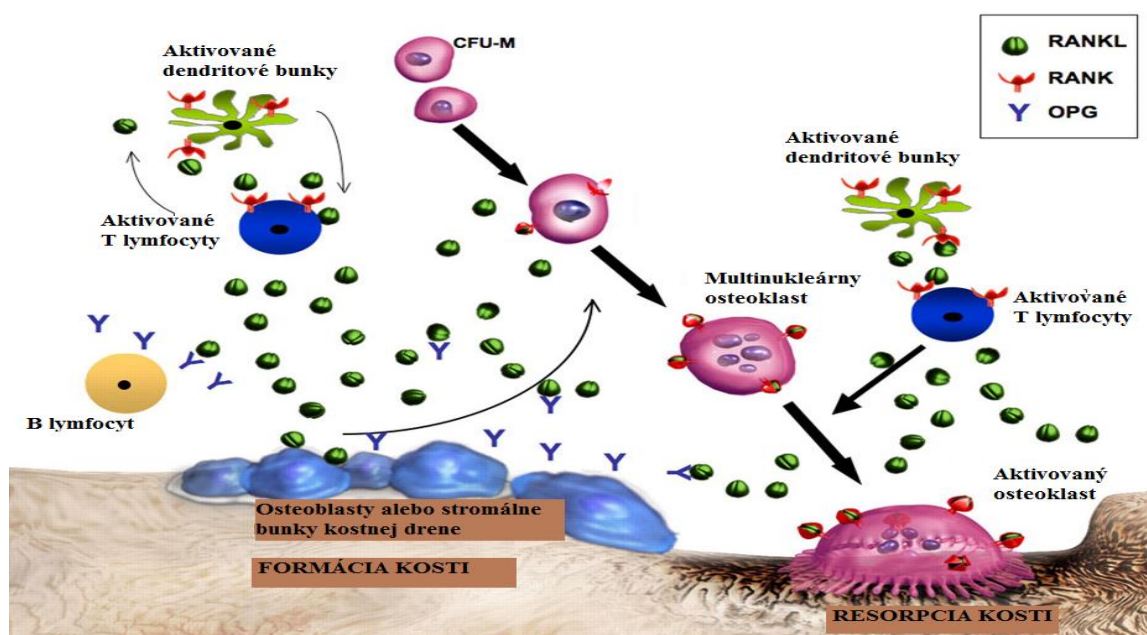
Kosť je metabolicky aktívny orgán, ktorý počas života podlieha neustálemu procesu remodelácie. Kostné bunky (osteoklasty, osteoblasty, osteocyty a bunky endostálnej vrstvy) vytvárajú špecifický systém charakterizovaný schopnosťou reparácie a adaptácie. Vývoj väčšiny kostí nie je pri narodení ukončený a v priebehu rastu dieťaťa je ovplyvnený mnohými endogénnymi aj exogénnymi faktormi. Presný vek dosiahnutia maximálnej hodnoty kostnej hmoty doposiaľ nebol presne stanovený a môže vykazovať lokálnu variabilitu. Väčšina štúdií sa zhoduje v tom, že u žien je dosiahnutý medzi 16.-18. a mužov medzi 18.-20. rokom života a následne dochádza k postupnému úbytku kostnej hmoty (Matkovic et al., 1994).

Remodelácia je faktorom udržania štrukturálnej integrity kostry a zároveň reguluje kalciovo-fosfátový metabolizmus. V priebehu remodelácie dochádza k striedaniu dvoch základných dejov: kostnej resorpcie a formácie, ktoré sú za fyziologických podmienok v rovnováhe. Jeden cyklus remodelácie prebieha v šiestich fázach a trvá približne 180 dní (Obrázok 2.). V pokojovej fáze pokrýva povrch kosti vrstva plochých buniek, ktoré vznikli transformáciou osteoblastov. Vo fáze resorpcie dochádza k resorpcii kosti osteoklastami, s následnou apoptózou osteoklastov. Vo fáze rozvratu nasadajú na miesta resorpcie progenitory osteoblastov, nasledovanej prípravou k novotvorbe kosti za účasti mononukleárov. Vo fáze rannej novotvorby produkujú aktívne osteoblasty v lakúnach osteoid a v neskorej fáze novotvorby dochádza k jeho mineralizácii. V pokojovej fáze sa aktívne osteoblasty premenia na ploché endostálne bunky aj na niekoľko rokov (Vyskočil et al., 2009).



Obrázok 2. Cyklus kostnej remodelácie (Kapinas et al., 2011)

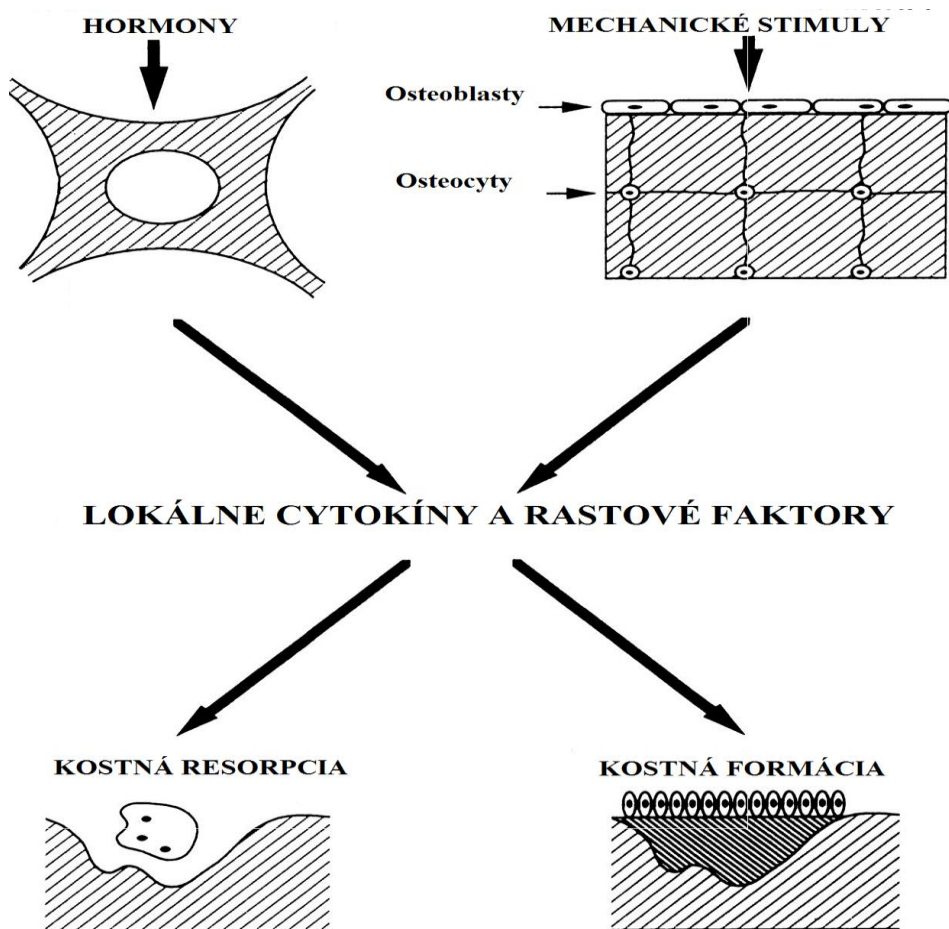
Kontrolu kostného obratu zabezpečuje systém RANK/RANKL (receptor aktivujúci nukleárny faktor  $\kappa$ B /ligand pre receptor aktivujúci nukleárny faktor  $\kappa$ B) a osteoprotegerín (OPG, faktor inhibujúci osteoklasty) v mikroprostredí kosti. RANK je receptor exprimovaný na preosteoklastoch. V osteoblastoch sa syntetizuje RANKL, ktorý je ligandom pre RANK a OPG, ktorý má vysokú afinitu k RANKL. Interakcia medzi RANKL a RANK stimuluje diferenciáciu a dozrievanie osteoklastov. Osteoprotegerín ovplyvňuje kostnú modeláciu kompetitívnou inhibíciou väzby RANKL na RANK, s následnou inhibíciou aktivácie osteoklastov, skrátením ich prežívania a tým znížením resorpcie kosti. Osteoklasty produkujú  $\text{TNF-}\alpha$ , ktorý vyvoláva apoptózu osteoblastov. Môže byť blokovaný väzbou na OPG, mechanizmom chrániacim osteoblasty. Pomer RANKL/OPG určuje rýchlosť remodelácie kosti. Pri prevahe RANKL nad OPG dominuje osteoresorpcia (Koni et al., 2012) (Obrázok 3.).



**Obrázok 3.** Úloha RANK/RANKL systému v procese kostnej remodelácie (Ferrari –Lacraz a Ferrari, 2009)



Rovnováha medzi remodelačnými procesmi je za fyziologických podmienok ovplyvňovaná širokým spektrom systémových a lokálnych regulujúcich faktorov - genetických, mechanických, nutričných a hormonálnych (Obrázok 4.).



**Obrázok 3.** Regulačné faktory kostnej remodelácie (Composton, 2004)

Genetické faktory predurčujú dosiahnuteľné maximum kostnej hmoty z 60-80%. Druhým významným faktorom je fyzická aktivita, ktorá predovšetkým v detskom veku, pôsobí stimulačne na osteocyty a zvyšuje kostnú formáciu. Naopak absencia pohybovej aktivity urýchľuje resorpčné procesy. Z nutričných faktorov sa najväčší význam pripisuje príjmu vápnika a vitamínu D, ale aj adekvátnemu príjmu kvalitných bielkovín. Súčasné práce sa zameriavajú aj na úlohu vitamínu K, tiež nadmerného príjmu sodíka, ktorý prispieva k renálnej exkrécii vápnika. Dôležitým determinantom je ale aj hmotnosť jedinca. Hormóny regulujúce kostný metabolizmus sú uvedené v Tabuľke 1.

**Tabuľka 1.** Hormonálne faktory regulujúce kostný metabolizmus.

	Stimulačné pôsobenie	Inhibičné pôsobenie
Kostná resorpcia	parathormón, tyreoidálne hormóny, vysoké dávky vitamínu D	kalcitonín, estrogény
Kostná formácia	rastový hormón, metabolity vitamínu D, androgény, inzulín (predovšetkým prostredníctvom IGF-I), nízke dávky parathormónu, progesterón	glukokortikoidy

Medzi lokálne faktory ovplyvňujúce remodeláciu kosti patria predovšetkým rastové faktory, cytokíny a proteíny kostnej matrix (Tabuľka 2.)

**Tabuľka 2.** Lokálne faktory ovplyvňujúce remodeláciu kosti (Kini et al., 2012)

	Stimulácia kostnej formácie	Stimulácia kostnej Resorbcie	Inhibícia kostnej resorbcie
Rastové faktory	BMP-2, BMP-4, BMP-6, BMP-7, IGF-I, IGF- II, TGF- $\beta$ , FGF, PDGF	TNF, EGF, PDGF, FGF, M-CSF, GM-CFF	
Cytokíny	IL-4, IL-13, IFN, OPG	IL-1, IL-6, IL-8, IL-11, PGE <sub>2</sub> , PGE1, PGG2, PGI2, PGH2	IL-4, IFN- $\gamma$

## 4. Osteoporóza v detskom veku

Osteoporóza je systémové ochorenie skeletu, ktoré je charakterizované znížením obsahu kostnej hmoty a narušením mikroarchitektúry kostného tkaniva, čo zapríčiňuje zvýšenú fragilitu kostí, podmieňujúcu vznik fraktúr, či už spontánnych alebo vyvolaných minimálnym traumatickým mechanizmom. Etiopatogenéza osteoporózy nie je jednotná a v detskom veku sa odlišuje od dospelých. V porovnaní s primárnymi príčinami sú sekundárne príčiny asociované s chronickými ochoreniami a/alebo terapiu zriedkavejšie (Tabuľka 3.). Uvedené etiopatogenetické činitele podmieňujú nerovnováhu medzi regulačnými mechanizmami remodelácie kosti. V spojitosti s osteoporózou boli sledované aj viaceré genetické polymorfizmy (polymorfizmus génu pre receptor vitamínu D, estrogénový a kalcitonínový receptor, polymorfizmus génu pre SP1, IGF-1, LRP5, LRP6 a osteoprotegerín).

**Tabuľka 3.** Najčastejšie príčiny primárnej a sekundárnej osteoporózy a nízkej kostnej minerálovej denzity v detskom veku (Bianchi, 2006)

<b>Primárne príčiny nízkej BMD a osteoporózy</b>
Idiopatická juvenilná osteoporóza
Vrodené ochorenia spojivového tkaniva
Osteogenesis imperfecta, Ehler-Danlosov syndróm, Bruckov syndróm, Marfanov syndróm, Osteoporosis pseudoglioma, homocystinúria
<b>Sekundárne príčiny nízkej BMD a osteoporózy</b>
Neuromuskulárne ochorenia
Detská mozgová obrna, Duchennova svalová dystrofia, prolongovaná imobilizácia
Chronické ochorenia
Leukémia, systémové ochorenia spojiva, cystická fibróza, malabsopčný syndróm (celiakia), talasémia, primárna biliárna cirhóza, nefropatie (nefrotický syndróm), mentálna anorexia, stav po orgánovej transplantácii, HIV infekcia
Ochorenia endokrinného systému
Opozdená puberta, hypogonadizmus, Turnerov syndróm, deficit rastového hormónu, hypertyreóza, diabetes mellitus 1. typu, hyperprolaktinémia, Cushingov syndróm
Vrodené metabolické poruchy
Proteínová intolerancia, glykogenózy, galaktozémia, Gaucherova choroba
Lieky
glukokortikoidy, metotrexát, cyklosporín, heparín, rádioterapia, antikonvulzívna liečba

**Klinické prejavy** osteoporózy v detskom veku sú rôznorodé. U niektorých detí môžu byť prítomné bolesti chrbta, bokov a dolných končatín. Najčastejšie sú prvým prejavom rekurentné fraktúry dlhých kostí s neprimeraným úrazovým mechanizmom. Kompresívne fraktúry chrbtice sa prejavujú jej bolesťami, znížením výšky a deformitou chrbtice. V niektorých prípadoch však môžu byť klinicky nemé, náhodne identifikované pri RTG vyšetrení chrbtice. Vzhľadom k tomu, že do prvej zlomeniny je väčšina detí bezpríznaková, je dôležité identifikovať rizikové skupiny detí a adekvátne riešiť zníženú kostnú minerálovú hustotu. Každá odchýlka v detskom veku a adolescencii negatívne ovplyvňuje vrcholovú kostnú hmotu.

Pri úvodnom **vyšetrení dieťaťa** je potrebné zamerať sa na výskyt osteoporózy v rodine, v anamnéze pátrať po klinických prejavoch, známom ochorení alebo liečbe spojenej so sekundárnou osteoporózou, o výskyte fraktúr v minulosti, prítomnosti deformity chrbtice. Je potrebné zhodnotiť diétne zvyklosti dieťaťa so zameraním sa na celkový kalorický príjem, príjem vápnika a vitamínu D a fyzickú aktivitu dieťaťa.

**Diagnostika** a liečba nízkej BMD sa u detí vo viacerých ohľadoch odlišuje od dospelých. Kosti rastúceho organizmu podliehajú počas vývoja neustálym zmenám veľkosti a tvaru. Pri hodnotení je nutné zohľadniť aktuálnu rastovú rýchlosť, výšku, BMI, štádium puberty, pohlavie, rasu, stupeň fyzickej aktivity a genetické vplyvy, čo však sťažuje možnosť vytvorenia referenčnej populácie umožňujúcej porovnávanie nameraných hodnôt. V priebehu dospievania dochádza od pohlavia závislým zmenám puberty a rastovej akcelerácie, preto u dievčat dochádza k rýchlejšiemu dosiahnutiu vrcholovej kostnej hustoty v porovnaní s chlapcami. Nezohľadnenie antropometrických parametrov môže viesť k chybnjej interpretácii výsledkov a naddiagnostikovaniu nízkej BMD. Podľa konsenzu Medzinárodnej spoločnosti klinickej denzitometrie (*International Society of Clinical Densitometry, ISCID*) z roku 2007 je hodnotenie v detskom veku založené na posudzovaní **Z-skóre**. Z-skóre udáva, do akej miery sa hodnoty BMD vyšetrovaného pacienta odlišujú od zdravých osôb rovnakého veku a pohlavia. Ak je Z-skóre menšie ako -2,0, odporúča sa použiť termín „**nízka kostná denzita vzhľadom k veku**“. **Osteoporóza** sa v detskom veku definuje ako klinicky významná anamnéza fraktúr (jedna fraktúra dlhej kosti dolnej končatiny alebo kompresívna fraktúra stavca alebo dve alebo viac fraktúr dlhých kostí horných končatín) a zároveň nízka kostná denzita definovaná ako Z-skóre pre obsah kostného minerálu alebo plošnú kostnú denzitu (pri vyšetrení DXA  $\leq 2$  so zohľadnením veku, pohlavia a výšky). Na základe týchto odporúčaní

by sa diagnóza osteoporózy v detskom veku nemala opierať len o denzitometrické kritériá, ale je nutná aj klinicky významná anamnéza fraktúr. Termín osteopénia by sa používať nemal (Baim a spol., 2008, El-Matary et al., 2011).

Preferované oblasti merania sú drieková chrbtica alebo realizácia celotelového scanu. Všeobecné indikácie pre denzitometrické vyšetrenie podľa Odborného usmernenia Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky pre diagnostiku a liečbu osteoporózy (2006) sú uvedené v Tabuľke 4. Podľa Odborného usmernenia Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky pre diagnostiku a liečbu glukokortikoidmi indukovanej osteoporózy (2009) by celotelové denzitometrické vyšetrenie mali podstúpiť pacienti, ak sú pacienti liečení dávkou viac ako 7,5 miligramov prednizónu za deň v trvaní viac ako tri mesiace a/alebo za rok 2,7 gramov (kumulatívne). Aj keď jednoznačné indikácie k denzitometrickému vyšetreniu v detskom veku zatiaľ neboli presne stanovené, zhoda panuje v tom, že vyšetrenie by malo byť zrealizované u všetkých detí s ochoreniami ovplyvňujúcimi kostnú minerálovú densitu pri ich diagnostike a ďalej v priebehu ochorenia podľa klinického stavu a predpokladaného ovplyvnenia kostnej hmoty. Pri posudzovaní má väčší význam hodnotenie trendu hodnôt ako jednorazové vyšetrenie. Súvisí to aj s tým, že doposiaľ nebol presne stanovený „rizikový prah“ kostnej denzity, pri ktorom je dieťa ohrozené patologickými fraktúrami. V klinickej praxi sa odporúča vyšetriť parametre kostného obratu pri poklese Z skóre pod -1 SD.

**Röntgenové vyšetrenie** sa v diferenciálnej diagnostike osteoporózy využíva pri vylúčení rachitídy, osteomalácie, metabolických osteopatií a prítomnosti patologických zlomenín a deformít. Vyšetrenie je zaťažené pomerne vysokou subjektivitou a umožňuje zachytiť až významné zmeny kostnej denzity (pokles 30-40%).

Druhou skupinou vyšetrení sú metódy založené na absorpciometrii. Kostná denzitometria stanovuje hustotu kostného tkaniva a obsah minerálu v kosti. Zlatým štandardom diagnostiky zmien kostnej denzity je v súčasnosti **duálna röntgenová absorpciometria** (*dual energy X-ray absorptiometry, DXA*). DXA umožňuje hodnotiť kostnú densitu pomocou dvoch lúčov rôznych energetických úrovní, pričom oslabenie intenzity žiarenia, ktoré prešlo tkanivom je priamo úmerné denzite. Použitie dvoch energetických úrovní umožňuje od kosti mákka tkanivá. Táto metodika je aktuálne najdostupnejšou a najpoužívanjšou metódou pre detský vek. Výhodou vyšetrenia je presnosť, nízka radiačná záťaž a rýchlosť vyšetrenia. V detskom veku je preferované vyšetrenie stavcov driekovej chrbtice (L1-L4) alebo celotelová denzita pred hodnotením

proximálneho femuru, ktoré má v tomto veku veľkú individuálnu variabilitu. Vyhodnotený parameter – **plošná kostná denzita** (*areal bone mineral density, aBMD*) je vyjadrený v g/cm<sup>2</sup>. Nevýhodou je hodnotenie v plošných jednotkách so zanedbaním hĺbky. Nález zníženej plošnej kostnej denzity môže byť okrem osteoporózy zapríčinený aj demineralizáciou kosti (napr. pri rachitíde), menšími rozmermi kosti u dieťaťa s rastovou retardáciou.

**Tabuľka 4.** Všeobecné indikácie pre denzitometrické vyšetrenie (Odborné usmerenie Ministerstva zdravotníctva Slovenskej Republiky pre diagnostiku a liečbu osteoporózy, 2006)

deficit estrogénov: predčasná menopauza (< 45 rokov), prolongovaná sekundárna amenorea (>1 rok), primárny hypogonadizmus
liečba kortikoidmi dávkou 5 mg prednisonu a viac, ktorej trvanie sa predpokladá viac ako 3 mesiace je indikáciou na zmeranie kostnej denzity ešte pred začatím liečby
anamnéza zlomenina krčka stehennej kosti u matky
nízky body mass index (BMI < 19 kg/m <sup>2</sup> )
všetky ochorenia asociované s osteoporózou: anorexia nervosa, malabsorbcia, primárna hyperparatyreóza, difúzne ochorenia spojiva, reumatoidná artritída, chronické zápalové ochorenia čreva, post-transplantačný syndróm, chronická renálna insuficiencia, hypertyreóza, prolongovaná imobilizácia, Cushingov syndróm, chronické hepatopatie, myeloproliferatívne ochorenia, genetické a iné metabolické ochorenia kostí
podozrenie na osteoporózu z RTG snímky, alebo nález vertebrálnej deformity
zlomenina femuru, chrčtice, predlaktia po neadekvátnej traume
významná strata výšky, alebo torakálna kyfóza
monitoring liečby antiporotikami
chronické užívanie liekov (antikoagulanciá, antiepileptiká, tyroidálne hormóny, imunosupresíva, cytostatiká)
ženy nad 65 rokov
muži nad 70 rokov

Túto limitáciu prekonávajú novšie metodiky hodnotiace objemovú (volumetrickú) kostnú densitu, medzi ktoré zaradujeme **kvantitatívnu CT denzitometriu (QCT)** hodnotiacu **volumetrickú densitu** (*volume bone density, vBMD, g/cm<sup>3</sup>*), umožňujúcu rozlíšiť kortikálnu kosť od trabekulárnej (s nižším mineralizovaným objemom). Najčastejším miestom hodnotenia je krčok femuru alebo driekové stavce. Výhodou je, že volumetrická metóda nie je ovplyvnená veľkosťou kosti, ale jej použitie v pediatrii je limitované vyššou radiačnou záťažou. **Periférna kvantitatívna CT denzitometria (pQCT)** charakterizovaná nižšou radiačnou záťažou. Je určenú predovšetkým pre meranie kostnej denzity dlhých kostí (najčastejšie radius alebo tibia). Výhodami tejto metódy je možnosť odlíšenia trabekulárnej a kortikálnej kosti, hodnotenie indexov kostnej pevnosti.

Z ďalších metód sa pre využitie v pediatrickej praxi zdala byť najslubnejšia **kvantitatívna ultrazvuková denzitometria** s pomerne jednoduchou metodikou, absenciou ionizujúceho žiarenia. Široké spektrum ovplyvňujúcich faktorov s veľkou variabilitou výsledkov (podmienených predovšetkým rôznou hrúbkou kortikálnej kosti a veľkosťou dreňovej dutiny v priebehu vývoja, diskrepanciou nálezov pri rôznych miestach hodnotenia) obmedzuje jej použitie v klinickej praxi (Šumník a Souček, 2012).

**Kostná histomorfometria** umožňuje posúdiť mikroarchitektúru kosti a jej kvalitu, aj keď vzhľadom k invazívnosti kostnej biopsie sa v pediatrii používa len zriedka. Posúdenie mikroarchitektúry kosti je možné zrealizovať aj použitím vysoko-rozlišovacieho pQCT.

Vyšetrenie kostnej denzity neodráža dynamický proces v kostnom tkanive. **Biochemická diagnostika** porúch kostného metabolizmu je postavená na hodnotení markerov kostnej novotvorby a resorpcie (Tabuľka 5.). Viaceré klinické štúdie však poukázali na to, že laboratórne markery kostného metabolizmu vykazujú v detskom veku pomerne výraznú individuálnu variabilitu odrážajúcu rýchlosť rastu kostnej hmoty u vyvíjajúceho sa organizmu, čo limituje ich rutinné použitie v klinickej praxi (Rauchenzauner et al., 2007). Základom laboratórnej diagnostiky je stanovenie hladiny vápnika, fosforu, magnézia v sére, stanovenie sérovej hladiny albumínu, celkových bielkovín, kreatinínu, alkalickej fosfatázy (kostnej frakcie), 25-hydroxyvitaminu D3, parathormónu. Vyšetrenie odpadu vápnika v 24-hodinovom zbere moču, stanovenie pomeru kalcium/kreatinín. Prvotné vyšetrenie by malo byť zrealizované pred zahájením liečby, aj pokiaľ sa jedná len o suplementáciu vápnika a vitamínu D, aby bolo možné posúdiť jej vedľajšie účinky (Bianchi, 2008, Szadek a Scharer et al., 2013).

**Tabuľka 5.** Markery kostnej novotvorby a resorpcie

Parametre kalciovo-fosfátového metabolizmu	Ca, Ca <sup>2+</sup> , P, Mg a ich odpady v moči
Regulačné hormóny Ca-P metabolizmu	parathormón, 25-hydroxycholecalciferol
Ukazovatele kostnej novotvorby	kostný izoenzým alkalickrej fosfatázy, osteokalcín, C-terminálny telopeptidový fragment kolagénu typ I, N terminálny telopeptidový fragment kolagénu typ I
Ukazovatele kostnej resorpcie v moči	degradačné produkty kolagénu (priečno-väzbové zlúčeniny kolagénu – pyridinolíny a deoxypyridinolíny, N- a C-telopeptidy kolagénu typu I, hydroxyprolín)
Ukazovatele kostnej resorpcie v sére	kostná tzv. tartarát-rezistentná kyslá fosfatáza



## 5. Manažment nízkej kostnej minerálovej hustoty a osteoporózy v detskom veku

Nízka kostná minerálová hustota je signifikatným prediktorom fraktúr u dospelých jedincov a je používaná ako kritérium pre stanovenie diagnózy osteoporózy. Podobne znížená BMD je aj v detskom veku a adolescencii asociovaná so zvýšeným rizikom fraktúr, ale ako už bolo spomínané, denzitometrické kritériá nie sú v tomto veku dostatočné na postavenie diagnózy osteoporózy. Výsledky štúdií naznačujú, že zdraví mladí jedinci a deti s anamnézou fraktúry, bez iných komorbidít mali nižšie hodnoty BMC, BMD a volumetrickú BMD v porovnaní so zdravými kontrolami bez fraktúr (Clark et al., 2008). Informácie o vzťahu medzi nízkou BMD a rizikom fraktúr u jedincov s rôznymi chronickými ochoreniami, ktoré sú sprevádzané sekundárnou osteoporózou, sú limitované pomerne malými študovanými skupinami jedincov a prítomnosťou variabilného spektra faktorov (samotné ochorenie, liečba), ktoré ovplyvňujú kostné zdravie. U zdravých detí, ale aj detí s chronickým ochorením, ktoré ovplyvňuje kostnú hustotu je hodnotenie BMD len jedným z faktorov, ktoré umožňuje hodnotiť kostné zdravie. Jednoznačná prahová hodnota BMD, ktorá predisponuje dieťa k signifikantne vyššiemu riziku fraktúr, zatiaľ nebola stanovená. Samotná kostná fragilita je ďalej ovplyvnená výživou, fyzickou aktivitou, štádiom puberty, vekom a pohlavím dieťaťa, pridruženým chronickým ochorením a liečbou, anamnézou fraktúr v predchádzajúcom období, ale aj pozitívnou rodinnou anamnézou na osteoporózu. Vzhľadom k tomu, že fraktúry sú v detskom veku pomerne časté, otázkou ostáva identifikácia jedincov, ktorí by mali podstúpiť vyšetrenie kostnej hustoty. Podľa odporúčení Medzinárodnej spoločnosti klinickej denzitometrie (*International Society of Clinical Densitometry, ISCID*) z roku 2007 by vyšetrenie mali podstúpiť jedinci s primárnymi kostnými ochoreniami, ale aj tí s ochoreniami a/alebo liečbou, ktoré sú asociované so sekundárnou osteoporózou. V prípade, že sa jedná o systémové ochorenia s vysokým rizikom osteoporózy alebo ochorenia pri ktorých je podávaná liečba, ktorá významne ovplyvňuje kostnú denzitu (predovšetkým glukokortikoidy), je vhodné vyšetrenie zrealizovať pri stanovení diagnózy. U dlhodobo imobilizovaných jedincov, ktorí majú vzhľadom k obmedzenej fyzickej aktivite nižšiu, ale vzhľadom k minimálnej pohyblivosti dostávajúcu denzitu, pri výskyte prvej fraktúry (Baim et al., 2008). Ma a Gordon (2012) odporúčajú zrealizovať vyšetrenie u jedincov s anamnézou

fraktúr axiálneho skeletu, panvy a opakovaných fraktúr vyvolaných miernym úrazovým mechanizmom (Ma a Gordon, 2012).

Základom **liečby** je včasná identifikácia faktorov, ktoré sa spolupodieľajú na poklese kostnej hustoty a ich odstránenie/minimalizácia. U sekundárnej osteoporózy je dôležitá kontrola aktivity základného ochorenia, minimalizácia podávania liekov s možným ovplyvnením kostného metabolizmu. Významné postavenie má adekvátne, vyvážená výživa. Pre správnu mineralizáciu kostí je dôležitý dostatočný príjem **vápnika**, ktorý sa pri chronických ochoreniach môže často zvyšovať v súvislosti so samotným ochorením alebo liečbou (glukokortikoidy, diuretiká). Doporučený príjem vápnika je uvedený v Tabuľke 6. Paušálna suplementácia vápnika sa nezdá byť efektívna pri zvyšovaní BMD, u detí so sekundárnou osteoporózou sa zdá byť prínosom (Lovell et al., 2006, Ward et al., 2007). Ideálne je hradiť príjem kalcia prirodzenou stravou, vzhľadom k lepšej absorpcii a nežiaducim účinkom dlhodobého podávania (bolesti brucha, hnačka, flatulencia, svrbenie, exantém, hyperkalcémia a hyperkalcúria, nefrolitiáza). Medikamentózna suplementácia vápnika perorálne je odporúčaná, pokiaľ nie je možné zabezpečiť dostatočný príjem v diéte. Pre suplementáciu je dostupných niekoľko druhov vápenatých solí, ktoré sa líšia obsahom elementárneho kalcia. Vzhľadom k vyššiemu obsahu elementárneho kalcia je preferované kalcium karbolicum (Tabuľka 7.) (Campos et. al., 2003).

**Tabuľka 6.** Doporučený denný príjem vápnika (Ross et al., 2011)

Vek		Adekvátny príjem	Odhadované priemerné požiadavky	Odporúčaný denný príjem
0-6 mesiacov		200 mg		
6-12 mesiacov		260 mg		
1-3 roky			500 mg	700 mg
4-8 rokov			800 mg	1000 mg
Chlapci	9-18 rokov		1100 mg	1300 mg
Dievčatá	9-13 rokov		1100 mg	1300 mg

**Tabuľka 7.** Percentuálny obsah elementárneho vápnika vo vápenatých soliach (Campos et al., 2003)

Vápenatá soľ	% elementárneho vápnika
Kalcium karbónico	40
Kalcium citrát	21
Kalcium laktát	13
Kalcium glutamát	9

Podobne **vitamín D** je esenciálny pre zabezpečenie normálnej kostnej homeostázy. Vitamín D zvyšuje vstrebávanie vápnika z čreva s vstrebávanie z čreva a zlepšuje mineralizáciu kostí. Histometrické štúdie poukázali na to, že nízke hodnoty 25-hydroxyvitamínu D3 sú spojené so zníženou kvalitou kosti. Štúdie opakovane poukázali na to, že príjem vitamínu D je v našej populácii v súvislosti so zmenami životného štýlu nedostatočný (nižší príjem v strave, kratší pobyt vo vonkajšom prostredí, používanie krémov s vysokým stupňom ochrany voči UV žiareniu). Doporučený príjem vitamínu D je uvedený v tabuľke 8. Podľa metaanalýzy Cocharanovskej databázy (2010) sa nezdá byť suplementácia vitamínu D prospešná u detí s normálnymi hladinami vitamínu D. Suplementácia vitamínu D u detí s deficitom môže viesť k zlepšeniu kostnej hustoty predovšetkým v oblasti lumbálnej chrbtice, ale aj pri hodnotení celotelového scanu (Winzenberg et al., 2006). Otázka optimálnej sérovej hodnoty 25-hydroxyvitamínu D3 a tiež cieľovej hodnoty pri substitúcii stále zostáva predmetom diskusií. Väčšina štúdií sa však zhoduje v tom, že sérová hladina 25-hydroxyvitaminu D3 by mala byť vyššia ako 30 ng/ml (Institute of Medicine (US) Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium, 2011). Je tiež potrebné zohľadniť prítomnosť asociovaných ochorení a liečby. Odhaduje sa, že u jedincov s malabsorbčným syndrómom, obezitou, liečených glukokortikoidmi, antikonvulzívami a inými liekmi ovplyvňujúcimi kostnú denzitu je potreba vitamínu D 2- až 3-násobne vyššia. Druhou diskutovanou otázkou súčasnosti je efektívnosť foriem podávaného vitamínu D. Niektoré štúdie poukázali na to, že vitamín D3 má v porovnaní s vitamínom D2 lepší efekt na kortikálnu kostnú hmotu (Sayers et al., 2012).

**Tabuľka 8.** Doporučený denný príjem vitamínu D (Ross et al., 2011)

Vek		Adekvátny príjem	Odhadované priemerné požiadavky	Odporúčaný denný príjem
0-6 mesiacov		400 IU		
6-12 mesiacov		400 IU		
1-3 roky			400 IU	600 IU
4-8 rokov			400 IU	600 IU
Chlapci	9-18 rokov		400 IU	600 IU
Dievčatá	9-13 rokov		400 IU	600 IU

Pozitívny osteogenický efekt má pravidelná **fyzická aktivita** (Blanchet et al., 2008). Optimalizácia príjmu vápnika, vitamínu D, primeraná fyzická aktivita môže byť efektívna v manažmente miernejších foriem osteoporózy. V určitých klinických situáciách je však nutné zvážiť aj farmakologickú liečbu, ktorej možnosti sú však v detskom veku v porovnaní s dospelými pacientmi značne limitované. Základným princípom farmakologickej liečby osteoporózy je stimulácia kostnej formácie alebo potlačenie resorpcie kosti.

**Bisfosfonáty** sú syntetické analógy pyrofosfátov s vysokou afinitou ku kostnému minerálu na povrchu kosti. Spomaľujú osteoresorpciu dysfunkciou až apoptózou osteoklastov. Medzi bisfosfonáty používané v liečbe osteoporózy patria alendronát, pamindronát, rizedronát, ibandronát a zoledronát. Aktuálne poznatky *evidence based medicine* nepodávajú jednoznačné odporúčenia o optimálnej dávke, frekvencii podávania a dĺžke trvania liečby. Navyše nie je ani jednoznačná zhoda v efektivite bisfosfonátov v liečbe detskej osteoporózy. Kontrolované štúdie väčšinou pochádzajú od pacientov s osteogenesis imperfecta a pacientov so sekundárnou osteoporózou rozmanitej etiológie. Sebestyen a spol. (2012) na základe skúseností vlastného centra odporúčajú u pediatrických pacientov s primárnou aj sekundárnou osteoporózou zahájiť intravenóznou alebo perorálnu liečbu bisfosfonátmi pri výskyte

atraumatických fraktúr, alebo fraktúr podmienených minimálnou traumou, s významnými kostnými bolesťami a/alebo plánovaných na korekčnú ortopedickú operáciu. Cieľom liečby je minimalizovať riziko fraktúr, bolestivosť kostí, úprava kostnej minerálovej hustoty (Z skóre BMD -1 a viac) a zlepšenie kvality kosti pri minimálnych alebo žiadnych vedľajších účinkoch. Zahájeniu liečby predchádza podrobná anamnéza zameraná na výskyt fraktúr v posledných dvoch rokoch, bolesti kostí, stomatologické problémy, zloženie diéty so zameraním sa na prísun vápnika a vitamínu D. Zhodnotia sa antropometrické parametre, laboratórne vyšetrenia (sérový kreatinín, vápnik, fosfor, parathormón, 25-hydroxyvitamín D3, osteokalcín, kostná frakcia alkalickej fosfatázy, kreatínkináza, biochemické vyšetrenie moču, pomer kalcium/kreatinín v moči, stanovenie N-telopeptidov v moči), RTG ľavého kolena a denzitometrické vyšetrenie. Pri intravenóznom podávaní sú v priebehu liečby kontrolné laboratórne vyšetrenia opakované pred každým podaním liečby, zobrazovacie každých 6 mesiacov. Liečba väčšinou trvá 1-2 roky, s výnimkou osteogenesis imperfecta, kde sa dĺžka trvania liečby pohybuje medzi 3-5 rokmi. Podávanie bisfosfonátov intravenózne aj perorálne považujú za dobre tolerované a bezpečné aj v detskom veku (Sebestyen et al., 2012). Podľa metaanalýzy Cochranovskej databázy (2007), ktorá sa zameriavala na pediatrických pacientov so sekundárnou osteoporózou nie sú jednoznačné dôkazy, ktoré by podporovali použitie bisfosfonátov ako štandardnej liečby. Krátkotrvajúca liečba (menej ako 3 roky) sa javí ako dobre tolerovaná (Ward et al., 2007). Zahájenie liečby bifosfonátmi je aktuálne postavené na posúdení rizík a benefitov liečby osobitne u každého pacienta. Na zváženie je u pediatrických pacientov so symptomatickou osteoporózou (bolesti kosti, opakované zlomeniny a kompresívne fraktúry stavcov), ktorým sa inou liečbou nepodarilo zastaviť stratu kostnej masy. Je nutné zohľadniť možné nežiaduce účinky – akútne reakcie podobné chrípke, hypokalcémiu, hypofosfatémiu, muskuloskeletálne bolesti, gastrointestinálny dyskomfort, najčastejšie podmienený korozívnou ezofagitídou, bisfosfonátmi indukovanú osteopetózu, atypické zlomeniny. Osteonekróza mandibuly, ktorá je obávanou komplikáciou u dospelých pacientov, bola zatiaľ popísaná len u jedného pacienta. Novšie bisfosfonáty (alendronát, pamidronát, risedronát) neovplyvňujú kostný rast. Vzhľadom k tomu, že bisfosfonáty sa v liečbe pediatrických pacientov používajú len posledných 15 rokov, dlhodobá bezpečnosť liečby zostáva u pediatrických pacientov neznáma.

**Osteoanabolická liečba** má na rozdiel od antiresorbčnej za cieľ dosiahnuť dlhodobú prevahu novotvorby kosti nad jej odbúravaním. Predstaviteľom tejto skupiny je teriparatid,

biologicky účinný rekombinantný N-terminálny fragment 34 aminokyselín ľudského parathormónu. Pri intermitentnom subkutánnom podávaní vedie k preferenčnej stimulácii kostnej novotvorby prostredníctvom stimulácie proliferácie a diferenciácie osteoblastov, tlméním ich apoptózy. Anabolické pôsobenie zvyšuje tak novotvorbu trabekulárnej aj kortikálnej kosti. Používanie teriparidu sa spája s krátko- aj dlhodobými vedľajšími účinkami, z ktorých najfrekventnejšia je hyperkalcémia a hyperkalciúria. Kazuisticky bolo poukázané na výskyt osteosarkómu u jedincov liečených teriparidom, ktorého výskyt je však porovnateľný s bežnou populáciou (Harper et al., 2007). Vzhľadom k riziku kostnej neoplázie u jedincov s otvorenými epifyzárnymi štrbinami nebola účinnosť tohto prípravku sledovaná u pediatrických pacientov.

Podobne ostatné liečebné možnosti, ktoré sú využívané v populácii dospelých jedincov, nie sú využívané v liečbe detskej osteoporózy vzhľadom k chýbajúcim údajom o efektivite a bezpečnosti, eventuálne zaznamenaným nepriaznivým vplyvom na rastúci organizmus. Aktuálnou výzvou v manažmente osteoporózy sú **preparáty biologickej liečby**. Predstaviteľom tejto skupiny je denosumab - rekombinantná, humánna monoklonálna protilátka proti RANKL (*Receptor Activator for Nuclear Faktor kappa-b Ligand*). Väzbou na RANKL zabraňuje interakcii RANKL/RANK, čo vedie k poklesu počtu a funkcie osteoklastov a tým znižuje kostnú resorpciu. Aktuálne je u nás indikované jeho použitie u dospelých pacientov v liečbe postmenopauzálnnej osteoporózy a sekundárnej osteoporózy pri nádorových ochoreniach. Publikované však už boli aj malé skupiny pediatrických pacientov (s osteogenesis imperfecta, Pagetovou chorobou), ktorí liečbu podstúpili s dobrým efektom a toleranciou. Z nežiaducich účinkov bola zaznamenaná závažná hypokalciémia, aj keď samozrejme bude nutné zrealizovať kontrolované štúdie, vzhľadom k zaznamenaným nežiaducim účinkom u dospelých jedincov (hypokalciémia, hypofosfatémia, dyspnoe, gastrointestinálne ťažkosti, hyperhidróza, osteonekróza čeluste) (Grasemann et al., 2013, Semler et al., 2012). V predklinických štúdiách bola na zvieracích modeloch zaznamenaná inhibícia rastu kostí a prerezávania zubov, ktoré boli po ukončení liečby čiastočne reverzibilné.

Jednoznačné odporúčenia liečby nízkej kostnej denzity a osteoporózy v detskom veku pre rutinné použitie v klinickej praxi neboli doposiaľ stanovené. Substitúcia vápnika a vitamínu D sa zdá byť prospešná len u detí s deficitom. Konsenzus panuje v tom, že v špecifických situáciách môžu deti profitovať z podávania bifosfonátov. Požitie ostatných

preparátov a ich možné nežiaduce účinky vyžadujú ďalší výskum a sledovanie (Ma a Gordon, 2012). U jedincov so sekundárnou osteoporózou je prvom slede dôležitá adekvátne liečba základného ochorenia. Pacienti s endokrinopatiami (rastová retardácia, hypogonadizmus) by v indikovaných prípadoch mali podstúpiť substitučnú hormonálnu liečbu. Cieľom liečby nízkej kostnej denzity a osteoporózy je prevencia fraktúr, úľava od bolesti, udržiavanie motorických funkcií, primeraného rastu a vývoja (Bianchi et al., 2006).

Kontrolné denzitometrické vyšetrenie nie je vhodné v prípade zahájenia liečby alebo hraničných nálezov kontrolovať skôr ako o rok, vzhľadom k tomu, že kosť nepatrí medzi tkanivá s rýchlym metabolickým obratom. Porovnávacie vyšetrenia je dôležité realizovať použitím rovnakého prístroja (Šumník a Suoček., 2012).

## 6. Nízka kostná hustota a osteoporóza asociovaná s Crohnovou chorobou v detskom veku

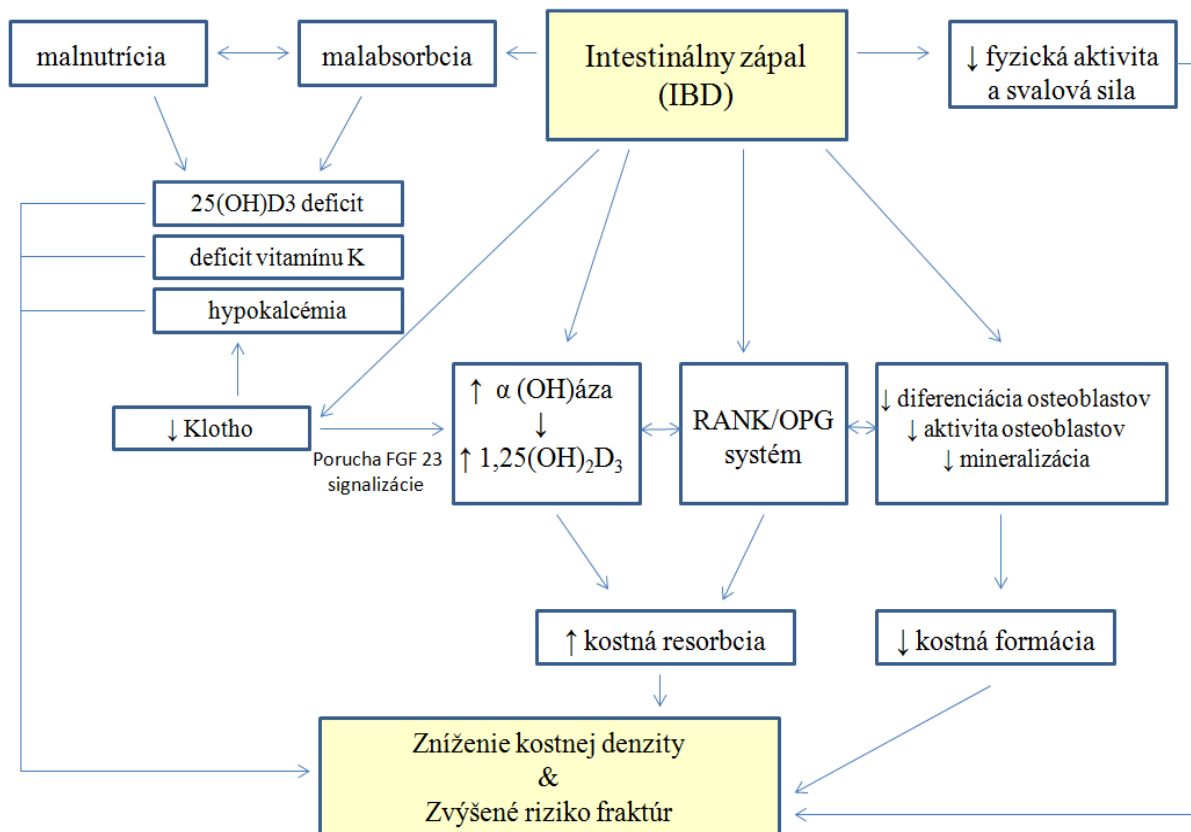
Pokles kostnej minerálovej hustoty a osteoporóza patria medzi významné extraintestinálne prejavy Crohnovej choroby. U pediatrických pacientov dochádza k ovplyvneniu kostného metabolizmu viacerými mechanizmami (Obrázok 5.), ktoré majú za následok pokles BMD vzhľadom k veku. Aktuálne výsledky naznačujú, že nízka BMD môže byť prítomná až u 70% pediatrických pacientov s Crohnovou chorobou (Bernstein et al., 2003, Semeao et al., 1999). U dospelých s nešpecifickými črevnými zápalovými ochoreniami sa výskyt osteoporózy odhaduje medzi 12-42%, výskyt osteopénie môže dosiahnuť až 77%. Ucerózna kolitída je v porovnaní s Crohnovou chorobou spojená s menším rizikom poklesu kostnej hustoty (Bjarnason et al., 1997, van Hogezaand a Hamdy, 2006, Vestergaard et al., 2004).

Viacere štúdie poukázali, že už jedinci s novodiagnostikovaným ochorením majú v porovnaní so zdravými jedincami zníženú BMD, aj keď výsledky naznačujú aj významný vplyv ďalšieho priebehu ochorenia s perzistenciou zápalového procesu a nežiaducimi účinkami liečby (Bernstein et al., 1995, Bernstein et al., 2003, Sylvester et al., 2007). Rizikové faktory nízkej BMD u pediatrických pacientov s Crohnovou chorobou sú uvedené v Tabuľke 9. U dospelých pacientov sa k týmto faktorom pridružuje ženské pohlavie, vyšší vek a fajčenie (Ghishan a Kiela, 2011, Semeao et al., 1999). Pretrvávajúca, klinicky významná aktivita ochorenia a používaná liečba nepriaznivo ovplyvňuje kostný obrat. Závažnou otázkou však zostáva aj fakt, či chronický, aj keď subklinický zápal asociovaný s Crohnovou chorobou predisponuje dieťa k zvýšenému riziku fraktúr v staršom veku a vedie k nižšej vrcholovej BMD vo včasnej dospelosti (Ghishan a Kiela, 2011).

Základné etiopatogenetické faktory, ktoré podmieňujú pokles kostnej hustoty u pacientov s Crohnovou chorobou sú mechanizmy perzistujúceho zápalového procesu, faktory vedúce k malabsorpcii a nedostatočný nutričný status, nežiaduce účinky liečby, (predovšetkým kortikoidov) (Cravo et al., 2010, Grishan a Kiela, 2011, Grasemann et al., 2013). Dominantným mechanizmom sa zdajú byť **mechanizmy perzistujúceho zápalového procesu** mediované T-lymfocytmi a makrofágmi, produkujúcimi viaceré prozápalové cytokíny (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$  a  $\beta$ , IL-6, IL-11, IL-17, transformujúci rastový faktor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , epidermový rastový faktor a prostaglandín E2). Zápalové cytokíny, predovšetkým TNF- $\alpha$ ,



pôsobením na osteoblasty inhibujú kostnú formáciu a stimulačným vplyvom na osteoklasty podporujú kostnú resorpciu. Zohrávajú tiež významnú úlohu v procese intestinálnej a renálnej absorpcii vitamínov a minerálov (McLean, 2009). Paganelli a spol. (2007) potvrdili významnú aktivitu proinflatórných cytokínov (TNF- $\alpha$ , IL-10 a IL-6) pri vzniku nízkej kostnej denzity a tiež vyhodnotili Pediatrický index aktivity Crohnovej choroby ako nezávislý prediktor nízkej BMD (Paganelli et al., 2007). Väčšina štúdií sa zhoduje v tom, že dlhotrvajúce chronické aktívne ochorenie predisponuje pacienta k poklesu BMD (Cravo et al., 2013). Podobne nutnosť chirurgickej intervencie môže byť považovaná za ďalší z indikátorov závažného priebehu.



**Obrázok 4.** Faktory a mechanizmy asociované s poklesom kostnej hmoty a rizikom fraktúr u pacientov s nešpecifickými črevnými zápalovými ochoreniami (Ghishan a Kiela, 2011)

**Tabuľka 9.** Rizikové faktory nízkej kostnej denzity u pediatrických pacientov s Crohnovou chorobou (Ghishan a Kiela, 2011, Šumník a Souček, 2012).

Nedostatočný perorálny príjem až malnutrícia
Malabsorpcia vitamínu D, kalcia a vitamínu K
Nízky vzrast a BMI
Pretrvávajúca aktivita ochorenia
Nízky vek pri diagnostike
Dĺžka trvania ochorenia
Lokalizácia zápalového procesu v tráviacom trakte (tenké črevo !)
Závažnosť ochorenia
Nízka fyzická aktivita až imobilizácia
Medikamentózna liečba (glukokortikoidy, blokátory protónovej pumpy...)
Stavy po resekcii tenkého čreva
Pozitívna rodinná anamnéza na osteoporózu

Význam **malnutrície** v etiopatogénze sekundárnej osteoporózy u pacientov s Crohnovou chorobou potvrdili viaceré štúdie (Montalcini et al., 2013). Podmienená je širokým spektrom faktorov. Medzi najvýznamnejšie patria znížený perorálny príjem, gastrointestinálne straty, zvýšené nutričné nároky organizmu, liekové interakcie a malabsorpcia. Z makro- a mikronutrientov sa v etiopatogénze osteoporózy najväčší význam pripisuje vápniku, vitamínu D, ale súčasné práce upozorňujú aj na úlohu vitamínu K. Vernia a spol. (2013) poukázali na to, že diéta jedincov s Crohnovou chorobou má signifikantne nižší obsah vápnika v porovnaní so zdravými kontrolami (Vernia et al., 2013). Za najvýznamnejší negatívny faktor sa považuje laktózová intolerancia (na základe vyhodnotenia pacientami). Nedostatočný príjem vápnika je považovaný za významný reverzibilný rizikový faktor vzniku osteoporózy. Adekvátny príjem vitamínu D je nevyhnutný pre zabezpečenie správneho kostného metabolizmu. Pri nedostatku vitamínu D dochádza k tvorbe funkčne defektných vitamín K-dependentných proteínov. Vitamín K je kofaktorom post-translačnej  $\gamma$ -karboxylácie reziduí glutamátu vitamín K-dependentných proteínov, napr. koagulačných faktorov alebo osteokalcínu. Osteokalcín je syntetizovaný osteoblastami počas kostnej formácie a po karboxylácii dochádza k jeho naviazaniu na hydroxyapatitové

molekuly pri kostnej formácii (Zittermann, 2001). Tiež sa predpokladá, že vitamín K sa podieľa na supresii inflamačných procesov a modulácii aktivity ochorenia (Nakajuma et al., 2011). Kuwabara a spol. (2009) poukázali na to, že deficit vitamínu K je nezávislý rizikový faktor nízkej BMD u pacientov s Crohnovou chorobou (Kuwabar et al., 2009). Na potvrdenie týchto predpokladov však bude ešte nutné zrealizovať väčšie štúdie, tiež na efekt substitúcie vitamínu K na ovplyvnenie aktivity zápalového procesu a kostného metabolizmu. El-Matary a spol. (2011) poukázali na to, že znížená koncentrácia vitamínu D u jedincov s Crohnovou chorobou je rizikovým faktorom nízkej kostnej minerálovej denzity. Závažnosť poklesu však nekorelovala s aktivitou ochorenia a tiež sa nepotvrdila korelácia medzi Z-skóre BMD a koncentráciou vitamínu D (El-Matary a spol., 2011). Leslie a spol. (2008) hodnotili v Manitoba štúdií počas 4-ročného sledovania (od diagnostiky ochorenia) u takmer stovky pacientov s Crohnovou chorobou koreláciu medzi hladinami vitamínu D a BMD. Zistili koreláciu medzi hladinou vitamínu D a BMD pri diagnostike ochorenia a v jeho ďalšom priebehu a predpokladajú, že včasná optimalizácia hladiny vitamínu D zohráva významnú úlohu v prevencii porúch kostného metabolizmu asociovaného s nešpecifickými črevnými zápalovými ochoreniami (Leslie a spol., 2008). Malabsorpčný syndróm sa u pacientov s Crohnovou chorobou dominantne spája s postihnutím tenkého čreva. Jahnsen a spol. (1997) však nedokázali asociáciu medzi lokalizáciou zápalového procesu v čreve a nízkou BMD, dokonca ani u pacientov po resekcii tenkého čreva s mediánom 60 cm (Jahnsen et al., 1997). Naopak Cravo a spol. (2009) považuje postihnutie tenkého čreva a/alebo jeho resekciu za významný rizikový faktor (Cravo et al., 2009).

Tretím mechanizmom sú **nežiaduce účinky liečby**, predovšetkým **glukokortikoidov**. Nežiaduce účinky na kostný metabolizmus sú multifaktoriálne. Kostnú denzitu môžu ovplyvniť viacerými mechanizmami narúšajúcimi rovnováhu medzi tvorbou a odbúravaním kostného tkaniva. Glukokortikoidy v úvode liečby (6 – 12 mesiacov) prechodne stimulujú osteoklastami mediovanú kostnú resorpciu stimuláciou expresie ligandu pre receptor aktivujúci nukleárny faktor  $\kappa$ B a znížením tvorby osteoprotegrínu v osteoblastoch a kostnej stróme. Počas celej liečby inhibujú osteoblastami mediovanú kostnú formáciu prostredníctvom potlačania osteoanabolických rastových faktorov, predovšetkým faktora IGF-I. Ďalším z mechanizmov glukokortikoidov je ovplyvňovanie kalciovo-fosfátového mechanizmu. Znižujú tiež resorpciu vápnika v čreve a potencujú kalcúriu. Pôsobením na os hypotamus-hypofýza-pohlavné orgány inhibujú tvorbu pohlavných hormónov

s osteoanabolickými účinkami (Klein, 2004). Opisované zmeny sú typické pre systémové podávanie glukokortikoidov. Poznatky o systémovom pôsobení rektálne podávaných topických kortikoidov sú nejednoznačné a doposiaľ nebola publikovaná žiadna relevantná štúdia hodnotiaca vplyv liečby u pediatrických pacientov (Robinson et al., 1997, Vestergaard et al., 2000). Súčasťou liečby glukokortikoidmi je antisekrečná liečba blokátormi protónovej pumpy, ktorá je považovaná za jeden z rizikových faktorov rozvoja sekundárnej osteoporózy u pacientov s Crohnovou chorobou, vzhľadom k interferencii s absorpciou vápnika. Lau a Ahmed (2012) publikovali metaanalýzu 14 štúdií, ktorá naznačuje zvýšené riziko verterbálnych fraktúr a fraktúr bedra u dlhodobých užívateľov blokátorov protónovej pumpy, ktoré sa zdá byť po prerušení liečby reverzibilné. Niektoré zo štúdií poukázali na pokles BMD v súvislosti s liečbou PPI, avšak nie všetky výsledky sú jednoznačné. Autori preto odporúčajú zrealizovať väčšie kontrolované štúdie. Niektorí autori predpokladajú, že u pediatrických pacientov s Crohnovou chorobou je liečba kortikoidmi v porovnaní s inflamačnými mechanizmami menej významným, variabilným faktorom (Paganelli et al., 2007). Z ďalších liekov, ktoré sa využívajú v liečbe Crohnovej choroby sa potvrdil nepriaznivý vplyv cyklosporínu A, takrolimusu, metotrexátu a 6-merkaptopurínu na kostný metabolizmus (Lau a Ahmed., 2012). Liečba azatioprimom nie je z tohto pohľadu riziková (Klein, 2004). Zaujímavosťou je, že aktuálne štúdie poukazujú na pozitívny efekt biologickej liečby anti-TNF- $\alpha$ . Osteoklastami podmienená kostná resorpcia je regulovaná pôsobením viacerých cytokínov, medzi ktoré patrí aj TNF- $\alpha$  a IL-6. Tieto cytokíny zohrávajú u pacientov s Crohnovou chorobou významnú úlohu v udržiavaní zápalovej aktivity. Už REACH štúdia v roku 2008 poukázala na úpravu biomarkerov kostnej formácie (kostná frakcia alkalického fosfatázy, N-terminálny propeptid kolagénu typu I) v súvislosti s inhibíciou pôsobenia TNF- $\alpha$  na osteoblasty u pediatrických pacientov liečených počas 54- týždňov infliximabom (Thayu et al., 2008). Ďalšia pediatrická štúdia (35 pacientov) bola zameraná na ovplyvnenie BMD liečbou infliximabom. Hodnotené boli antropometrické parametre, BMD a kostné markery pred a rok po zahájení liečby. Liečba infliximabom pozitívne ovplyvnila hmotnosť a rastový špurt u väčšiny pacientov. Napriek tomu, že hodnoty BMD mali statický charakter, bola zaznamenaná stúpajúca tendencia 25-hydroxyvitamínu D3. Autori preto predpokladajú, že úprava nutričného statusu predchádza zlepšovaniu kostnej mineralizácie. Mauro a spol. (2007) v sledovanej skupine dospelých jedincov potvrdili, že infliximab zlepšuje BMD nezávisle od nutričného statusu, čím potvrdili, že TNF- $\alpha$  sa podieľa na poklese kostnej

hustoty u pacientov s Crohnovou chorobou (Mauro a spol., 2007). Aktuálne štúdie naznačujú, že biologická liečba protilátkami proti TNF- $\alpha$  prispieva k nárastu kostnej hmoty nezávisle na nutričnom statuse, čo naznačuje už spomínanú úlohu TNF- $\alpha$  v etiopatogenéze nízkej kostnej denzity u pacientov s Crohnovou chorobou (Mauro et al., 2007, Thayu et al., 2008). Klein a spol. (2004) odporúčajú zrealizovať denzitometrické vyšetrenie u všetkých detí liečených kortikoidmi dlhšie ako 3 mesiace (Klein et al., 2004). Glukokortikoidy pôsobia predovšetkým na trabekulárnu kosť, preto sa najvýznamnejšie zmeny prejavia pri hodnotení kostnej denzity stavcov.

Niektorí autori k uvedeným trom etiopatogenetickým činiteľom pridávajú aj **hypogonadizmus**, ktorý patrí nongastrointestinálnym prejavom Crohnovej choroby (Vestergaard et al., 2004). Vyskytuje sa u oboch pohlaví a na jeho vzniku sa podieľa vplyv na pituitárno-gonadálnu os, ovplyvnenie funkcie ovárií a testes produkciou prozápalových cytokínov, podvýživa, ktorá redukuje hladinu leptínu a samozrejme aj liečba glukokortikoidmi.

Pri hodnotení **biochemických parametrov** nachádzame markery kostnej formácie znížené, hodnoty markerov kostnej resorpcie varírujú v súvislosti s dĺžkou trvania ochorenia a rastom jedinca (Sylvester, 2005, Sylvester et al., 2007, Thayu et al., 2008, Tuchman et al., 2008).

Vzhľadom k tomu, že Crohnova je choroba ochorenie, ktoré je významne rizikové pre rozvoj sekundárnej osteoporózy, je vhodné denzitometrické vyšetrenie zrealizovať pri diagnostike ochorenia. Doposiaľ neexistuje konsenzus v načasovaní kontrolnej denzitometrie. Americká gastroenterologická asociácia (AGA, 2003) odporúča u pacientov s fyziologickou iniciálnou BMD zrealizovať kontrolu o 2-3 roky. U pacientov liečených glukokortikoidmi, so závažným priebehom ochorenia možno vyšetrenie realizovať častejšie (raz za jeden – dva roky), naopak pri miernom priebehu ochorenia raz za tri-päť rokov (2003). Pacienti s iniciálne zníženou hodnotou BMD vyžadujú frekventnejšie kontrolné vyšetrenia. Vzhľadom k tomu, že kosť nepatrí medzi tkanivá s rýchlym metabolickým obratom, kontroly nie sú štandardne nutné skôr ako raz ročne, ani pri zahájení liečby. Porovnávacie vyšetrenia je dôležité realizovať použitím rovnakého prístroja (Šumník a Souček., 2012).

Doposiaľ publikované výsledky štúdií hodnotiace efektivitu liečby sekundárnej osteoporózy alebo zníženej kostnej hustoty asociovanej s Crohnovou chorobou sú pomerne rozporuplné, pričom väčšina sledovala dospelých pacientov. Aktuálne bola publikovaná

metaanalýza Meleka a Sakurabu (2014), do ktorej bolo zahrnutých 19 randomizovaných kontrolovaných štúdií, hodnotiace substitúciu vápnika a vitamínu D, liečbu bisfosfonátmi, fluoridmi, kalcitonínom a nízkozáťažovú fyzickú aktivitu v liečbe nízkej kostnej hustoty/osteoporózy u jedincov s nešpecifickými črevnými zápalovými ochoreniami (Compston et al., 1994, Bernstein et al., 1995, Baim a spol., 2008, Azzopardia a Ellul, 2013). Liečba bisfosfonátmi bola dobre tolerovaná a efektívna v liečbe nízkej BMD, viedla k redukcii vertebrálnych fraktúr. Údaje, ktoré by podporovali efektivitu liečby substitúciou vápnika a vitamínu D, tiež fluoridmi, kalcitonínom a fyzickou aktivitou nie sú dostatočné, aj keď samotní autori pripúšťajú možnosť ovplyvnenia limitovaným počtom kontrolovaných štúdií (Melek a Sakuraba, 2014). Možný priaznivý efekt substitúcie naznačuje aktuálna štúdia u dospelých pacientov s Crohnovou chorobou, u ktorých denná suplementácia vitamínu D (800 IU) a vápnika (500-1000 mg) viedla k miernemu vzostupu BMD (Bakker et al., 2013).

## 7. Vlastné skúsenosti s hodnotením kostnej minerálovej hustoty u pediatrických pacientov s Crohnovou chorobou

Na Klinike detí a dorastu, JLF UK a Univerzitnej nemocnici v Martine vyšetrujeme kostnú minerálovú hustotu u všetkých pacientov pri diagnostike nešpecifického črevného zápalového ochorenia, pred zahájením liečby kortikosteroidmi. Prvé výsledky hodnotenia 32 pacientov (21 chlapcov a 11 dievčat) s Crohnovou chorobou sme publikovali v roku 2013 (Havlíčková et al., 2013). Priemerný vek pri diagnostike ochorenia bol  $11,90 \pm 4,32$  roka a dĺžka trvania ochorenia  $3,97 \pm 3,47$  roka. Zo štúdie boli vylúčení pacienti s chronickými ochoreniami a liekmi ovplyvňujúcimi kostnú denzitu, tiež pacienti so signifikantnou rastovou retardáciou (pod 3. percentil). Ani jeden z pacientov nemal pozitívnu rodinnú anamnézu u prvostupňových príbuzných na osteoporózu.

Hodnotená bola kostná hustota driekových stavcov (oblasť L1-4) duálnou röntgenovou absorpciometriou. Pri vyšetrení sme použili prístroj Hologic Discovery A QRD Series (S/N 83944) (Obrázok 6.), vybavený softvérom pre použitie v pediatrii, umožňujúcim korelovať namerané hodnoty k veku a pohlaviu. Nameraný parameter – plošná kostná denzita (*aBMD*, g/cm<sup>2</sup>) bola vyjadrené vo forme Z-skóre, smerodajnej odchýlky vo vzťahu k príslušnému veku a pohlaviu. Záznam denzitometrického vyšetrenia je na obrázku 7.

Okrem hodnotenia kostnej minerálovej hustoty sme sa zamerali na vyhodnotenie závislosti medzi hodnotami Z-skóre kostnej minerálovej hustoty antropometrickými parametrami (výška, hmotnosť, BMI), rizikom vzniku fraktúr, charakteristikami ochorenia (vek pri diagnostike ochorenia, dĺžka trvania ochorenia, lokalizácia ochorenia v gastrointestinálnom trakte, závažnosť klinického priebehu) a použitou liečbou (glukokortikoidy – kumulatívna dávka, dĺžka trvania liečby, biologická liečba).

Priemerná hodnota kostnej minerálovej denzity, vyjadrenej vo forme Z-skóre, bola  $-1,18 \pm 1,24$ . V sledovanej skupine malo 31% pacientov Z skóre -1 až -2. Aj keď namerané hodnoty sa nenachádzajú v pásme nízkej kostnej denzity, v klinickej praxi môžeme už aj tieto hodnoty považovať u jedincov s ochoreniami ovplyvňujúcimi kostný metabolizmus, kam s určitosťou patrí aj Crohnova choroba, za „rizikovejšie“.

Anamnéza zlomenín bola zaznamenaná u 4 pacientov, z toho u dvoch sa jednalo o zlomeninu jednej z kostí predlaktia. Fraktúra dlhých kostí dolných končatín, ani kompresívna fraktúra stavca neboli zaznamenané. Ani jeden z pacientov so zlomeninami

nemal Z skóre BMD  $\leq -2$ . Na základe toho môžeme skonštatovať, že ani jeden z pacientov nesplnil kritériá Medzinárodnej spoločnosti klinickej denzitometrie na stanovenie diagnózy osteoporózy. V sledovanej skupine jedinci s anamnézou zlomenín nemali signifikantne nižšiu BMD v porovnaní s jedincami bez anamnézy fraktúr ( $p=0,588$ ).

Nebola potvrdená signifikantná závislosť medzi hodnotou BMD a vekom pri diagnostike alebo dĺžkou trvania ochorenia ( $p = 0,127$ ,  $p = 0,859$ ). Pri korelácii s antropometrickými parametrami bolo potvrdené signifikantné ovplyvnenie BMD výškou pacienta ( $p = 0,023$ ), nie však jeho hmotnosťou alebo BMI ( $p = 0,145$ ,  $p = 0,909$ ). V našej skupine sme potvrdili signifikantnú závislosť medzi BMD a početnosťou relapsov, ktoré môžeme považovať za indikátor závažnosti ochorenia ( $p = 0,016$ ). Nezistili sa signifikantné zmeny v závislosti na lokalizácii zápalového procesu v čreve (izolované postihnutie tenkého čreva  $p = 0,390$ , postihnutie tenkého čreva  $p = 0,951$ , izolované postihnutie hrubého čreva  $p = 0,438$ , kombinované postihnutie tenkého a hrubého čreva  $p = 0,147$ ). Kumulatívna dávka glukokortikoidov (mg/kg) a ich dĺžka liečby významne korelovala s parametrami BMD ( $p = 0,001$ ,  $p = 0,001$ ). U pacientov po chirurgickej intervencii alebo na biologickej liečbe sa nezistili signifikantne znížené hodnoty BMD ( $p = 0,483$ ,  $p = 0,682$ ). V sledovanej skupine pacientov na biologickej liečbe nebol zaznamenaný signifikantný rozdiel BMD v porovnaní s pacientmi s konvenčnou terapiou ( $p = 0,682$ ), nehodnotili sme však BMD pred zahájením biologickej liečby, preto tento aspekt nie je možné posúdiť. U všetkých pacientov s hraničnou a nízkou kostnou denzitou vzhľadom k veku bola zahájená farmakologická liečba preparátmi obsahujúcimi vápnik a vitamín D. Dvaja pacienti boli podľa odporúčenia reumatológa krátkodobo liečení nazálnym kalcitonínom. V roku 2012 bola liečba na základe odporúčenia prehodnotenia účinnosti a bezpečnosti Európskou liekovou komisiou ukončená. Liečba bifosfonátmi podávaná nebola. V nefarmakologickej terapii sa okrem výživy dôraz kládol na primeranú fyzickú aktivitu a expozíciu slnečnému žiareniu.





**Obrázok 6.** Prístroj Hologic Discovery A QRD Series (S/N 83944)

**Klinika deti a dorastu UK JLF a MFN**  
Kollarova 2, 036 59 Martin

Telephone: 043-4203 154

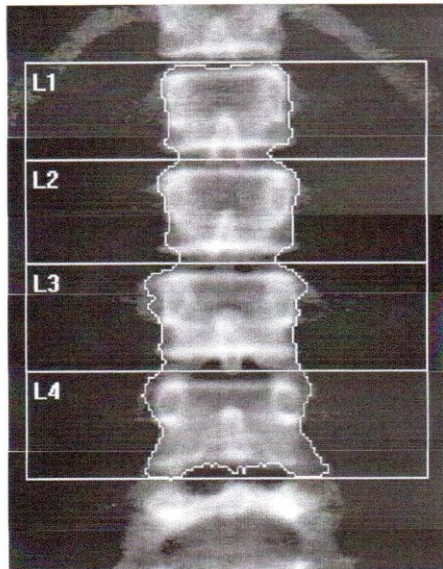
Fax: 043-4222 678

Name: [REDACTED]  
Patient ID: [REDACTED]  
DOB: [REDACTED]

Sex: Female  
Ethnicity: Pediatric

Height: 153.0 cm  
Weight: 46.0 kg  
Age: 11

Referring Physician:



k = 1.160, d0 = 47.3  
116 x 125

**Scan Information:**

Scan Date: 01 April 2011 ID: A04011105  
Scan Type: a Lumbar Spine  
Analysis: 01 April 2011 11:01 Version 12.7.3.1:3  
Lumbar Spine  
Operator:  
Model: Discovery A (S/N 83944)  
Comment:

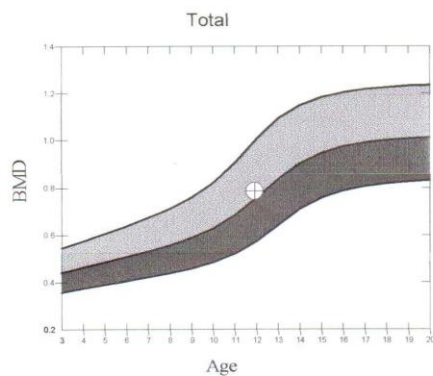
**DXA Results Summary:**

Region	Area (cm <sup>2</sup> )	BMC (g)	BMD (g/cm <sup>2</sup> )	T - score	Z - score
L1	10.00	7.68	0.768	-1.5	0.8
L2	11.52	9.54	0.828	-1.9	0.7
L3	13.39	10.45	0.781	-2.8	0.1
L4	14.25	10.98	0.770	-3.0	-0.1
<b>Total</b>	<b>49.16</b>	<b>38.65</b>	<b>0.786</b>	<b>-2.5</b>	<b>0.3</b>

Total BMD CV 1.0%, ACF = 1.048, BCF = 1.026, TH = 5.669

WHO Classification: Osteoporosis

Fracture Risk: High



**Physician's Comment:**

T-score vs. Pediatric Female; Z-score vs. Pediatric Female. Source: Hologic, 2005

**HOLOGIC®**

**Obrázok 7.** Záznam denzitometrického vyšetrenia

## 8. Záver

Osteoporóza alebo nízka kostná minerálová hustota sú typickým extraintestinálnym prejavom Crohnovej choroby v detskom veku. Viaceré štúdie poukázali, že už jedinci s novodiagnostikovaným ochorením majú v porovnaní so zdravými jedincami zníženú BMD, aj keď výsledky naznačujú aj významný vplyv ďalšieho priebehu ochorenia s perzistenciou zápalového procesu a nežiaducimi účinkami liečby (predovšetkým glukokortikoidov) a malnutrície (Bernstein et al., 1995, Bernstein et al., 2003, Sylvester et al., 2007). Znížená kostná denzita vzniká kombináciou multifaktoriálne podmienenej zníženej kostnej formácie a zvýšenej resorpcie kosti.

Hodnotenie BMD u pacientov s Crohnovou chorobou v detskom veku naráža na niekoľko významných problémov. Prvým obmedzením vyšetrenia je porovnávanie hodnôt Z-skóre získaných DXA vyšetrením s hodnotami jedincov rovnakého veku (chronologického) a pohlavia. Okrem týchto faktorov je nutné v detskom veku zohľadniť aj aktuálnu rastovú rýchlosť, výšku, BMI, štádium puberty, rasu, stupeň fyzickej aktivity a genetické vplyvy (Kalwarf et al., 2007). U detí s rastovou retardáciou a/alebo oneskorenou pubertou pri základnom ochorení znížená BMD nemusí súvisieť s metabolickým kostným ochorením, ale odráža oneskorenú kostnú maturáciu (Hill et al., 2011, Sylvester, 2005). Druhým obmedzením je fakt, že pri vyšetrení DXA je rozhodujúcim faktorom veľkosť kosti, pričom rozlíšenie medzi osteomaláciou a osteoporózou zaostáva. Toto obmedzenie prekonáva periférna kvantitatívna CT denzitometria, ktorá je však spojená s vyššou radiačnou záťažou a nie je vhodná na pravidelné sledovanie pacientov v detskom veku (Ghishan a Kiela, 2011). Podobne laboratórne markery kostného obratu sú u detí interpretované náročnejšie. Môžu byť ovplyvnené rastovým tempom, vývojovým zaostávaním, nízkou kostnou hmotou a nutričnými deficienciami (Ghishan a Kiela, 2011). Vyšetrenie kostnej minerálovej denzity umožňuje u pediatrických pacientov s Crohnovou chorobou vyselektovať rizikových jedincov predisponovaných k rozvoju osteoporózy. Zlatým štandardom diagnostiky je duálna röntgenová absorpciometria. Pri vyšetrení BMD je nutné použiť pediatrický softvér, s následným vyjadrením vyhodnotených parametrov vo forme Z-skóre, smerodajnej odchýlky vo vzťahu k príslušnému veku a pohlaviu.

Fragilita kostí vo vzťahu k hodnotám BMD zostáva stále predmetom diskusie. Niekoľko pediatrických štúdií potvrdilo, že nízka BMD je rizikovým faktorom fraktúr. Doposiaľ však nebola stanovená prahová hodnota BMD, ktorá by jednoznačne predisponovala k signifikantnej fragilitě kostí (Bianchi, 2006).

V manažmente je potrebné okrem zohľadnenia aktivity základného ochorenia prispôbiť ďalším negatívnym faktorom ovplyvňujúcim kostný metabolizmus (malnutrícia, nežiaduce účinky liečby, nízka fyzická aktivita). Vek pri diagnostike Crohnovej choroby (< 17 rokov) sa považuje za nezávislý negatívny prognostický faktor závažnosti ochorenia. Niektorí autori poukázali na to, že vznik ochorenia v detskom veku je asociovaný so signifikantne nižšími hodnotami BMD (Azzopardi a Ellul, 2013). Etiopatogenetické činitele, podmieňujúce zmeny BMD u jedincov s Crohnovou chorobou, môžeme rozdeliť do niekoľkých základných skupín. Dominantným mechanizmom sa zdajú byť mechanizmy perzistujúceho zápalového procesu, predovšetkým predovšetkým TNF- $\alpha$ , ale aj faktory vedúce k malabsorpcii a nedostatočný nutričný status a nežiaduce účinky liečby, predovšetkým glukokortikoidov (Klein et al., 2004, Paganelli et al., 2007, Montalcini et al., 2013). Kortikoidmi indukovaná osteoporóza je najčastejším typom liekmi vyvolanej osteopatie, ktorej závažnosť je závislá na dávke a dĺžke podávania liečby (Klein et al., 2004).

Napriek tomu, že zmenám kostného metabolizmu u pacientov s nešpecifickými črevnými zápalovými ochoreniami sa venovalo viacero štúdií, doposiaľ neboli formulované jednoznačné odporúčenia pre prax. Denzitometrické vyšetrenie je vhodné zrealizovať pri diagnostike ochorenia. Základnom primárnej aj sekundárnej prevencie zmien BMD je adekvátne liečba základného ochorenia, s kontrolou zápalovej aktivity. Aj s ohľadom na nežiaduce účinky systémového podávania glukokortikoidov na kostný metabolizmus by mala byť liečba podávaná len v nevyhnutnom čase. Všetci pacienti s Crohnovou chorobou by mali v prevencii a liečbe osteoporózy dbať na dostatočný kalorický príjem, s vyváženým zastúpením makro- a mikronutrientov, vrátane vápnika a vitamínu D vo výžive. Z tohto pohľadu je potrebné poukázať na význam enterálnej výživy u pacientov s Crohnovou chorobou, či už je podávaná ako exkluzívna enterálna výživa pri navádzaní remisie alebo ako podporná výživa sippingom. Väčšina prípravkov neobsahuje laktózu, čo je najmä v úvodných štádiách ochorenia alebo v jeho relapse pre časť pacientov výhodou vzhľadom k sekundárnej laktózovej intolerancii. V diéte je však vhodné aj zaradenie nemliečnych potravín s obsahom vápnika a D vitamínu. V nefarmakologickej terapii sa okrem výživy dôraz kladie na

primeranú fyzickú aktivitu a expozíciu slnečnému žiareniu. Liečebné možnosti nízkej BMD a osteoporózy sú u pediatrických pacientov s Crohnovou chorobou v porovnaní s dospelými obmedzené. Vzhľadom k nedostatku kontrolovaných štúdií sledujúcich efektívnosť a nežiaduce účinky liečby u pediatrických pacientov, základom manažmentu zostávajú u väčšiny režimové opatrenia so suplementáciou vápnika a vitamínu D a jeho aktívnych metabolitov, ktoré však majú len obmedzený efekt (Melek et al., 2013). Pri klinicky závažnom poklese BMD je na zváženie liečba bisfosfonátmi s monitoringom možných nežiaducich účinkov (Sebestyen et al., 1999). Doposiaľ neexistuje ani konsenzus v načasovaní kontrolnej denzitometrie. Vzhľadom k tomu, že kosť nepatrí medzi tkanivá s rýchlym metabolickým obratom, kontroly nie sú štandardne nutné skôr ako raz ročne, ani pri zahájení liečby. Porovnávacie vyšetrenia je dôležité realizovať použitím rovnakého prístroja.

Včasná diagnostika zníženej kostnej denzity a jej liečba umožňuje aj rizikovým pacientom s Crohnovu chorobou dosiahnuť primeranú vrcholovú kostnú hmotu v rannej dospelosti a znížiť riziko rozvoja osteoporózy.

## 9. Literatúra

- AGRAWAL, S., MAYER, L. Gastrointestinal manifestations in primary immune disorders. *Inflamm Bowel Dis.* 2010, 16, 703-711.
- ANANTHAKRISHNAN, A.N. et al. Aspirin, nonsteroidal anti-inflammatory drug use, and risk for Crohn disease and ulcerative colitis: a cohort study. *Ann Intern Med.* 2012, 156, 350-9.
- ANANTHAKRISHNAN, A.N. et al. A prospective study of long-term intake of dietary fiber and risk of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Gastroenterology.* 2013, 145(5), 970-7.
- ANNESE, V. et al. Clinical features in familial cases of Crohn disease and ulcerative colitis in Italy: a GISC study. Italian Study Group for the Disease of Colon and Rectum. *Am J Gastroenterol.* 2001, 96, 2939-45.
- AUJNARAIN, A., MACK, D.R., BENCHIMOL, E.I. The role of the environment in the development of pediatric inflammatory bowel disease. *Curr Gastroenterol Rep.* 2013, [online]. [cit. 2017-02-25]. Dostupné na: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11894-013-0326-4>.
- AZZOPARDI, N., ELLUL, P. Risk factors for osteoporosis in Crohn's disease: infliximab, corticosteroids, body mass index, and age of onset. *Inflamm Bowel Dis.* 2013, 19(6), 73-78.
- BAIM, S., et al. Official Positions of the International Society for Clinical Densitometry and executive summary of the 2007 ISCD Pediatric Position Development Conference. *J Clin Densitom.* 2008, 11(1), 6-21.
- BAKKER, S.F., et al. Increase in bone mineral density in strictly treated Crohn's disease patients with concomitant calcium and vitamin D supplementation. *J Crohns Colitis.* 2013, 7(5), 377-84.
- BENCHIMOL, E. I. et al. Epidemiology of pediatric inflammatory bowel disease: a systematic review of international trends. *Inflamm. Bowel Dis.* 2011, 17, 423–439.
- BERNSTEIN, C.N., et al. Decreased bone density in inflammatory bowel disease is related to corticosteroid use and not disease diagnosis. *J Bone Miner Res.* 1995, 10(2), 250-256.
- BERNSTEIN, C.N., LESLIE, W.D., LEBOFF, M.S. AGA technical review on osteoporosis in gastrointestinal diseases. *Gastroenterology.* 2003, 124(3), 795-841.
- BIANCHI, M.L. Diagnosis and treatment of bone fragility in childhood. *IBMS BoneKEy.* 2008, 5, 323-335.

CLARK, E.M. et al. Association between bone mass and fractures in children: a prospective cohort study. *J Bone Miner Res.* 2006, 21(9), 1489–1495.

BILSKI, J. et al. Can exercise affect the course of inflammatory bowel disease? Experimental and clinical evidence. *Pharmacol Rep.* 2016, 68, 827-36.

BJARNASON, I., et al. Reduced bone density in patients with inflammatory bowel disease. *Gut.* 1997, 40(2), 228-33.

BLANCHET, C. et al. *Activité physique et santé osseuse. Avis du comité scientifique de Kino-Québec.* Québec: Gouvernement du Québec, Ministère de l'Éducation, du Loisir et du Sport, 2008, ISBN 978-2-550-51970-6.

BOGGILD, H., TUCHSEN, F., ORHEDE, E. Occupation, employment status and chronic inflammatory bowel disease in Denmark. *International Journal of Epidemiology.* 1996, 25, 630–637

BROWN, A.C., RAMPERTAB, S.D., MULLIN G.E. Existing dietary guidelines for Crohn's disease and ulcerative colitis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2011, 5, 411-25.

CAMPOS, L.M et al. Osteoporosis in childhood and adolescence. *J Pediatr (Rio J).* 2003, 79(6), 481-8.

CHOI, H. et al. Pro-inflammatory NF- $\kappa$ B and early growth response gene 1 regulate epithelial barrier disruption by food additive carrageenan in human intestinal epithelial cell. *Toxicol Lett.* 2016, 211, 289–295.

CLARK, E.M., et al. Association between bone mass and fractures in children: a prospective cohort study. *J Bone Miner Res.* 2006, 21(9), 1489–1495.

COLOMBEL, J.F. et al. Clinical characteristic of Crohn's disease in 72 families. *Gastroenterology.* 2003, 111, 604-7.

COMPSTON, J. E. Osteoporosis. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1990, 33(5), 653-82.

COMPSTON, J.E. Hormone replacement therapy for osteoporosis: clinical and pathophysiological aspects. *Reprod Med Rev.* 1994, 3(3), 209–244.

COSNES, J. et al. Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology.* 2011, 140, 1785–1794.

CRAVO, M., et al. Risk factors for metabolic bone disease in Crohn's disease patients. *Inflamm Bowel Dis.* 2010, 16(12), 2117-2124.

ČIERNA, I. et al. Výskyt Crohnovej choroby a ulceróznej kolitídy v detskej populácii na Slovensku. *Gastroenterol prax.* 2008, 7, 101-106.

D'SOUZA, S. et al. Dietary patterns and risk for Crohn's disease in children. *Inflamm Bowel Dis.* 2008, 14, 367–373.

EL-MATARY, W., SIKORA, S., SPADY, D. Bone mineral density, vitamin D, and disease activity in children newly diagnosed with inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci.* 2011, 56(3), 825-829.

FIDDER, H.H. et al. Association between mutations in the CARD15 (NOD2) gene and Crohn's disease in Israeli Jewish patients. *Am J Med Genet A.* 2003, 121, 240-4.

FERRARI-LACRAZ, S., FERRARI, S. Effects of RANKL inhibition on inflammation and immunity. *IBSM BoneKEy.* 2009, 6(3), 116-126

GHISHAN, F.K., KIELA, P.R. Advances in the understanding of mineral and bone metabolism in inflammatory bowel diseases. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2011, 300(2), 191-201.

GRASEMANN, C., et al. Effects of RANK-ligand antibody (denosumab) treatment on bone turnover markers in a girl with juvenile Paget's disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013, 98(8), 3121-6.

GREENE, B.R., BLANCHARD, E.B., WAN, C.K. Long-term monitoring of psychosocial stress and symptomatology in inflammatory bowel disease. *Behav Res Ther.* 1994, 32(2), 217-26.

GUARISO, G. et al. Inflammatory bowel disease developing in paediatric and adult age. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2010, 51, 698–707.

GUPTA, N. et al. Gender differences in presentation and course of disease in pediatric patients with Crohn disease. *Pediatrics.* 2007, 120, 1418–1425.

HADJIDAKIS, D.J, ANDROULAKIS, I.I. Bone remodeling. *Ann N Y Acad Sci.* 2006, 1092, 385-96.

HALFVARSON, J. et al. Inflammatory bowel disease in a Swedish twin cohort: a long-term follow up of concordance and clinical characteristics. *Gastroenterology.* 2003, 124, 1767-73.

HALME, L., et al. Family and twin studies in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2006, 12, 3668-3672.

HAVLÍČEKOVÁ, Z. et al. Gastrointestinálne prejavy primárnych imunodeficiencií. *Gastroenterol prax.* 2012, 11, 20-24.

HAVLÍČEKOVÁ, Z. et al. Hodnotenie kostnej minerálnej denzity u pediatrických pacientov s Crohnovou chorobou. *Lekársky Obzor,* 2013, 62, 315-20.



HALFVARSON, J. et al. Inflammatory bowel disease in a Swedish twin cohort: a long-term follow up of concordance and clinical characteristics. *Gastroenterology*. 2003, 124, 1767-73.

HARPER, K.D. et al. Osteosarcoma and teriparatide? *J Bone Miner Res*. 2007, 22, 334.

HENRIKSEN, M. et. al. Are there any differences in phenotype or disease course between familiar and sporadic cases of inflammatory bowel disease? Results of a population-based follow up study. *Am J Gastroenterol*. 2007, 102, 955–1963.

HENWOOD, M.J, BINKOVITZ, L. Update on pediatric bone health. *J Am Osteopath Assoc*. 2009, 109(1), 5-12.

HILL, R.J., BROOKES, D.S., DAVIES, P.S. Bones in pediatric Crohn's disease: a review of fracture risk in children and adults. *Inflamm Bowel Dis*. 2011, 17(5), 1223-1228.

HOU, J.K., ABRAHAM, B., EL-SERAG, H. Dietary intake and risk of developing inflammatory bowel disease: a systematic review of the literature. *Am J Gastroenterol*. 2011, 106, 563-73.

HUGOT, J.P. et al. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*. 2001, 411, 599-603.

HYAMS J.S. et al. Development and validation of a pediatric Crohn's disease activity index. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1991, 12, 439-47.

INSTITUTE OF MEDICINE (US) COMMITTEE TO REVIEW DIETARY REFERENCE INTAKES FOR VITAMIN D AND CALCIUM; Edited by ROSS, A.C. et al. *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D*. Washington (DC): National Academies Press (US), 2011, ISBN 978-0-309-16394-1.

JAEGGI, T. et al. Iron fortification adversely affects the gut microbiome, increases pathogen abundance and induces intestinal inflammation in Kenyan infants. *Gut*. 2015, 64(5), 731-42.

JAHNSEN, J. et al. Bone mineral density is reduced in patients with Crohn's disease but not in patients with ulcerative colitis: a population based study, *Gut*. 1997, 40(3), 313–319.

JAKOBSEN, C. et al. Environmental factors and risk of developing paediatric inflammatory bowel disease – a population based study 2007–2009. *J Crohns Colitis*. 2013, 7, 79–88.

JASON, H., BINCY, A., HASHEM, E. Dietary intake and risk of developing inflammatory bowel disease: a systematic review of the literature. *Am J Gastroenterol*. 2011, 106, 563–573.

JANTCHOU, P. et al. Animal protein intake and risk of inflammatory bowel disease: the E3N prospective study. *Am J Gastroenterol*. 2010, 105, 2195– 2201.

- JAKUŠOVÁ, Ľ. et al. Bone metabolism in cow's milk allergic children. *Indian Pediatric*. 2013, 50(7), 706.
- JESS, T. et al. Disease concordance, zygosity and NOD2/CARD15 status: Follow up a population- based cohort of Danish twins with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*. 2005, 100, 2486-92.
- JOSTINS, L. et al., Host microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2012, 491, 119-24.
- KALKWARF, H.J., et al. The bone mineral density in childhood study: bone mineral content and density according to age, sex, and race. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007, 92(6), 2087-99.
- KAPINAS, K., DELANY, A., M. MicroRNA biogenesis and regulation of bone remodeling. *Arthritis Res Ther*. 2011, 13(3), 220-231.
- KAPLAN, G.G. et al., 2008. The risk of developing Crohn's disease after an appendectomy: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 103(11), 2925-31.
- KELSEN, J., BALDASSANO, R. N. Inflammatory bowel disease: the difference between children and adults. *Inflamm. Bowel Dis*. 2008, 14, 9–11.
- KHALILI, H. et al. Measures of obesity and risk of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2015, 21, 361-8.
- KHALILI, H. et al. Association Between Long-term Oral contraceptive Use and Risk of Crohn's Disease Complications in a Nationwide Study. *Gastroenterology*. 2016, 150, 1561–1567.
- KINI, U., NANDEESH, B. N. Physiology of Bone Formation, Remodeling, and Metabolism. In FOLGELMAN, I., et al. *Radionuclide and Hybrid Bone Imaging*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2012, 29-56. ISBN 978-3-642-02399-6.
- KLABNÍKOVÁ, K., et al. Vplyv výživy na tvorbu kostnej hmoty v detskom veku. *Československá pediatrie*. 2009, 64(11), 618-619.
- KLEIN, G.L. Glucocorticoid-induced bone loss in children. *Clinl Rev Bone Mineral Metabol*. 2004, 2(1), 37-52.
- KOLOSKI, N.A., BRET, L., RADFORD-SMITH, G. Hygiene hypothesis in inflammatory bowel disease: A critical review of the literature. *World J Gastroenterol*. 2008, 14(2), 165–173.
- KUBEJOVÁ, K., PODRACKÁ, Ľ. Kortikoidmi indukovaná osteoporóza u detí– patogenéza a diagnostika. *Pediatr. Prax*. 2013, 14(2), 57–60.

KUWABARA, A., et al. High prevalence of vitamin K and D deficiency and decreased BMD in inflammatory bowel disease. *Osteoporos Int.* 2009, 20(6), 935-42.

LAU, Y.T., AHMED, N.N. Fracture risk and bone mineral density reduction associated with proton pump inhibitors. *Pharmacotherapy.* 2012, 32(1), 67-79.

LAWRENCE, A. et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature.* 2014, 505, 559–563.

LESLIE, W.D. et al. Vitamin D status and bone density in recently diagnosed inflammatory bowel disease: the Manitoba IBD Cohort Study. *Am J Gastroenterol.* 2008, 103(6), 1451-9.

LEVINE, A. et al. Pediatric modification of the Montreal classification for inflammatory bowel disease: The Paris classification. *Inflammatory Bowel Diseases.* 2011, 17, 1314-1321.

LEVINE, A. et al. ESPGHAN revised porto criteria for the diagnosis of inflammatory bowel disease in children and adolescents. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014, 58, 795-806.

LEWIECKI, E.M., et al. International Society for Clinical Densitometry 2007 Adult and Pediatric Official Positions. *Bone.* 2008, 43(6), 1115-1121.

LIU, J.Z. et al. Association analyses identify 38 susceptibility loci for inflammatory bowel diseases and highlight shared genetic risk across populations. *Nat Genet.* 2015, 47, 979-986

LOVELL, D.J. et al. A randomized controlled trial of calcium supplementation to increase bone mineral density in children with juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2006, 54(7): 2235-42.

MA, N.S., GORDON, C.M. Pediatric osteoporosis: where are we now? *J Pediatr.* 2012, 161(6), 983-90.

MAMULA, P. et al. Inflammatory bowel disease in children 5 years of age and younger. *Am. J. Gastroenterol.* 2002, 97, 2005–2010.

MATKOVIC, T. et al. Timing of peak bone mass in Caucasian females and its implication for the prevention of osteoporosis. Inference from a cross-sectional model. *J Clin Invest.* 1994, 93(2), 799–808.

MARTINEZ-MEDINA, M. et al. Western diet induces dysbiosis with increased E coli in CEABAC10 mice, alters host barrier function favouring AIEC colonisation. *Gut.* 2014, 63, 116-24.

MAURO, M., RADOVIC, V., ARMSTRONG, D. Improvement of lumbar bone mass after infliximab therapy in Crohn's disease patients. *Can J Gastroenterol.* 2007, 21(10), 637-642.

MAWDSLEY, J.E., RAMPTON, D.E. Psychological stress in IBD: new insights into pathogenic and therapeutic implications. *Gut*. 2005, 54, 1481–1491.

McLEAN, R., R. Proinflammatory cytokines and osteoporosis. *Cur Osteoporosis Rep*. 2009, 7(4), 134-139.

MELEK, J., SAKURABA, A. Efficacy and Safety of Medical Therapy for Low Bone Mineral Density in Patients With Inflammatory Bowel Disease: A Meta-analysis and Systematic Review. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2014, 12(1), 32-44.

MOLODECKY, N. A. et al. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel disease with time, based on systematic review. *Gastroenterology*. 2012, 142, 46–54.

MONTALCINI, T., et al. Osteoporosis in chronic inflammatory disease: the role of malnutrition. *Endocrine*. 2013, 43(1), 59-64.

NAKAJIMA, S., et al. Association of vitamin K deficiency with bone metabolism and clinical disease activity in inflammatory bowel disease. *Nutrition*. 2011, 27(10), 1023-8.

NICKERSON, K.P., MCDONALD, C. Crohn's disease-associated adherent-invasive *Escherichia coli* adhesion is enhanced by exposure to the ubiquitous dietary polysaccharide maltodextrin. *PLoS One*. 2012, 7, 52132.

Odborné usmernenie Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky pre diagnostiku a liečbu glukokortikoidmi indukovanej osteoporózy. [cit. 2014-08-11]. Dostupné na: [http://www.google.sk/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CB8QFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.health.gov.sk%2FZdroje%3F%2Fdokumenty%2Fvestniky\\_mz\\_sr%2F2009%2Fvestnik%252051-53%25202009.pdf&ei=RGssVPCHD8T-ywOUmIGYAw&usg=AFQjCNHv04Un3MURySskjpidHZxllBLjHg&sig2=TPqo6Un-aMfRbc3e98naOw](http://www.google.sk/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CB8QFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.health.gov.sk%2FZdroje%3F%2Fdokumenty%2Fvestniky_mz_sr%2F2009%2Fvestnik%252051-53%25202009.pdf&ei=RGssVPCHD8T-ywOUmIGYAw&usg=AFQjCNHv04Un3MURySskjpidHZxllBLjHg&sig2=TPqo6Un-aMfRbc3e98naOw)

Odborné usmernenie Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky pre diagnostiku a liečbu osteoporózy. [cit. 2014-08-11]. Dostupné na: <http://www.osteoporoza.sk/lekari/vestniky/files/VestnikOPONK.pdf>

OGURA, Y. et al., 2001. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*. 411(6837), 603-606.

PAGANELLI, M., et al. Inflammation is the main determinant of low bone mineral density in pediatric inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2007, 13(4), 416-423.

PARK J.B. et al., 2006. Familial occurrence of inflammatory bowel disease in Korea. *Inflamm Bowel Dis*. 12(12), 1146-51.

PARKES, G.C., WHELAN, K., LINDSAY, J.O. Smoking in inflammatory bowel disease: impact on disease course and insights into the aetiology of its effect. *J Crohns Colitis*. 2014, 8:717-25

PINETON DE CHAMBRUN, G., et al. Vaccination and Risk for Developing Inflammatory Bowel Disease: A Meta-Analysis of Case-Control and Cohort Studies. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2015, 13, 1405-15.

PODOLSKY, D.K. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med*. 2002, 347, 417-429.

RALSTON, S.H. Genetic determinants of susceptibility to osteoporosis. *Curr Opin Pharmacol*. 2003, 3, 286–90.

RAPOZO, D., BERNARDAZZI, C., DE SOUZA H.. Diet and microbiota in inflammatory bowel disease: The gut in disharmony. *World J Gastroenterol*. 2017, 23, 2124–2140.

RAUCHENZAUNER, M., et al. Sex- and age-specific reference curves for serum markers of bone turnover in healthy children from 2 months to 18 years. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007, 92(2), 443-9.

ROBERTS, C. et al. Translocation of Crohn's disease *Escherichia coli* across M-cells: contrasting effects of soluble plant fibres and emulsifier. *Gut*. 2010, 59, 1331–1339.

ROBINSON, R.J., et al. Rectal steroids suppress bone formation in patients with colitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 1997, 11(1), 201-204.

ROSS, A.C., et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011, 96(1): 53-8.

RUEL, J. et al. IBD across the age spectrum: is it the same disease? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2012, 11, 88-98.

RUEL, J. et al. IBD across the age spectrum: is it the same disease? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014, 11, 88-98.

SAYERS, A. et al. 25-Hydroxyvitamin-D3 levels are positively related to subsequent cortical bone development in childhood: findings from a large prospective cohort study. *Osteoporos Int*. 2012, 23(8), 2117-28.

SEBESTYEN, J.F., SRIVASTAVA, T., ALON, U.S. Bisphosphonates use in children. *Clin Pediatr (Phila)*. 2012, 51(11), 1011-24.

SEMEAO, E.J., et al. Risk factors for low bone mineral density in children and young adults with Crohn's disease. *J Pediatr*. 1999, 135(5), 593-600.

SEMLER, O., et al. Antibody denosumab in osteogenesis imperfecta type VI. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2012, 12(3), 183-8.

SHIVANANDA, S. et al. Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between north and south? Results of the European Collaborative Study on Inflammatory Bowel Disease (EC-IBD). *Gut.* 1996, 39, 690–697.

SOON, I.S., et al. The relationship between urban environment and the inflammatory bowel diseases: a systematic review and meta-analysis. *BMC Gastroenterol.* 2012, [online]. [cit. 2017-02-25]. Dostupné na:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3517531/pdf/1471-230X-12-51.pdf>

SYLVESTER, F.A. IBD and skeletal health: children are not small adults! *Inflamm Bowel Dis.* 2005, 11(11), 1020-1023.

SYLVESTER, F.A., et al. Natural history of bone metabolism and bone mineral density in children with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2007, 13(1), 42-50.

SZADEK, L.L., SCHARER, K. Identification, Prevention, and Treatment of Children With Decreased Bone Mineral Density. *J Pediatr Nurs* [online]. 2013, [cit. 2013-11-10] Dostupné na [http://www.pediatricnursing.org/article/S0882-5963\(13\)00316-3/pdf](http://www.pediatricnursing.org/article/S0882-5963(13)00316-3/pdf).

SZÉPEOVÁ, R. et al. Porucha signalizácie dráhy IL-10 a nešpecifické črevné zápalové ochorenie s veľmi včasným nástupom. *Gastroenterologie a hepatologie.* 2015, 62(6), 536-540.

SWIDSINSKI, A. et al. Bacterial overgrowth and inflammation of small intestine after carboxymethylcellulose ingestion in genetically susceptible mice. *Inflamm Bowel Dis.* 2009, 15, 359–364.

ŠUMNÍK, Z., SOUČEK, O. Diagnostika osteoporózy u dětí a adolescentů. *Pediatr Prax.* 2012, 13(3), 19-21.

THAYU, M., et al. Improvement in biomarkers of bone formation during infliximab therapy in pediatric Crohn's disease: results of the REACH study. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2008, 6(12), 1378-1384.

THOMPSON, N.P. et al. Genetics versus environment in inflammatory bowel disease: results of a British twin study. *BMJ.* 1996, 312, 95-96.

TYSK, C. et al. Ulcerative colitis and Crohn's disease in an unselected population of monozygotic and dizygotic twins. A study of heritability and the influence of smoking. *Gut.* 1988, 29, 990-6.

TUCHMAN, S., et al. Interpretation of biomarkers of bone metabolism in children: impact of growth velocity and body size in healthy children and chronic disease. *J Pediatr.* 2008, 153(4), 84-90.

UHLIG, H.H. Monogenic diseases associated with intestinal inflammation: implications for the understanding of inflammatory bowel disease. *Gut.* 2013, 62,1795–805

UHLIG, H.H. et al. The diagnostic approach to monogenic very early onset inflammatory bowel disease. *Gastroenterology.* 2014, 147, 990-1007.

UNGARO, R. et al. Antibiotics associated with increased risk of new-onset Crohn's disease but not ulcerative colitis: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol.* 2014, 109, 1728-38

VAN HOGEZAND, R.A., HAMDY, N.A. Skeletal morbidity in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 2006, 243, 59-64.

VESTERGAARD, P. et al. Fracture risk is increased in Crohn's disease, but not in ulcerative colitis. *Gut.* 2000, 46(2), 176-181.

VESTERGAARD, P. Prevalence and pathogenesis of osteoporosis in patients with inflammatory bowel disease. *Minerva Med.* 2004, 95(6), 469-80.

VERNIA, P. et al. Dietary calcium intake in patients with inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis.* 2014, 8(4): 312-7.

VERNIER-MASSOUILLE, G. et al. Natural history of pediatric Crohn's disease: a population based cohort study. *Gastroenterology.* 2008, 135, 1106–1113.

VENTHAM, N.T. et al. Beyond gene discovery in inflammatory bowel disease: the emerging role of epigenetics. *Gastroenterology.* 2013, 145, 293-308.

VYSKOČIL, V. Osteoporoza a ostatní nejčastější metabolická onemocnění skeletu. , Galén, 2009, ISBN 9788072626373

WAGNER, S.J. et al., 2013. Semisynthetic diet ameliorates Crohn's disease-like ileitis in TNFΔARE/WT mice through antigen-independent mechanisms of gluten. *Inflamm Bowel Dis.* 19(6), 1285-94.

WARD, L., et al. Bisphosphonate therapy for children and adolescents with secondary osteoporosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007, 17(4): CD005324 [cit. 2014-01-09]. Dostupné na <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17943849>.

WINZENBERG, T.M. et al. Calcium supplementation for improving bone mineral density in children. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2006, 19(2): 005119. [cit. 2014-01-09]. Dostupné na <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16625624>.

WINZENBERG, T.M et al. Vitamin D supplementation for improving bone mineral density in children. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010, 6(10):CD006944. [cit. 2014-01-09]. Dostupné na <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20927753>

WU, F. et al. Genome-wide gene expression differences in Crohn's disease and ulcerative colitis from endoscopic pinch biopsies: insights into distinctive pathogenesis. *Inflamm Bowel Dis*. 2007, 13, 807-21.

XU, X.M., ZHANG, H.J., 2016. miRNAs as new molecular insights into inflammatory bowel disease: Crucial regulators in autoimmunity and inflammation. *World J Gastroenterol*. 22(7), 2206-18

ZEMEL, B.S., et al. Revised Reference Curves for Bone Mineral Content and Areal Bone Mineral Density According to Age and Sex for Black and Non-Black Children: Results of the Bone Mineral Density in Childhood Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011, 96(10), 3160–3169.

ZITTERMANN, A. Effects of vitamin K on calcium and bone metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2001, 4(6): 483-7.